



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

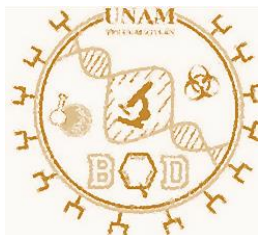
“Validación del método para el diagnóstico molecular de SARS-CoV-2 por RT-qPCR que permita la creación de un Laboratorio acreditado durante pandemia por COVID-19”

Tesis  
Que para obtener el Título de  
Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Presenta:  
Susana Bernardo Hernandez

Directora de Tesis: Dra. En C. Mónica Sierra  
Martínez  
Asesor Interno: Dra. Maritere Domínguez Rojas

Hospital Regional de Alta Especialidad Ixtapaluca  
Noviembre 2021





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# 1 índice

---

2	Resumen.....	3
3	Introducción .....	4
4	Marco Teórico .....	5
4.1	Generalidades.....	5
4.2	Definición de caso, signos y síntomas .....	6
4.3	Tipos de muestras .....	7
4.4	Datos estadísticos.....	7
4.5	Técnicas de detección.....	12
4.5.1	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) .....	12
4.5.2	RT- LAMP .....	13
4.5.3	Reacción de antígenos (Ag).....	14
4.5.4	Reacción de anticuerpos (Ab).....	15
5	Objetivos .....	16
5.1	Objetivo General .....	16
5.2	Objetivos Específicos .....	16
6	Hipótesis.....	16
7	Metodología .....	17
7.1	Adaptación de áreas .....	17
7.2	Acreditación del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológico (InDRE) .....	23
7.3	Lavado de manos .....	23
7.3.1	Momentos para realizar el lavado de manos .....	24
7.3.2	Material requerido para el lavado de manos.....	24
7.3.3	Procedimiento para el lavado de manos.....	25
7.4	Colocación y retiro de equipo de protección personal (EPP) .....	25
7.5	Recolección, envasado, transporte y conservación de muestras.....	27
7.5.1	Material requerido para toma de muestra .....	27
7.5.2	Procedimiento para toma de muestra de hisopado naso y orofaríngeo .....	27
7.5.3	Manejo y transporte de muestras sospechosas de SARS-CoV-2.....	29
7.6	Extracción de Ácidos nucleicos .....	31
7.6.1	Extracción de RNA viral con el kit BioPure .....	33
7.7	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qRT-PCR) .....	37
7.7.1	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (q RT-PCR) utilizando el kit de detección Da An Gene.....	37
7.7.2	Programación de plantilla y ciclado en equipo CFX 96 BioRad .....	39

7.8	Evaluación de los controles para validar la corrida de PCR .....	43
7.9	Criterios para la determinación de Resultados .....	47
8	Resultados y Análisis de Resultados .....	48
8.1	Resultados de las pruebas de detección de SARS-CoV-2 realizadas a partir de abril 2020 al mes de septiembre 2021 .....	49
8.2	Participación en el libro “Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19” .....	56
8.3	Proyecto de extensión del laboratorio de diagnóstico molecular HRAEI .....	60
8.4	Conclusiones .....	62
8.5	Anexos .....	63
8.5.1	Anexo 1. Oficio de Acreditación del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológico (InDRE) .....	63
8.5.2	Anexo 2. Cartel informativo de Lavado de manos.....	65
8.5.3	Anexo 3. Secuencia de colocación de Equipo de Protección Personal (EPP) .....	66
8.5.4	Anexo 4. Secuencia de retiro de Equipo de Protección Personal .....	67
8.5.5	Anexo 5. Embalaje para el transporte seguro de muestras sospechosas de SARS-CoV-2 y otros virus respiratorios .....	68
8.5.6	Anexo 6. Residuos peligrosos biológico-infecciosos no anatómicos.....	69
8.5.7	Anexo 7. Desinfección y limpieza en el laboratorio .....	70
8.5.8	Anexo 8. Colocación del respirador de cara completa .....	71
8.5.9	Anexo 9. Consentimiento para uso de datos del laboratorio molecular del Hospital Regional de Alta Especialidad Ixtapaluca.....	72
9	Bibliografía .....	73

## 2 Resumen

---

En el presente escrito se redacta como se lleva a cabo la creación a un laboratorio de diagnóstico molecular acreditado dentro de un hospital de nivel 3, mostrando el proceso completo que abarca desde la utilización adecuada del material y equipo de seguridad, la estandarización de las técnicas, la adaptación de las áreas requeridas, hasta la obtención de la acreditación por parte de las autoridades correspondientes.

Dichas actividades se dan en un momento de crisis a nivel mundial, que pone a prueba la capacidad del sector salud entero, ambiente en el que nos vemos involucrados los egresados de licenciatura en bioquímica diagnóstica, demostrando que egresamos con las habilidades necesarias para vencer retos e implementar estrategias para ejercer el diagnóstico de forma adecuada, en donde nuestro papel es de suma importancia para que el personal médico brinde servicio oportuno y de calidad a la comunidad.

Se muestran las dificultades existentes ante la implementación de dichas actividades, las acciones que se llevaron a cabo para mejora de estas, así como los resultados obtenidos a lo largo de un año. Concluyendo de forma satisfactoria por haber tenido éxito en el establecimiento de un laboratorio de diagnóstico molecular, mismo que se encuentra vigente brindando servicio a la comunidad del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca.

El Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca (HRAEI), es un organismo descentralizado de la Administración Pública Federal, sectorizado a la Secretaría de Salud con personalidad jurídica y patrimonio propio. El hospital fue inaugurado el 29 de marzo de 2012 y cuenta con una capacidad instalada de 246 camas censables, 108 no censables y 14 quirófanos, hospital que hasta a principios del año 2020 no contaba con laboratorio de diagnóstico molecular. (Secretaria de salud, 2014)

Sin embargo, a la fecha ya cuenta con el mismo y nos enorgullece haber formado parte de este proyecto tan fructífero que creció en momentos críticos para el país y que sin duda alguna, favoreció en gran medida a la comunidad para hacer frente a la contingencia por COVID-19.

Finalmente se da un panorama de proyectos planteados en el nuevo laboratorio, así como el estatus de este y la propuesta de una variedad de técnicas que se están implementando para ampliar el servicio, procurando cubrir al máximo de forma breve las peticiones diagnósticas de la población que acude al HRAEI favoreciendo en la reducción de gastos, promoviendo la creación de vínculos con los diferentes servicios y lo más importante agilizar la obtención de los resultados para dar seguimiento a los pacientes.

### 3 Introducción

---

En el año 2019 tras concluir el sistema escolarizado de la licenciatura en Bioquímica Diagnóstica y encontrarme como pasante de la carrera, comencé a realizar servicio social en el Hospital Juárez de México con la Doctora en Ciencias Mónica Sierra Martínez quién cuenta con plaza de investigador y que al comienzo de mi servicio, ella era la responsable del área de citogenética en dicho hospital; sin embargo a finales del 2019 se comenzó la remodelación del edificio por lo que surgió la necesidad de buscar una nueva institución para continuar con la labor desempeñada en el hospital Juárez, así en 2020 se presenta la oportunidad de dar continuidad al servicio social en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca (HRAEI) por lo que pude concluir dicha actividad en esta institución.

A finales del 2019, en todo el mundo circulaba información de una nueva enfermedad causada por un virus casi desconocido, así paso hasta el comienzo del 2020 y para entonces ya existía registro de un contagio desmesurado por este nuevo tipo de coronavirus por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) declara estado de pandemia el 11 de marzo de 2020 por COVID-19 (CoronaVirus Infectious Disease), tratándose de una enfermedad causada por el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), identificado por primera vez en tracto respiratorio de pacientes con neumonía en Wuhan China.

Por dicha contingencia, surge la necesidad en todo el sector salud de buscar la manera para hacer combate a los contagios por COVID-19, es así como el HRAEI comienza la convocatoria para contratación de personal eventual y poder brindar apoyo al país. En ese momento el propósito personal planteado fue verme involucrada en el área de genética y biología molecular, por lo que presente mi documentación en este hospital para ser participe en apoyo a la comunidad, realizando el registro y entrega de documentación en recursos humanos del HRAEI y tras aprobar las evaluaciones requeridas comencé a laborar en dicha institución, entrando de forma oficial el 01 de mayo 2020 con el puesto de “Auxiliar de laboratorio y/o bioterio A”

Todos los servicios del HRAEI comenzaron a tomar las medidas necesarias para poder dar atención a la población mexicana, cabe mencionar que en aquel entonces el hospital no contaba con laboratorio de biología molecular por lo que una medida de gran aportación fue la adaptación del laboratorio ubicado en el primer piso del edificio de planeación, enseñanza e investigación de este hospital, la adaptación del área estuvo a cargo del doctor Gustavo Acosta Altamirano en colaboración con la doctora Mónica Sierra Martínez, además aunado a ellos, el HRAEI recluto a un equipo de trabajo que incluía a químicos farmacéuticos, biólogos, Ingenieros y bioquímicos, equipo que sería el responsable de realizar las pruebas moleculares, en donde me vi incluida para colaborar con el diagnóstico de SARS-Cov-2 y la formación de un laboratorio acreditado en tiempos de pandemia.

En el presente escrito se redacta cada una de las actividades desempeñadas por parte del personal de laboratorio molecular, así como las problemáticas, dificultades, resultados y aportaciones que se realizaron a lo largo de un año de experiencia laboral en estado de pandemia por este virus que sin duda dio pauta a grandes cambios y que puso a prueba al país entero, principalmente al sector salud, mismo del que formamos parte los egresados de la licenciatura en Bioquímica Diagnóstica.

## 4 Marco Teórico

---

### 4.1 Generalidades

Los coronavirus (abreviadamente: CoVs) pertenecen a la Familia *Coronaviridae*, Subfamilia *Orthocoronavirinae*, y Orden *Nidovirinae*, la denominación coronavirus procede del aspecto (bajo ampliación del microscopio electrónico) de corona que le otorgan las glucoproteínas que sobresalen a modo de espigas o espinas.

El genoma de los coronavirus es +ssARN, esto es: una única hebra (s, de *single*) (s, de *strand*), enrollada en sentido positivo (+) (hacia la derecha) de ácido ribonucleico (ARN). Los coronavirus tienen el segundo genoma más largo de todos los virus-ARN y pertenecen al grupo IV de la clasificación de Baltimore; a diferencia del ADN-virus, los ARN-virus se duplican directamente en la célula infectada.

En general para todos los coronavirus, dos terceras partes del genoma codifican dos proteínas de gran tamaño, designadas como ORF1a Y ORF1b, que se traducen en la enzima polimerasa vírica (RdRp); y otras cuatro proteínas denominadas estructurales: S (Spike), E (Envoltura), M (Membrana) y N (Nucleocápside).

El acrónimo ORF es Open Reading Frame y el acrónimo RdRp es RNA-dependent-RNA-polymerase, esas dos terceras partes del genoma contienen también la información para la síntesis de otras proteínas, que se catalogan como accesorias. Mientras las proteínas ORF1a, ORF1b y las cuatro proteínas estructurales (S, E, M, N) se mantienen invariantes entre las distintas especies de coronavirus, la longitud del genoma vírico es en gran medida función del número y tamaño de las proteínas accesorias que codifican. La presencia de estas proteínas accesorias parece ser fundamental para la adaptación del virus a hospedadores específicos, además la taxonomía de los coronavirus es extraordinariamente compleja, debido a la recombinación, inserción y delección génica que da lugar a nuevas especies.

Según la International Committee of Taxonomy of Viruses (ICTV) existen cuatro géneros:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ , que engloban a 38 especies encuadradas en la Subfamilia *Orthocoronavirinae*. El número de especies continuará aumentando, dado que existe un sinnúmero de especies que todavía no se han clasificado; los géneros  $\alpha$  y  $\beta$  infectan preferentemente a mamíferos y los géneros  $\delta$  y  $\gamma$  son infectivos para las aves.

El SARS-CoV-2 responsable de la actual pandemia, es uno de estos coronavirus de RNA polaridad positiva, no segmentado, envuelto y con espículas en la superficie, pertenece a los beta coronavirus igual que SARS-CoV y MERS-CoV, éste tiene una longitud de 29.9 kb, codifica aproximadamente 25 proteínas que necesita para infectar a los seres humanos y reproducirse ( [Figura 1](#) ).

Entre estas, se encuentran la proteína pico (S), que reconoce la enzima convertidora de angiotensina 2 humana (AC2) en la etapa inicial de la infección; dos proteasas que escinden proteínas virales y humanas; la ARN polimerasa que sintetiza ARN viral; y la endorribonucleasa de escisión de ARN. (Parks J., The New England Journal of Medicine., 2020)

Es un virus zoonótico ya que el reservorio del SARS-CoV-2 es el murciélago, sin embargo, el modo de transmisión entre humanos es por contacto directo con personas infectadas, principalmente por contacto directo con gotas respiratorias de más de 5 micras, con capacidad de transmitirse a distancias de hasta 2 metros, así como las manos o los fómites contaminados con estas secreciones seguido del contacto con la mucosa de la boca, nariz y ojos.

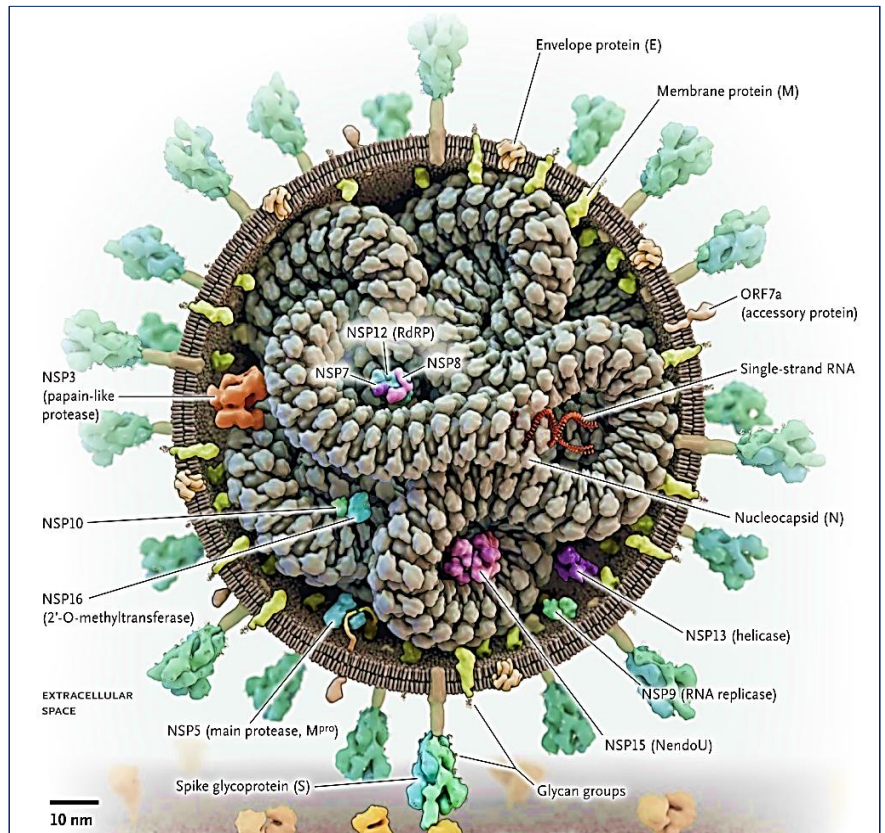


Figura 1. Virión del SARS-CoV-2 y sus proteínas. Parks, J. et al. (2020). How to Discover Antiviral Drugs Quickly. PDF. Recuperado de: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMci2007042>

## 4.2 Definición de caso, signos y síntomas

Ante la forma incierta en que se fueron manifestando los sucesos por COVID-19, se tuvo que ir actualizando la información respecto al virus así como la definición de caso, esto es mediante revisiones periódicas a medida que se presenta nueva información, de esta forma, la OMS decreta que se considera como caso sospechoso a la persona que cumple con el inicio agudo de cualquiera de tres o más de los siguientes signos o síntomas: fiebre, tos, debilidad general, fatiga, cefalea, mialgia, odinofagia, coriza, disnea, anorexia, náuseas, vómitos, diarrea y/o alteración del estado mental.

Los síntomas más habituales de COVID-19 son la fiebre, tos seca y el cansancio, otros síntomas menos frecuentes que afectan a algunos pacientes son los dolores y molestias, congestión nasal, dolor de cabeza, conjuntivitis, dolor de garganta, diarrea, pérdida del gusto o el olfato y las erupciones cutáneas o cambios de color en los dedos de las manos o los pies. Estos síntomas suelen ser leves y comienzan gradualmente, sin embargo, cabe mencionar que también se presentan casos de personas infectadas solo con síntomas mínimos e incluso nulos, pero cuentan con la capacidad de infectar a otras personas mediante las gotículas respiratorias expelidas.



### **4.3 Tipos de muestras**

Para la detección de este virus, la OMS indica que las muestras idóneas son los hisopados nasofaríngeos y orofaríngeos, preferiblemente combinados, sin embargo, a la fecha el SARS-CoV-2 se ha detectado en diferentes tipos de muestras. En pacientes de los que se sospecha seriamente la infección por SARS-CoV-2 y los hisopados de las vías respiratorias superiores son negativos, es posible detectar ARN viral en secreciones de las vías respiratorias inferiores, como esputos o material de lavado broncoalveolar. También se han notificado datos en muestras de líquido bucal (saliva inducida), sin embargo, las tasas de detección comunicadas en comparación con las muestras de vías respiratorias altas del mismo paciente varían ampliamente, dichas diferencias en la sensibilidad de las evaluaciones de líquidos bucales se deben posiblemente a las diferentes técnicas de recogida, transporte y conservación de muestras, así como a los días de evolución de la enfermedad y a las diferentes poblaciones de prueba.

Así también, se ha demostrado que en heces o hisopados rectales también pueden dar positividad para SARS-CoV-2 y algunos estudios sugieren que esta positividad es más prolongada en comparación con la de las muestras de las vías respiratorias. Otros estudios han notificado la detección de ARN de SARS-CoV2 en muestras de sangre e incluso sugieren que la detección en la sangre está asociada a la gravedad de la enfermedad, pero se necesitan más evidencias sobre esta posible asociación.

Ocasionalmente se han realizado detecciones de SARS-CoV-2 en líquidos oculares en pacientes con y sin signos de conjuntivitis. Algunos estudios fueron capaces de detectar ARN viral en la orina en un número limitado de pacientes y un estudio informó de varios pacientes con muestras de semen positivas. Además, a la fecha existen algunos informes de casos en que se ha descrito la detección positiva de ARN en tejido cerebral y líquido cefalorraquídeo. (Organización Mundial de la Salud, 2020)

Así pues, aunque es posible detectar SARS-CoV-2 en una amplia variedad de líquidos y compartimentos corporales, en donde con mayor frecuencia se detecta es en el material respiratorio y, por consiguiente, las muestras respiratorias siguen siendo el tipo de muestra de elección para el diagnóstico y según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), la dinámica viral en otras múltiples muestras sigue sin caracterizarse completamente. (OMS O. M., 2020)

### **4.4 Datos estadísticos**

La información sobre los datos estadísticos acerca de los casos por COVID-19 cambia rápidamente ya que puede haber casos aun no reportados y también es posible que dependiendo de la zona geográfica los datos no estén disponibles, pero en el recuento diario se contemplan los casos confirmados así como las posibles sospechas según las autoridades de salud, en las siguientes gráficas se contemplan los datos hasta el mes de mayo 2021 ya que es el mes en el que se concluye un año de mi experiencia laboral.

Hasta este mes se reportan a nivel mundial cerca de 173 millones de casos de infecciones por COVID-19, de estos casos se reportan 3, 739 millones de muertes y a la fecha es difícil

establecer con certeza el número de casos recuperados a nivel mundial ya que no todos los países cuentan con datos precisos como se observa en la siguiente tabla.

V · T · MI			
Pandemia de COVID-19 por ubicación			
Ubicación <sup>[a]</sup>	Casos <sup>[b]</sup>	Muertes <sup>[c]</sup>	Recov. <sup>[d]</sup>
 Mundo <sup>[e]</sup>	173,709,075	3.739.443	Sin datos
 Estados Unidos <sup>[f]</sup>	33,518,669	603,410	Sin datos
 India	28.996.473	351.309	27,341,462
 Brasil	16,984,218	474,414	15,408,401
 Francia <sup>[g]</sup>	5.707.683	110,002	Sin datos
 Turquía <sup>[h]</sup>	5.300.236	48,341	5.173.186
 Rusia <sup>[i]</sup>	5,145,843	124,496	4.752.085
 Reino Unido <sup>[j]</sup>	4,528,442	127,854	Sin datos
 Italia	4.230.153	126,472	3.908.312
 Argentina <sup>[k]</sup>	4,008,708	82,667	3,585,748
 Alemania <sup>[l]</sup>	3.717.890	89,825	3,533,648
 España <sup>[m]</sup>	3.711.027	80.309	Sin datos
 Colombia	3,593,016	90,890	3,267,100
 Iran	2,980,116	81,362	2,578,263
 Polonia	2.875.729	74,255	2,646,340
 México	2,434,562	228,838	1,941,913
 Ucrania <sup>[n]</sup>	2,216,654	51,333	2.101.722

Figura 2. Datos estadísticos de casos por COVID-19 a nivel mundial hasta el mes de mayo 2021. Recuperado de: [https://en.wikipedia.org/wiki/Template:COVID-19\\_pandemic\\_data](https://en.wikipedia.org/wiki/Template:COVID-19_pandemic_data)

Se puede ver que para México a la fecha el número de casos es de 2,434,562 de los cuales se han registrado 228,838 muertes y 1,941,913 casos de personas que se han recuperado de la infección.

En la siguiente gráfica se observa el número de personas fallecidas por continente, siendo América con el mayor número de decesos a causa de COVID-19.

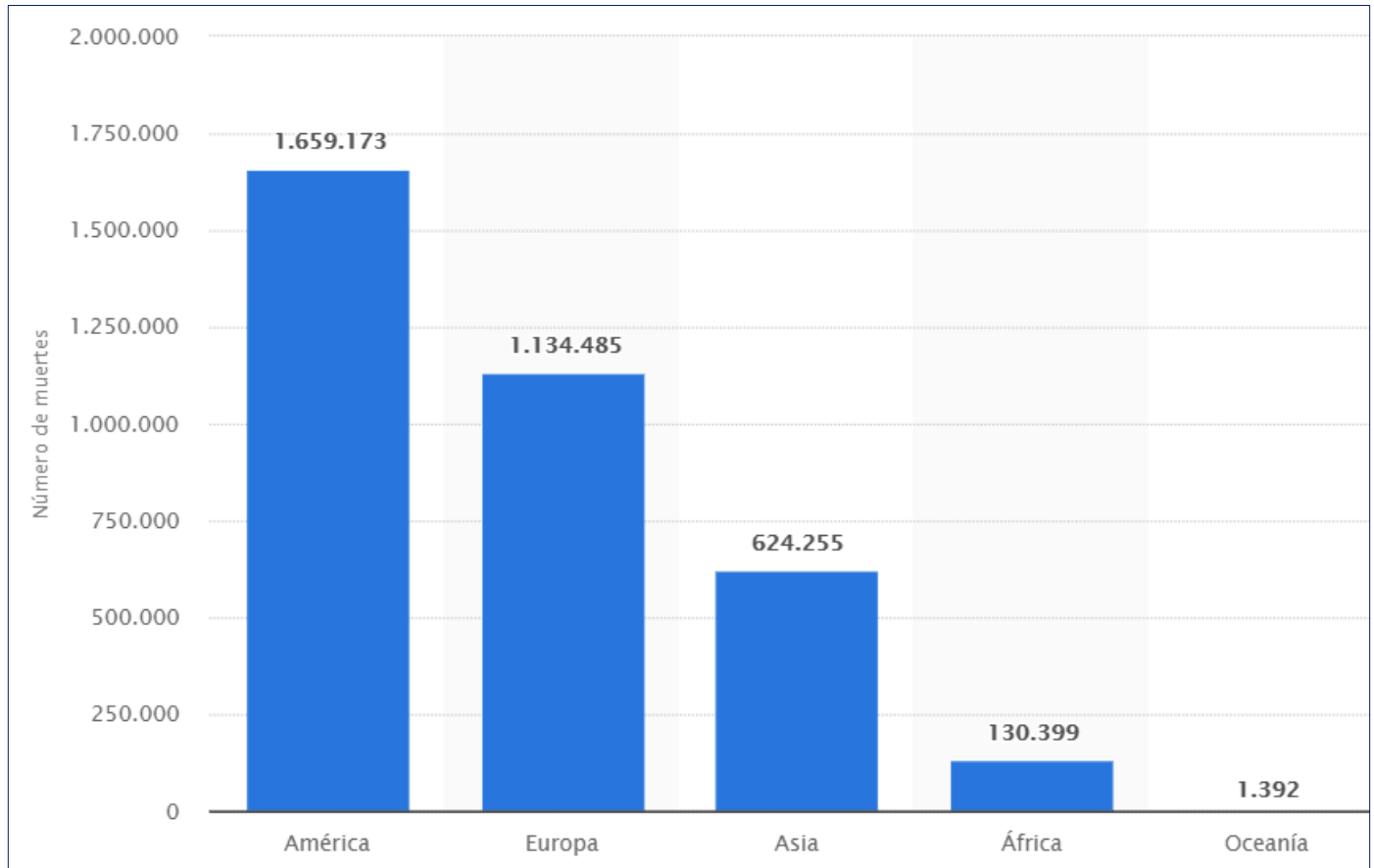


Figura 3. Número de personas fallecidas a consecuencia del coronavirus a nivel mundial a fecha de 30 de mayo 2021 por continente. Recuperado de: <https://es.statista.com/estadisticas/1107719/covid19-numero-de-muertes-a-nivel-mundial-por-region/>

En lo que respecta a México, el gobierno reporta de manera diaria la actualización del número de casos totales, así como la tasa de incidencia por estado, el número de casos positivos estimados, número de personas recuperadas, así como casos sospechosos, casos negativos y defunciones confirmados por semana, todos estos datos desde el 2020 a la fecha y se encuentran disponibles en la página oficial del Gobierno de México.

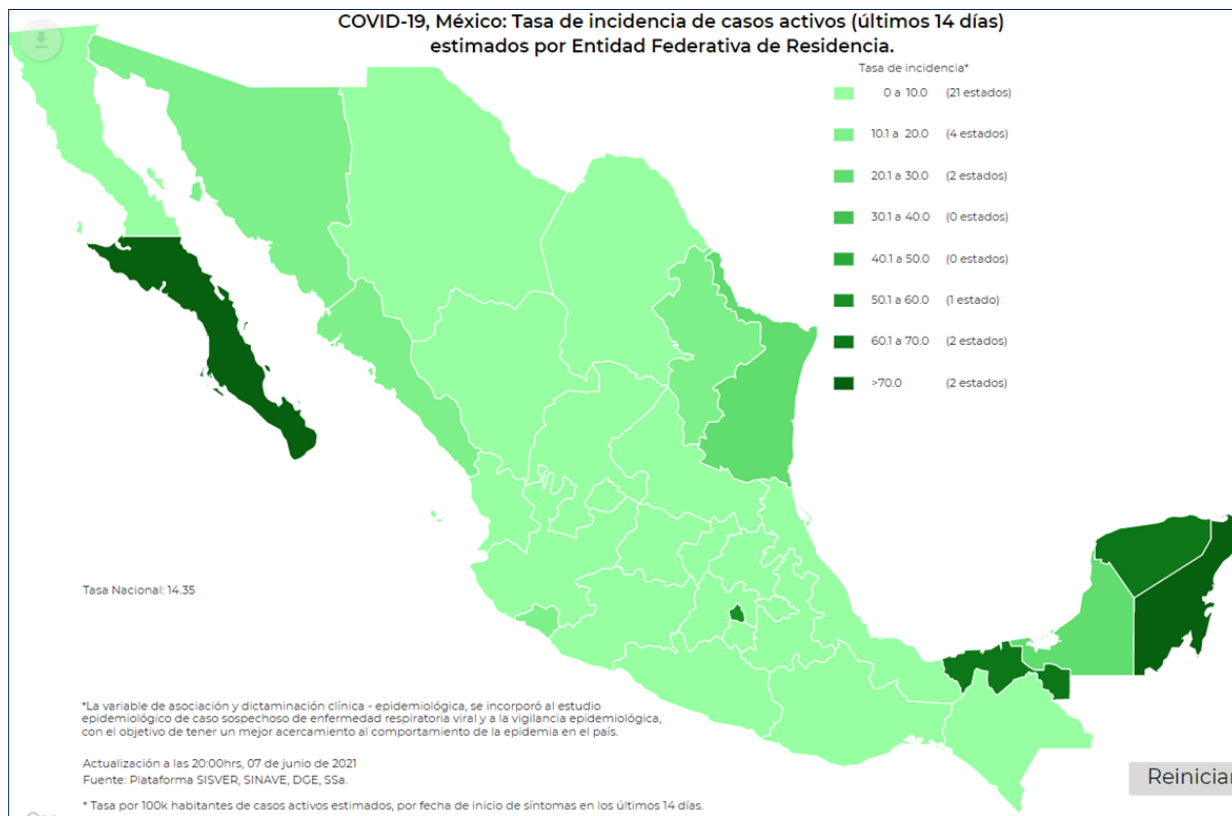


Figura 4. Tasa de incidencia de casos activos a fecha de 30 de mayo 2021. Recuperado de: <https://es.statista.com/estadisticas/1107719/covid19-numero-de-muertes-a-nivel-mundial-por-region/>

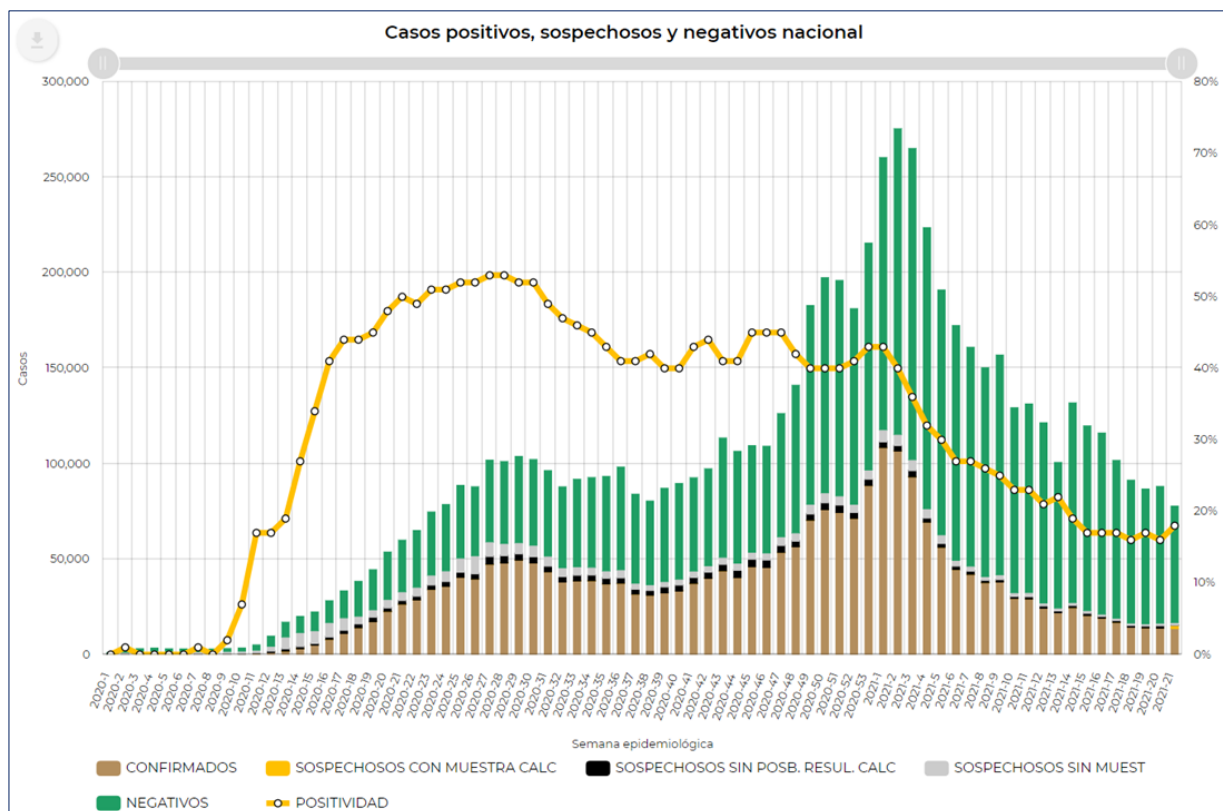


Figura 5. Número de casos positivos, sospechosos y negativos nacional. Recuperado de: <https://es.statista.com/estadisticas/1107719/covid19-numero-de-muertes-a-nivel-mundial-por-region/>

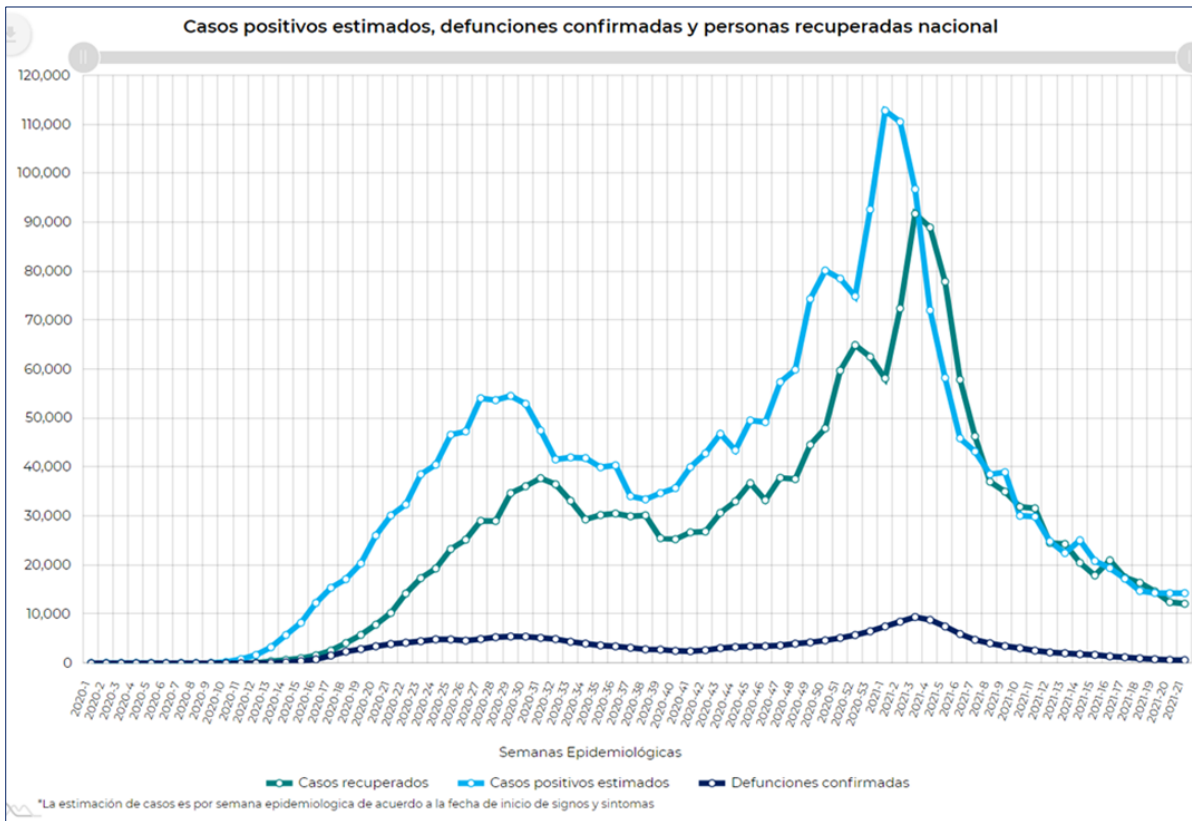


Figura 6. Casos positivos estimados, defunciones confirmadas y personas recuperadas a nivel nacional. Recuperado de: <https://es.statista.com/estadisticas/1107719/covid19-numero-de-muertes-a-nivel-mundial-por-region/>

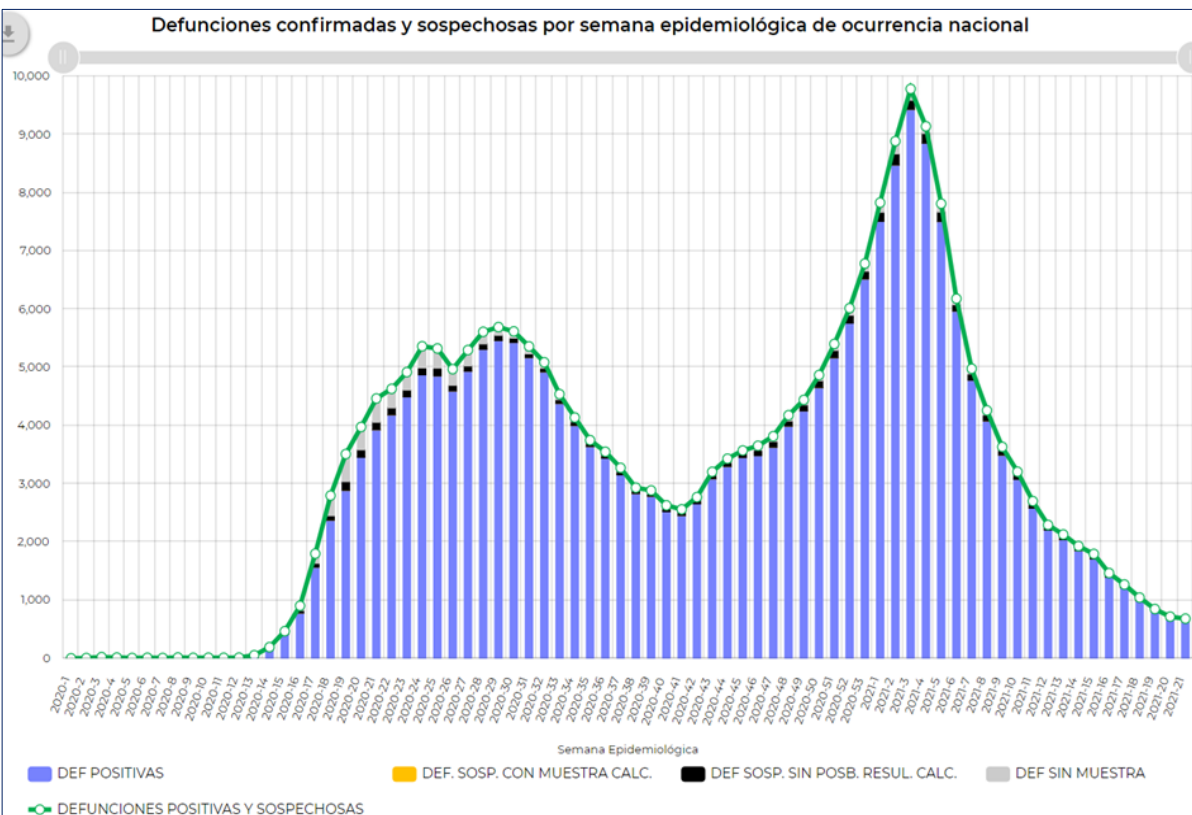


Figura 7. Defunciones confirmadas y sospechosas por semana epidemiológica de ocurrencia nacional. Recuperado de: <https://es.statista.com/estadisticas/1107719/covid19-numero-de-muertes-a-nivel-mundial-por-region/>

Por otra parte, también se encuentra la estadística del número de vacunas en el mundo y a los primeros días de junio el registro indica que el 10 % de la población a nivel mundial ha recibido al menos una dosis de la vacuna contra SARS-CoV-2.



Figura 9. Número de personas fallecidas a consecuencia del coronavirus a nivel mundial a fecha de 30 de mayo 2021 por continente. Recuperado de: <https://es.statista.com/estadisticas/1107719/covid19-numero-de-muertes-a-nivel-mundial-por-region/>

Respecto a la población mexicana, el registro indica que el 19% de la población ya cuenta con la vacuna, de los cuales 14,172, 467 personas cuentan con el sistema completo y 24,186,838 han recibido al menos una dosis, sin embargo, el haber recibido la vacuna no garantiza protección al 100% ya que se empiezan a ver casos de infección aun cuando se recibe el sistema de vacunación completo; sin duda ahora el reto es garantizar la protección inmunológica al recibir las vacunas. Posterior a la síntesis de diferentes vacunas ahora los estudios giran la atención a corroborar la eficacia de estas.

## 4.5 Técnicas de detección

Desde el inicio de la pandemia, un tema importante es el variante número de test que ha estado condicionado a las necesidades de cada país, por ello constantemente se están evaluando las propuestas lanzadas al mercado, entre los más destacados se encuentra la PCR, los test de detección de anticuerpos (IgG e IgM) y anticuerpos totales (Ab) también conocidos como test rápidos, y los test de detección de antígenos en exudado nasofaríngeo u otras muestras respiratorias de vías altas y bajas. Para cada uno de estos test es necesario conocer sus recomendaciones de uso y el procedimiento para la toma de muestra, siendo fundamental para minimizar las alteraciones en los resultados debidas a una manipulación deficiente. (Gestoso, 20202)

### 4.5.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es una técnica altamente sensible y específica que se basa en una replicación exponencial in vitro de una molécula de ADN genómico (ADNg) o ADN complementario

(ADNc), mediante ciclos repetitivos que constan de tres temperaturas. En cada uno de los ciclos las moléculas se duplican hasta que los reactivos se agotan, la longitud del producto amplificado la delimitan los iniciadores también llamados primers u oligonucleótidos, de cuyo diseño adecuado depende el éxito de la PCR; los iniciadores deben ser específicos, no formar estructuras secundarias ni hibridaciones inespecíficas entre ellos u otra parte de la cadena. (Salazar, 2013)

Sin embargo, cuando se parte de ADN complementario (ADNc) proveniente del ARNm (ácido ribonucleico mensajero) se le conoce como RT-PCR (Reverse Transcription-PCR, por sus siglas en inglés), es decir, del ARN se genera ADN de doble cadena, esta conversión se logra mediante una reacción controlada por la enzima transcriptasa reversa, capaz de convertir el ARNm en una molécula de ADNc.

Así mismo la qRT-PCR es una variación de la RT-PCR convencional, en esta variante la amplificación y la detección se realizan de manera simultánea; la detección se realiza mediante el empleo de reporteros fluorescentes, obteniendo al final de la reacción, gráficas de unidades de fluorescencia (RFU) contra el número de ciclos y se establece un Threshold (un valor de corte) que permite discriminar si una muestra es negativa o positiva de acuerdo a su Ct (cycle threshold) y al comportamiento sigmoide de la curva de amplificación.

Así, la OMS recomendó la técnica qRT-PCR como Gold estándar para la detección de SARS-CoV-2, aunque cabe mencionar que recientemente se han implementado técnicas alternas derivadas de esta, para facilitar el diagnóstico masivo de SARS-CoV-2.

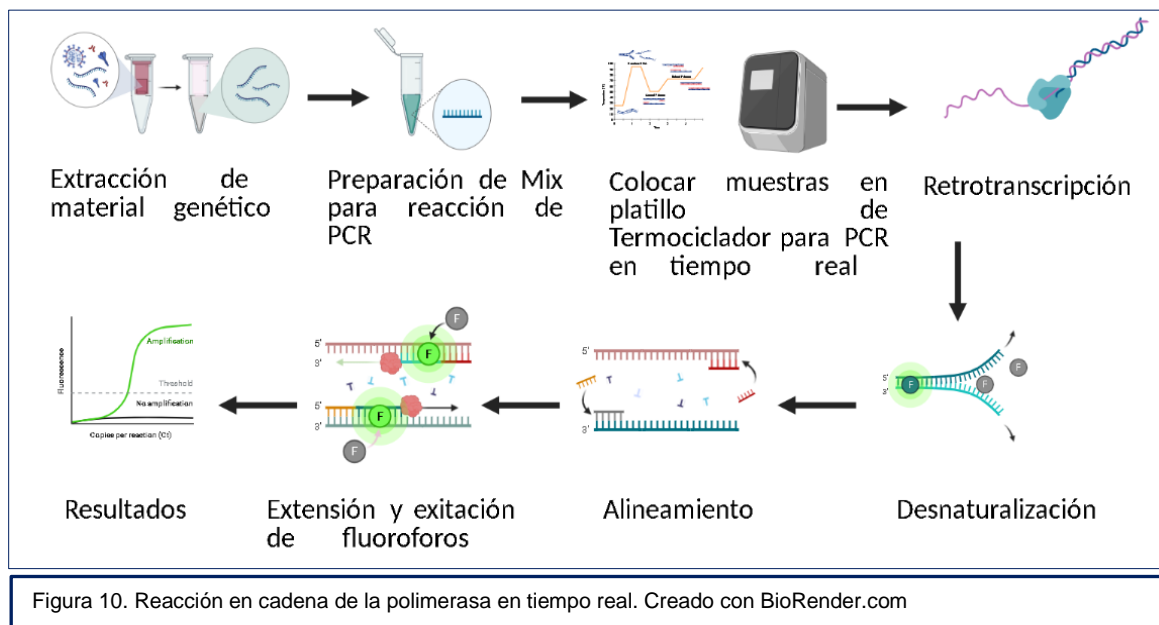
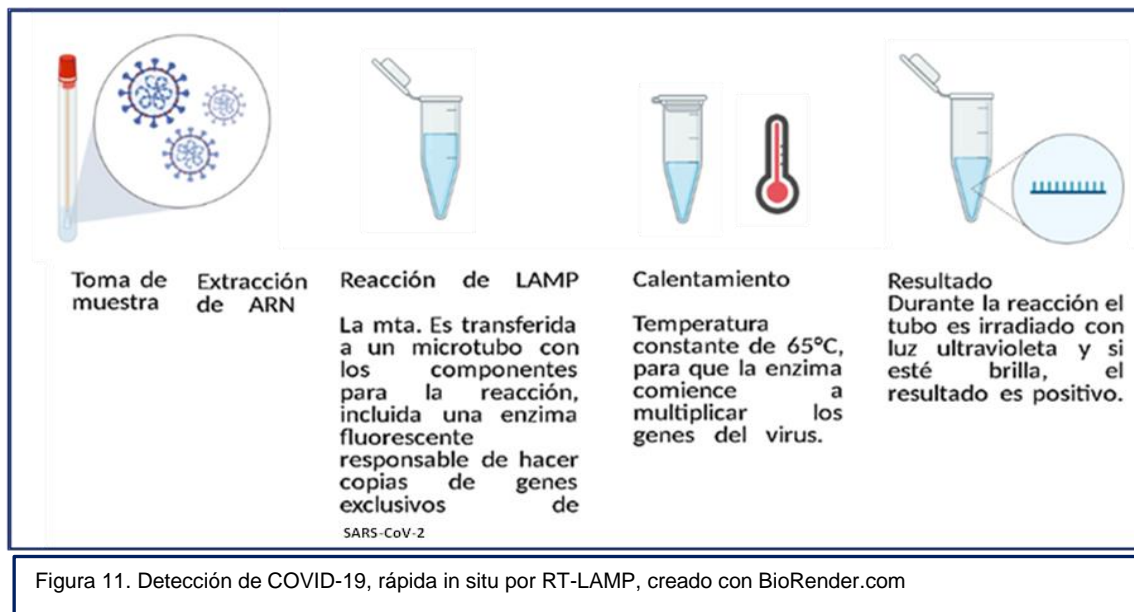


Figura 10. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. Creado con BioRender.com

#### 4.5.2 RT-LAMP

La amplificación isotérmica mediante bucle (LAMP) es una técnica de amplificación de ácido nucleico simple que en comparación con la PCR resulta más rápida, es específica y rentable, se trata de un sistema de detección visual para los resultados de la reacción LAMP. (Tomita N., 2008)

Esta técnica fue desarrollada por Notomi y col. en el 2000, la cual detecta de manera eficiente virus de ARN ya que es capaz de generar las cadenas de ADN de una sola cadena (cDNA) a partir del ARN presente en las muestras, empleando una transcriptasa reversa en un paso previo a la amplificación por LAMP. Debido al estado de pandemia que se vive en el país, en septiembre del 2020 el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav) dio a conocer a través de las infografías multimedia acerca de covid-19, la adaptación de la técnica RT-LAMP para la detección in situ de SARS-Cov-2. Este proceso, consiste en calentar la muestra a una temperatura constante para replicar el ARN viral y así detectar al virus. (Xoconostle B., 2020)



#### 4.5.3 Reacción de antígenos (Ag)

Al igual que otras técnicas de detección, los test de antígenos son aplicados para conocer si un paciente está infectado ya que este tipo de pruebas detectan la presencia de un antígeno o grupo de proteínas virales mientras se está cursando por la infección. Estos test se pueden realizar a través de muestras nasales o de saliva y la mayoría puede procesarse en el mismo lugar de atención en donde se realiza la toma de muestra, además los resultados pueden estar disponibles en periodos de tiempo relativamente cortos de entre 15 y 30 minutos. Cabe mencionar que estas pruebas tienen eficacia superior en el momento de mayor carga viral, esto implica desde el inicio de los síntomas, cuando la enfermedad es más contagiosa y en el caso específico de SARS-CoV-2, están indicados para pacientes que presentan síntomas en los primeros 7 días de la infección.

Si bien en la actualidad y frente a la contingencia mundial por SARS-CoV-2 se han implementado test más sofisticados de gran sensibilidad y precisión, estos siguen siendo menos sensibles que las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos ya que cuentan con aproximadamente 80% de sensibilidad y más del 90% de especificidad. Por tal motivo, hay que considerar que no son del todo confiables y en casos de una prueba negativa en personas con síntomas o una prueba positiva en personas sin síntomas, se recomienda corroborar con métodos moleculares.



#### 4.5.4 Reacción de anticuerpos (Ab)

A diferencia de las pruebas de antígenos, la detección de anticuerpos sirve para saber si una persona ha estado infectada por el virus y ha desarrollado defensas, además ayuda a saber si la enfermedad aún esta activa o no, sin embargo, la CDC no recomienda el uso de estas para diagnóstico definitivo.

En estas determinaciones, en función del momento en que una persona fue infectada y el momento de realización de la prueba, está podría no detectar anticuerpos en personas con una infección actual. Se analiza la presencia de inmunoglobulinas IgM (que aparecen entre 7 y 10 días después del contacto con el virus) e IgG (que aparecen entre 10 y 15 días después). Un IgM positivo indica una infección activa, mientras que un IgG positivo significa que la infección está superada. Si ambos son positivos, significa que la infección está activa, pero en fase intermedia.

Si ambas son negativas, significa que no ha habido contacto con el virus. Sin embargo, en ocasiones, puede ser que la persona sí haya estado en contacto con el virus, pero que su respuesta inmunitaria haya sido distinta y que, en lugar de desarrollar anticuerpos, cuente con inmunidad celular. Esto ocurre cuando el sistema inmunitario genera células citotóxicas que atacan a las células infectadas por el virus.

Además, aún no se conoce si el resultado positivo de una prueba de anticuerpos indica inmunidad contra el SARS-CoV-2; por lo tanto, por el momento, las pruebas de anticuerpos no deberían usarse para determinar si una persona es inmune a la reinfección. La realización de pruebas de anticuerpos se está utilizando con fines epidemiológicos y de vigilancia de salud pública, dado que las pruebas de anticuerpos pueden tener diferentes objetivos en el virus, es posible que se necesiten pruebas específicas para evaluar los anticuerpos originados por una infección pasada en comparación con los generados por la vacuna.

IgM	IgG	Interpretación clínica
-	-	No ha habido contacto con el virus/inmunidad celular
+	-	Infección activa en fase inicial
+	+	Infección en fase intermedia
-	+	Infección superada (inmunidad)

Figura 12. Test de anticuerpos para SARS-CoV-2. Recuperado de: <https://ratiopharm.es/en-la-botica/actualidad-farmaceutica/diferencias-entre-los-test-de-covid-19-pcr-antigenos-y>

## 5 Objetivos

---

### 5.1 Objetivo General

- ❖ Establecer los requerimientos necesarios de un método eficaz que permita la detección del virus de SARS-CoV-2 dentro de un hospital de nivel 3, adaptando áreas, técnicas, equipos e insumos suficientes para crear un laboratorio acreditado en donde se pueda llevar a cabo el diagnóstico de forma permanente que cumpla con las demandas del hospital y permita hacer frente al estado de pandemia por COVID-19.

### 5.2 Objetivos Específicos

- ❖ Ejecutar buenas prácticas de laboratorio y medidas de protección personal
- ❖ Dar a conocer los parámetros para una adecuada toma de muestra de hisopado naso y orofaríngeo
- ❖ Mostrar las técnicas de extracción de ácidos nucleicos y amplificación de estos mediante RT-qPCR
- ❖ Presentar los resultados de las técnicas estandarizadas para el diagnóstico de SARS-Cov-2 durante pandemia por COVID-19
- ❖ Orientar a los egresados de la licenciatura en Bioquímica Diagnóstica que estén interesados en desarrollarse dentro de una institución de salud.

## 6 Hipótesis

---

Cuando se conocen las bases de las pruebas moleculares, el personal tiene la capacidad de implementar estrategias para la ejecución de las actividades requeridas en un laboratorio de diagnóstico molecular permitiendo dar resultados de forma adecuada, certera y precisa. Demostrando así, que los egresados de la licenciatura en bioquímica diagnóstica tienen una formación académica sólida para enfrentar los retos del ambiente laboral.

## 7 Metodología

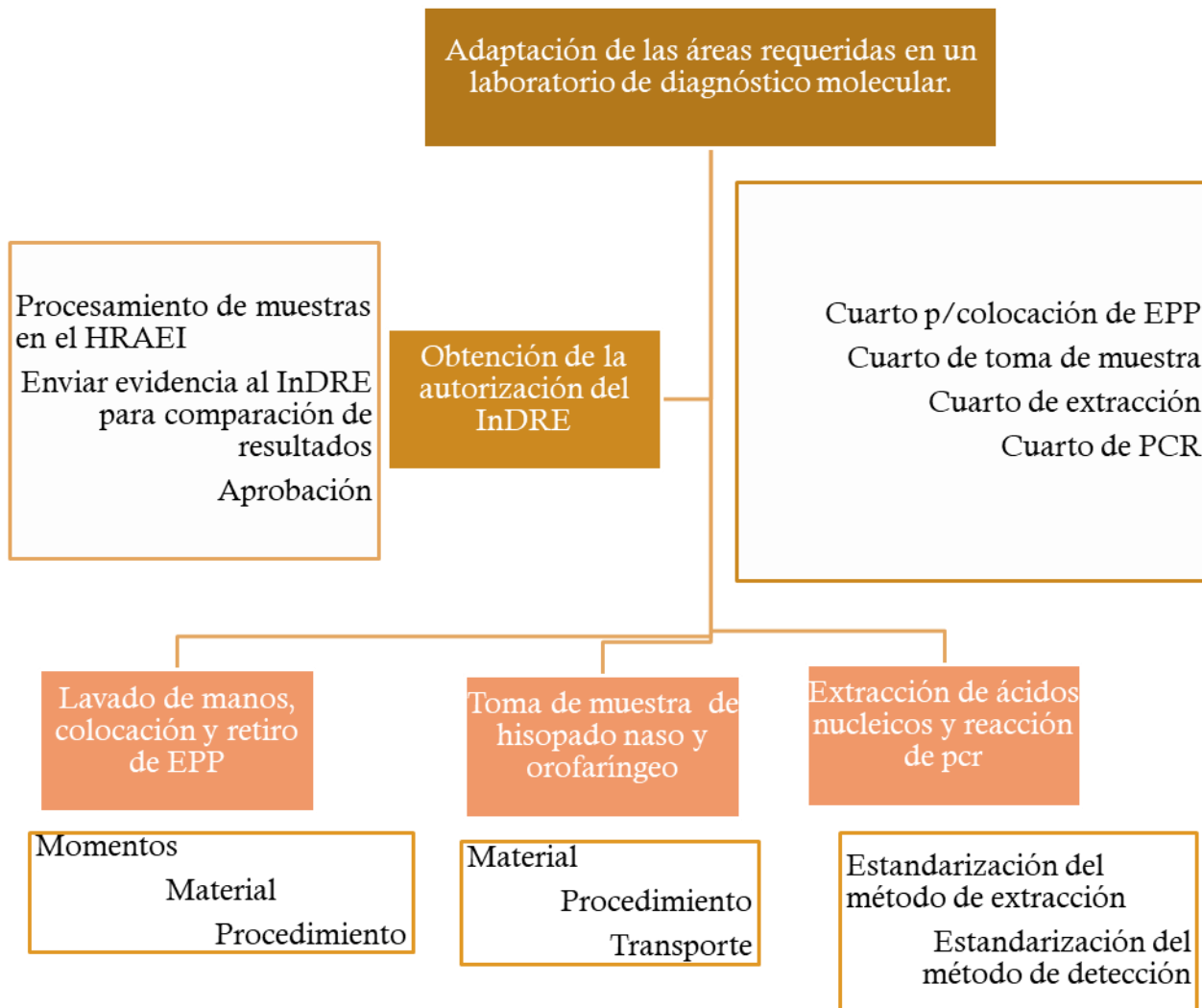


Figura 13. Diagrama de la metodología planteada para la estandarización de las técnicas y la implementación del nuevo laboratorio en el HRAEI. Creación propia.

### 7.1 Adaptación de áreas

El hecho de iniciar la adaptación del área implicó sumar esfuerzos para que el hospital pudiera contar con laboratorio de biología molecular, esto requirió de mucho trabajo, más para los responsables de la unidad, ya que prácticamente no había nada más que el espacio físico. La doctora Sierra con el doctor Acosta trabajaron arduamente para contactar empresas que pudieran brindar servicio de proveer los reactivos, insumos y equipos necesarios para poder realizar el diagnóstico.

Una vez que fue cedido el espacio a la doctora Sierra, se comenzó con la designación de áreas en las que se dividiría el laboratorio y como primera medida de seguridad, el acceso al laboratorio fue exclusivo del personal y los responsables a cargo, así que para entrar se otorgaron tarjetas de acceso, de esta manera se convirtió en un espacio restringido aún para el demás personal del hospital. Es importante mencionar que todo el espacio cuenta con sensores de luz automáticos y sensores contra incendios, así como aire acondicionado; características que beneficiaron para mantener la seguridad, higiene y buen manejo de las muestras, disminuyendo el riesgo de contaminación dentro de la instalación.



Figura 14. Entrada principal del Laboratorio de diagnóstico molecular del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca (HRAEI). Imagen propia.

Se establecieron áreas sucias identificadas con flechas de color rojo en el piso y áreas limpias identificadas con flechas de color verde, algunas áreas limpias fueron la sala de juntas y otros espacios en donde el personal podría atender actividades de oficina, estas actividades se facilitaron ya que el hospital cuenta con su propio sistema en red ([hraei.saludness.com](http://hraei.saludness.com)), en el que los diferentes servicios cargan el expediente de cada paciente, actualizándolo de forma constante a cada servicio que se le brinda, de esta manera desde el laboratorio molecular tuvimos acceso a la plataforma y checamos a que pacientes les solicitaban PCR para SARS-CoV-2 sin necesidad de salir del laboratorio para consultar esa información en los diferentes servicios del hospital.

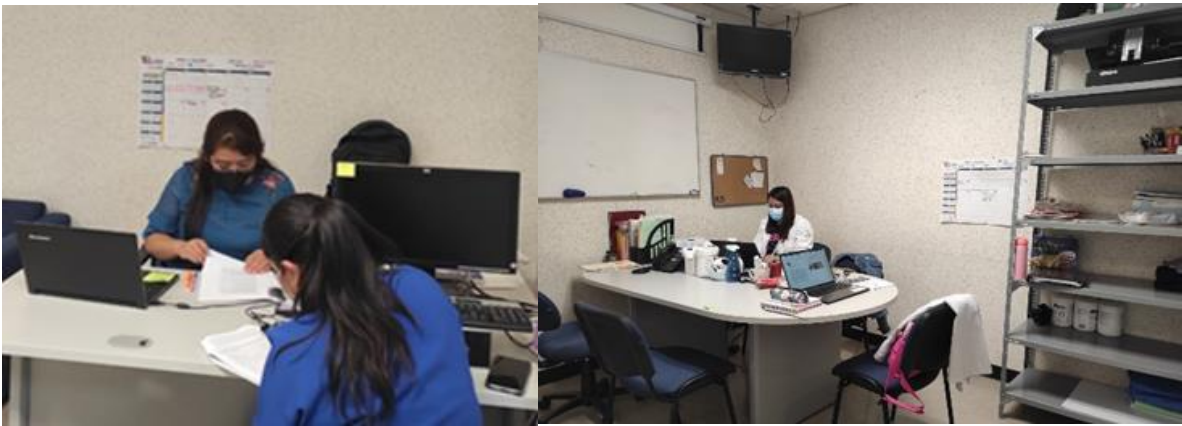


Figura 15. Espacios designados para realizar actividades administrativas y de oficina dentro del Laboratorio de diagnóstico molecular del HRAEI. Imagen propia.



Figura 16. Espacio designado para la colocación de EPP, área limpia dentro del Laboratorio de diagnóstico molecular del HRAEI. Imagen propia.

Como zona limpia también se asignó un espacio para la colocación de equipo de protección, mismo en el que se guardarían los reactivos que requirieran refrigeración.

Se instaló un ultra congelador de  $-80^{\circ}$  isotemp de la marca Fisher scientific, en donde se almacenarían las muestras del material genético ya extraído y las muestras de hisopados. En ese espacio también se colocaron estantes para los insumos requeridos para la toma de muestra.

Se colocaron carteles informativos acerca de las medidas necesarias que deberían tomarse en cuenta tanto para el equipo de protección como para el manejo de Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI) relacionado a muestras sospechosas de COVID.

Así también está área con una mesa y tarja para el lavado de manos y del material utilizado, como gradillas y cajas transportadoras.

La clasificación de las áreas rojas o de riesgo, comenzó con la sala de espera para los pacientes que tuvieran la capacidad de acudir por su propio pie a la toma de muestra, este espacio se adaptó en la parte externa del laboratorio, en esta sala se bloquearon algunos asientos para mantener la sana distancia mientras los pacientes esperaban a recibir el servicio y este espacio era sanitizado antes y después del horario de toma de muestra, para evitar esparcimiento del virus.



Figura 17. Sala de espera fuera del Laboratorio de diagnóstico molecular del HRAEI. Imagen propia.

El cuarto de toma de muestra como tal, conto con una mesa de trabajo en la que se tenían los insumos necesarios, como gases, hisopos y guantes; se colocó una silla para los pacientes y justo a un lado un contenedor de RPBI para los desechos generados.



También se colocó una silla y computadora para el registro de muestras, un refrigerador para la conservación de las muestras y un contenedor de RPBI grande para el desecho del equipo de protección utilizado por parte del personal después de la toma de muestra.



Cabe mencionar que el servicio también fue brindado al personal del hospital y no solo a los pacientes ya que en ese momento todos estábamos en riesgo de contraer el virus.

En el piso de las instalaciones se colocó una señalización de la ruta que tendría que seguirse para el posterior traslado de las muestras a las áreas de procesamiento, indicando con flechas rojas las áreas sucias o en riesgo de COVID y con flechas verdes las áreas limpias.

Figura 18. Cuarto de toma de muestra del Laboratorio de diagnóstico molecular del HRAEI. Imagen propia.

Otro espacio de riesgo, fue el asignado como cuarto de extracción, en éste se colocó un gabinete de bioseguridad clase II de la marca nuairé, en donde se realizaría la extracción de ácidos nucleicos de las muestras de hisopados sospechosos de COVID, también fue colocada una centrífuga refrigerada ST 40R marca sorval, un refrigerador para almacenar los hisopados, asientos totalmente forrados por película plástica para que la limpieza de los mismos fuera más sencilla al no permitir el almacenamiento del virus en la tela, fue colocada una pequeña mesa para los insumos requeridos y los contenedores de RPBI pertinentes. Dentro de la campana se colocó un vortex, micropipetas de diferentes capacidades, puntas, frasco de desechos y contenedor de punzocortantes RPBI.



Figura 19. Cuarto de Extracción del Laboratorio de diagnóstico molecular del HRAEI. Imagen propia.



Por último, se asignó el área de amplificación o PCR, en esta área se llevaría a cabo la preparación de la mix para la amplificación de los ácidos nucleicos de los pacientes sospechosos de COVID, aquí se colocó un gabinete con luz UV cleaver para irradiar a luz UV el material requerido para la preparación de la reacción, como puntas y microtubos.

Se colocó un Multi-Spin MSC-6000 biosan, un vortex huma twist, un gabinete de bioseguridad de flujo laminar vertical luzeren biosafety en donde se prepararía la reacción, mismo en el que se colocaron micropipetas de diferentes capacidades, así también se instaló un termociclador CFX96 Real-Time marca BioRad conectado a una computadora para el posterior análisis de los resultados.

Se ubicaron contenedores para RPBI junto con un estante para insumos generales como guantes, gasas, puntas, etc.



Figura 20. Cuarto de PCR del Laboratorio de diagnóstico molecular del HRAEI. Imagen propia.



## **7.2 Acreditación del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológico (InDRE)**

Para el diagnóstico de este nuevo coronavirus, el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) puso a disposición de las diferentes instituciones de salud, un curso que llevo por nombre: “Diagnóstico y detección por laboratorio del nuevo coronavirus, SARS CoV-2” mismo al que acudieron miembros del laboratorio molecular del HRAEI el día 25 de marzo de 2020, y estos a su vez capacitaron al resto del equipo de trabajo con la intención de realizar el diagnóstico de forma oficial. Posteriormente a principios de abril del 2020 se realizaron los tramites y las pruebas necesarias para obtener la aprobación del InDRE para que en el HRAEI se pudiera llevar a cabo el diagnóstico con la autorización pertinente por las autoridades de salud, logrando la aprobación el día 21 de abril del mismo año y a partir de esa fecha se comenzó una ardua labor por parte del equipo de trabajo. (Anexo 1)

En ese momento, debido a la incertidumbre por la forma de acción de este nuevo coronavirus, en el HRAEI el personal de salud médico y de enfermería se negó a recolectar las muestras de los pacientes sospechosos, de tal manera que el equipo de trabajo del laboratorio molecular (LabMol) tuvo que adquirir esa responsabilidad, por lo que el riesgo fue indudablemente más grande, afortunadamente el personal de control de calidad del HRAEI dio capacitación al personal del hospital y aunado a esto, el gobierno de México puso a disposición una guía online para la colocación y retiro del equipo de protección personal (EPP), así mismo, el gobierno proporciono a las instituciones de salud diversos carteles informativos acerca de las diferentes medidas que se tenían que implementar en el laboratorio debido a la contingencia por COVID-19, incluyendo:

- Lavado de manos (Anexo 2)
- Secuencia de colocación de EPP (Anexo 3)
- Secuencia de retiro de EPP (Anexo 4)
- Embalaje para el transporte seguro de muestras sospechosas de SARS-CoV-2 y otros virus respiratorios (Anexo 5)
- Residuos peligrosos biológico-infecciosos no anatómicos (Anexo 6)
- Desinfección y limpieza en el laboratorio (Anexo 7)

## **7.3 Lavado de manos**

La técnica de lavado de manos es una práctica de higiene de gran importancia ya que el hecho de llevarla a cabo de manera adecuada dentro de una institución hospitalaria previene la transmisión de microorganismos entre el personal de salud y pacientes, de esta manera se previene la transmisión de infecciones. En 2005 la OMS lanzó un reto mundial en pro de la seguridad del paciente “una atención limpia es una atención segura” movimiento que promueve la higiene de manos. Ante la contingencia desatada por COVID-19, esta técnica se volvió de gran trascendencia, fue resaltada la importancia de conocer y poner en práctica de forma adecuada la técnica.

Antes de llevar a cabo la técnica, es importante tener en cuenta algunos aspectos generales como una buena higiene de uñas, sin algún tipo de esmalte, acrílico o resina, que se

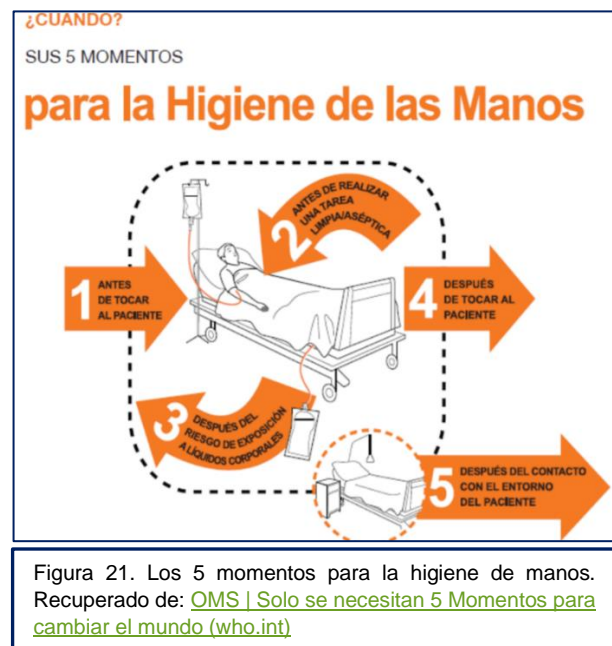
mantengan cortas y limpias ya que para el personal de salud el incumplimiento de estas características implicaría un riesgo, más si se utilizan guantes como mediada de protección, así también puede ser un riesgo el uso de accesorios como anillos, relojes o pulseras dado que pueden ser reservorios de microorganismos con posibilidad de afectar al personal de salud y a los pacientes. También es importante tomar en cuenta el uso de productos para el cuidado personal como cremas que ayuden a mantener la integridad de la piel después del lavado de manos para favorecer a que la piel no sufra lesiones o grietas que impliquen un riesgo, de igual manera se recomienda utilizar productos en dosificadores y usar toallas desechables de papel.

### 7.3.1 Momentos para realizar el lavado de manos

Como medida de higiene personal y de acuerdo con las indicaciones del gobierno, se debería aplicar lavado de manos al ingresar y salir del laboratorio, antes y después de manipular muestras, materiales biológicos o químicos. Así mismo y con mayor frecuencia, después de viajar en el transporte público, de tocar objetos materiales, al llegar a casa, antes y después de ir al baño, antes de preparar y/o consumir alimentos y; después de tocar mascotas.

Además, como parte del personal que corresponde al sector salud, dentro de las instituciones hospitalarias hay señalizaciones de los 5 momentos que hacen referencia a los momentos en que se tiene que llevar a cabo el lavado de manos con la finalidad de prevenir infecciones intrahospitalarias o nosocomiales y preservar la seguridad tanto del personal como de los pacientes.

Para el personal del laboratorio molecular del HRAEI, aplica en el momento 1 que es antes de tocar al paciente para protegerlo de los gérmenes dañinos que el personal puede tener en las manos, en el momento 3 después de estar en riesgo de exposición de líquidos corporales ya que al realizar la toma de muestra se tiene riesgo de exposición a las secreciones salivales y mucosas del paciente, en este momento aplicar lavado de manos protege la integridad del personal de salud de los gérmenes dañinos del paciente, así también después del momento 4 que es después de tocar al paciente para protegerse y proteger el entorno de atención de la salud y el momento 5 que implica haber tenido contacto con el entorno del paciente puesto que es necesario ingresar a las habitaciones de cada uno. (OMS, 2005)



### 7.3.2 Material requerido para el lavado de manos

- Agua
- Jabón líquido, pH neutro
- Toallas desechables de papel
- Tarjas o lavabos preferentemente cerca del área de trabajo

### **7.3.3 Procedimiento para el lavado de manos**

1. En primer lugar, retiramos los accesorios de manos y muñecas como anillos, pulseras, relojes, etc.
2. Del despachador de toallas de papel, tomamos dos trozos, uno para abrir la llave del agua y otro para el secado de manos.
3. Abrimos la llave con el primer trozo de papel.
4. Mojamos manos y antebrazos completamente.
5. Colocamos una cantidad suficiente de jabón en la palma de la mano
6. Frotamos las palmas de las manos entre si
7. Frotamos la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa
8. Frotamos las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados
9. Frotamos el dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándose los dedos, realizar para cada mano.
10. Frotamos con un movimiento de rotación el pulgar derecho, atrapándolo con la palma de la mano izquierda y viceversa.
11. Frotamos la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo movimientos circulares y viceversa.
12. Frotamos la muñeca de la mano izquierda sujetando en puño con la mano derecha y viceversa
13. Enjuagamos las manos pasándolas por agua abundante en una sola dirección
14. Secamos las manos con el trozo de toalla reservado al comienzo y antes de desechar, utilizarla para cerrar la llave y evitar contacto con las manos.
15. Es importante que durante el desarrollo de estos pasos se permita la fricción de las manos por un tiempo mínimo de 15 a 20 segundos. (Anexo 2)

Esta actividad es de suma importancia ya que el hecho de realizar toma de muestra a los pacientes con sospecha de COVID-19 implica riesgo tanto para el personal como para los pacientes, se realiza con cada uno sin discriminar entre el grado de riesgo del paciente, la edad, el servicio en el que se encuentre, etc; ya que el objetivo principal es no crear contaminación de un paciente a otro y como medida de prevención de contagio de cualquier agente que pueda poseer el paciente en ese momento.

### **7.4 Colocación y retiro de equipo de protección personal (EPP)**

El equipo de protección personal (EPP) es el conjunto de elementos que han sido diseñados con la intención de proteger al trabajador contra accidentes, enfermedades y/o agentes que pudieran afectar su integridad en el ambiente laboral; hay que resaltar que el EPP no reduce el riesgo o peligro, solo protege al individuo de cierto grado de exposición.

En 2017 la secretaría del trabajo y previsión social público en el diario oficial la NOM-017-STPS-2008, que hace referencia al equipo de protección personal, selección, uso y manejo en los centros de trabajo; dicha norma establece los requisitos mínimos para que el patrón seleccione, adquiera y proporcione a sus trabajadores, el equipo de protección personal

necesario para protegerlos de los agentes del medio ambiente de trabajo que puedan dañar su físico o salud. (Secretaría del trabajo y previsión social, 2017)

Ante la pandemia y en el cumplimiento de la norma, el gobierno de México publicó un cartel descriptivo de la técnica para la colocación de equipo de protección personal en el laboratorio para la toma y procesamiento de muestra de pacientes sospechosos del virus SARS-CoV-2 (COVID-19) y otros virus respiratorios.

Así los integrantes del LabMol adoptamos el seguimiento de esta técnica como protocolo para el ingreso a los pisos en donde se hospitalizaron a pacientes con alto riesgo de COVID-19 para poder realizar toma de muestras de hisopado nasofaríngeo, el equipo de protección requerido para esta actividad es el siguiente:

- 2 pares de guantes de nitrilo
- 1 bata desechable
- Mascarilla N95 o a fin
- Goggles o lentes de seguridad
- Cofia
- Zapatones
- Cinta microporosa
- Pijama quirúrgica

Dentro del HRAEI se asignó el tercer y cuarto piso para hospitalización de pacientes COVID, a la entrada de dichos pisos se delimitó un área de vestidores para que al ingreso se hiciera el cambio de la ropa o uniforme por una pijama quirúrgica y a la salida el personal tuviera la oportunidad de ducharse como medida preventiva de contagio; al ingreso ya sea para laborar turno completo o solo para toma de muestras, se colocó un transfer que dividiría el área limpia del área sucia para poder colocar y/o retirar el equipo de protección.

Antes de empezar a ejecutar la técnica, se tiene que verificar la integridad del material de protección debido a que la toma de muestra es un procedimiento de alto riesgo, es muy importante realizar una adecuada técnica ya que se puede provocar que el paciente tosa o estornude durante la obtención de la muestra. Por ello, al inicio de la pandemia y como medida preventiva se acudía a realizar las tomas en binomios, así existía observación de un compañero a otro para colocar y retirar el EPP, asegurando que no hubiese roturas al desarrollar la técnica, lo que pudiera suponer un riesgo de contaminación, se realizó de este modo hasta que el personal adquirió la destreza para realizarlo de forma adecuada sin necesidad de supervisión de una segunda persona.

El procedimiento se lleva a cabo de acuerdo con las normas y lo establecido por las autoridades de salud, siguiendo la secuencia del esquema mostrado en el anexo 3. Además, para el equipo de trabajo de este laboratorio, se sustituyó el uso de KN95 por un respirador de cara completa, la implementación de esta máscara facilitó en gran medida la toma de muestras ya que no se empaña, prescindiendo del uso de lentes de seguridad y al ser transparente posibilita realizar varias tomas sin riesgo en la ventilación, el modo de colocación se puede ver en el anexo 8.

Una vez concluida la toma de muestra, el retiro de EPP se realiza comenzando de lo más contaminado a lo menos contaminado y dentro del espacio delimitado como área sucia, esta secuencia se detalla en el cartel proporcionado por el gobierno del estado de México, Anexo 4.

Cabe resaltar que, después de la toma y antes de retirar el equipo de protección, todo el material es sanitizado con hipoclorito, para disminuir el esparcimiento de partículas virales que pudieran quedar en el equipo, en el material y en los insumos del personal. Así mismo se realiza el lavado de manos pertinente antes y después de salir de cada área.

## **7.5 Recolección, envasado, transporte y conservación de muestras.**

Como ya se ha mencionado antes, existe una amplia variedad de muestras en las que se puede realizar la detección de SARS-CoV-2, sin embargo, el laboratorio se apegó al protocolo establecido por la OMS, contemplando el hisopado nasofaríngeo como muestra ideal para la detección del virus.

El objetivo es la obtención de células del epitelio respiratorio que pudieran estar portando el virus, y aunque las secreciones pueden interferir con la toma de la muestra, hay que ser muy cautos a la hora de recomendar al paciente sonarse la nariz, más si la indicación se da al estar con el paciente para la toma, ya que puede esparcir partículas virales al momento de hacer la limpieza nasal.

### **7.5.1 Material requerido para toma de muestra**

- Hisopos de plástico flexibles de poliéster, rayón o nylon rebobinado y estériles
- Medio de transporte en recipiente hermético (tubos falcón roscable de 15mL)
- Geles refrigerantes
- Hielera o caja de transporte
- Equipo de protección (bata, cofia, guantes, lentes de seguridad, mascarilla y careta o respirador de cara completa)

### **7.5.2 Procedimiento para toma de muestra de hisopado naso y orofaríngeo**

- Antes de la toma se verifica que se encuentre el material completo, en buenas condiciones y estéril, se rotulan los tubos colocando el nombre del paciente, edad y servicio al que pertenecen.
- Se coloca el EPP siguiendo la técnica antes mencionada para colocación de EPP Anexo 3.
- Se dan instrucciones al paciente, indicándole en donde tiene que sentarse para la toma de muestra, se le informa en que consiste el procedimiento comentándole las molestias que puede causar, explicarle que puede ser doloroso y que ocasionalmente puede presentar sangrado después de la realización de este.
- Para el hisopado, se pide al paciente que se baje la mascarilla lo justo para dejar la boca y las fosas nasales al descubierto.
- Primero se realiza el muestreo de garganta, se inclina la cabeza del paciente hacia atrás, se retira la envoltura del hisopo, se le indica al paciente abrir la boca lo suficiente para introducir el hisopo y con este se raspan las amígdalas y la parte faríngea posterior

por un tiempo de entre 5 y 10 segundos, al retirarlo se introduce en el tubo que contiene el líquido de transporte.

- Para continuar con la toma de muestra nasal, se retira el hisopo del embalaje y se inclina ligeramente la cabeza del paciente hacia atrás, de modo que las fosas nasales sean más accesibles.
- El personal que toma la muestra se debe colocar algo lateral al paciente por razones de seguridad en caso de que el paciente tosa o estornude.
- Se le pregunta al paciente si tiene una fosa nasal por la que respira mejor y se intenta primero por ese lado.
- Puede ser útil tirar un poco de la punta nasal hacia arriba con la mano que no esté sujetando el hisopo.
- Se inserta suavemente el hisopo por el suelo de la fosa nasal, intentado mantener el hisopo recto sin lateralizarse, apuntando hacia la parte superior del pabellón auricular (más o menos la parte más anterior del hélix) fig. 21
- Si se detecta que el hisopo entra adecuadamente sin resistencia los primeros 5 o 6 cm, quiere decir que estamos realizando adecuadamente el procedimiento.
- Cuando hay resistencia por parte del paciente, quiere decir que hemos llegado a la nasofaringe. En ese momento procedemos a girar el hisopo durante aproximadamente 10 segundos para asegurarnos de obtener una buena cantidad de muestra.
- Posteriormente el hisopo se retira suavemente, girando al mismo tiempo para recoger más muestra y una vez fuera de la cavidad nasal, se introduce en el tubo que contiene el medio de transporte para conservar la viabilidad.

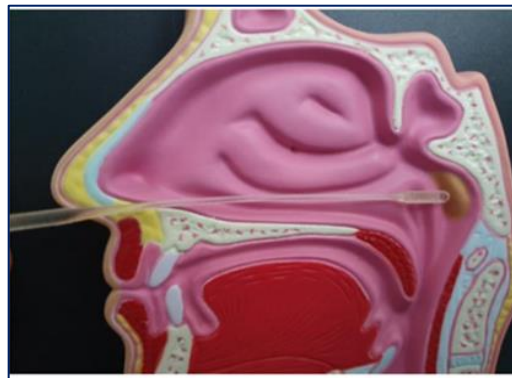


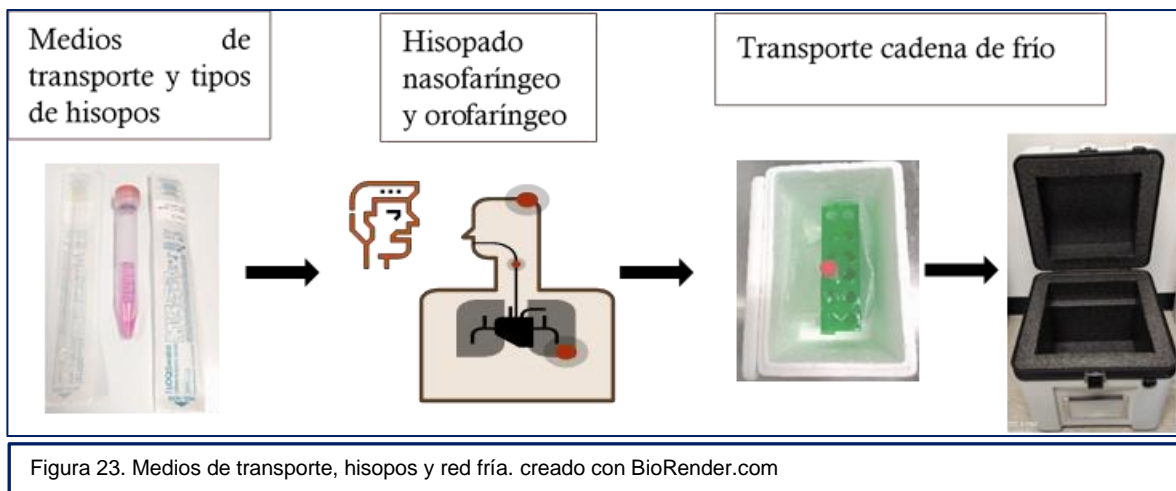
Figura 22. Introducción del hisopo en cavidad nasofaríngea. Recuperado de: <https://seorl.net/wp-content/uploads/2020/07/Toma-de-muestras-nasofar%C3%ADngeas-para-el-diagn%C3%B3stico-de-COVID-19.pdf>

NOTA: Si al comenzar la introducción del hisopo, a los 2-3 cm notamos resistencia al paso de este, será necesario retroceder un poco buscando un paso diferente y en caso de no conseguir pasar, sin hacer fuerza, se intentará por la otra fosa. Es necesario asegurarse de mantenerse en posición paralela al tabique nasal sin desviar y con dirección a la zona del pabellón. El hisopo debe alcanzar una profundidad variable según las características del paciente (alrededor de 7-10 cm). (Morales C., 2020)

### 7.5.3 Manejo y transporte de muestras sospechosas de SARS-CoV-2

Al realizar la toma de muestra, todas son consideradas como sospechosas de COVID, inmediatamente después de la toma, éstas se almacenan en hielera o caja transportadora, misma que debe contener refrigerantes para mantener una red fría mientras son llevadas al laboratorio, los tubos que contienen las muestras deben estar perfectamente identificados para evitar errores al elaborar el registro.

Con el fin de evitar diseminación y contaminación del virus, al salir de los espacios de toma de muestra y antes de introducir a la caja transportadora, los tubos son rociados con hipoclorito de sodio para disminuir el riesgo de contaminación por salpicaduras que pudieran haberse generado antes de cerrar el tubo.



Para tener un aislamiento del virus exitoso, se debe ser cuidadosos en todo momento y una de las recomendaciones es que las muestras sean procesadas lo antes posible, de no ser posible procesarlas dentro de las primeras 24 horas, éstas deben ser almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$ , si no existe la posibilidad de almacenar a esta temperatura, se pueden almacenar temporalmente a  $-20^{\circ}\text{C}$ , siempre cuidando que las muestras no sufran congelación y descongelación repetidamente y de existir la necesidad de transportar las muestras a largas distancias, se recomienda utilizar hielo seco, considerando el embalaje descrito en el Anexo 5.

Dentro del hospital se estableció una ruta que se tendría que seguir para llevar las muestras sospechosas desde los pisos de hospitalización hacia el laboratorio, para el paso de las muestras se requería contar con tarjeta de acceso para abrir un par de puertas restringidas y una vez en el edificio de enseñanza el elevador era de uso exclusivo para el personal que llevara muestras de hisopado al laboratorio.

Saliendo del elevador, el paso de las muestras se realizaba por el cuarto de toma y en el computador que ahí se estableció, se realizaba el registro, introduciendo los siguientes datos:

- A cada muestra se le asigna un código COV
- Fecha del día en que se realizó la toma de muestra
- Nombre completo del paciente
- Edad del paciente

- Municipio de donde es originario el paciente
- Área o servicio en donde se encontraba hospitalizado el paciente al momento de la toma

Debido que al inicio se estaban probando diferentes protocolos de extracción y detección, se realizaba toma de muestra de diferentes fluidos, hisopado nasofaríngeo, sangre, saliva. Hay que aclarar que, para realizar el diagnóstico, siempre se utilizó muestra de hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo concentradas en un mismo tubo; sin embargo, siempre se tenía que registrar con qué tipo de muestras se contaba en el laboratorio para cada paciente.

Así también se dejaba el espacio pertinente para que posterior al proceso de las muestras se pudiera colocar el resulta final. Aunado a esto, al principio de la pandemia y de la prestación del servicio en el laboratorio, como protocolo a cada paciente se le realizaba prueba rápida, en este caso también se tenía que registrar el resultado de dicha prueba.

CODIGO	Fecha	Nombre Completo	Edad (años)	Municipio	Área	Mta. Nasof.	Mta. Sangre	RESULTADO pba. rápida	IgG	IgM	RESULTADO qRT-PCR
COV-1	13/04/2020	Braulio Valle Navarro	85	Ixtapaluca	URGENCIAS	SI	SI	POSITIVO			POSITIVO
COV-2	13/04/2020	Angélica Amezcua Florentino	38	Chimalhuacán	URGENCIAS	SI	SI	NEGATIVO			NEGATIVO
COV-3	13/04/2020	José Fernando Juárez Ramos	45	Ixtapaluca	URGENCIAS	SI	SI	POSITIVO			POSITIVO
COV-4	13/04/2020	Clara Avila Salazar	42		URGENCIAS	SI	SI	NEGATIVO			NEGATIVO
COV-5	13/04/2020	Isidro Pérez Cordero	45	Lindavista, CdMx	URGENCIAS	SI	SI	NEGATIVO			POSITIVO
COV-6	13/04/2020	Pablo Tamasis Lavastida			URGENCIAS	SI	SI	NEGATIVO			NEGATIVO
COV-7	13/04/2020	Dulce Alejandra Aldana Del Valle	40	Ixtapaluca	URGENCIAS	SI	PENDIENTE	PENDIENTE			POSITIVO
COV-8	14/04/2020	Roberto Víctor Huerta Alatraste	54	Valle de Chalco Solidaridad	URGENCIAS	SI	PENDIENTE	PENDIENTE			POSITIVO
COV-9	14/04/2020	José Luis Machorro Pérez	73	Nezahualcoyotl	URGENCIAS	SI	PENDIENTE	PENDIENTE			POSITIVO
COV-10	14/04/2020	Luis Alberto Vargas Cruz	33	Chalco	URGENCIAS	SI	PENDIENTE	PENDIENTE			POSITIVO
COV-11	14/04/2020	Maria Rosa Guevara Castro	49	Chalco	URGENCIAS	SI	PENDIENTE	PENDIENTE			POSITIVO
COV-12	14/04/2020	Julio César Hernández Chávez			CUARTO TOMA DE MTA.	SI	SI	NEGATIVO	0	0	NEGATIVO
COV-13	14/04/2020	Tania Jaquelin Rosas Nicolás	30	Nezahualcoyotl	CUARTO TOMA DE MTA.	SI	SI	NEGATIVO	0	0	NEGATIVO
COV-14	14/04/2020	Rogelio García Pastrana	66	Tlalpan	ONCOLOGÍA	SI	SI	NEGATIVO	0	0	NEGATIVO
COV-15	14/04/2020	César Manuel Álvarez Ignacio	33	Ixtapaluca	URGENCIAS	SI	NO	N/A			POSITIVO
COV-16	15/04/2020	Pablo Cabrera Guerrero			TRIAGE	SI	SI	NEGATIVO	0	0	NEGATIVO
COV-17	15/04/2020	Elvin García Castro	38	La Paz	TRIAGE	SI	SI	NEGATIVO	0	0	NEGATIVO
COV-18	15/04/2020	Luis Humberto Sánchez Castillo	24	Ixtapaluca	TRIAGE	SI	SI	NEGATIVO	0	0	POSITIVO
COV-19	15/04/2020	José Alberto Atilano	47	Valle de Chalco Solidaridad	URGENCIAS	SI	SI	POSITIVO	2	2	POSITIVO
COV-20	15/04/2020	José Alejandro Pérez Pérez	66	Chalco	URGENCIAS	SI	SI	POSITIVO	3	2	NEGATIVO

Figura 24. Base de datos para el registro de pacientes a los que se les realizó PCR para SARS-CoV-2 en el año 2020.

En abril del 2020 se comenzó el inicio de esta base de datos, creando una hoja de cálculo por cada mes y al concluir el año, se inició otro registro de forma similar.



## 7.6 Extracción de Ácidos nucleicos

Al concluir el registro, las muestras se pasaban al cuarto de extracción para comenzar el proceso y poder obtener el RNA viral, regularmente no se tenía un horario de corte ya que al inicio de la pandemia no se tenía idea del número de muestras que se tendrían que procesar por día o por turno y en los meses más críticos se llegó a trabajar hasta en turno nocturno.

Para entrar al cuarto de extracción era necesario colocarse traje tyvek aunado a todo el equipo de protección mencionado en el anexo No. 3

A pesar de que el proceso de extracción regularmente va de una a dos horas dependiendo de la metodología seguida, en este caso a veces se prolongaba por más tiempo ya que el número de muestras era elevado, en un turno se llegaron a procesar hasta 100 muestras, por tal motivo el hospital proporcionó residencias temporales así como la omisión de checar entrada y salida de la jornada laboral, se tomaron estas medidas para poder dar continuidad y agilidad al procesamiento de las muestras ya que para poder trasladar a los pacientes al área adecuada se tenía que confirmar el diagnóstico por PCR, así los pacientes podrían pasar de urgencias a hospitalización en tercer y cuarto piso asignados como COVID en caso de resultar positivos.



Figura 25. Colocación del equipo de protección personal para extraer muestras sospechosas de SARS-CoV-2. . Imagen tomada del libro digital, Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19, recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020__issu)

Debido a las horas prolongadas que el personal pasaba en cuarto de extracción portando todo el equipo de protección, se consideraba en ese entonces, la extracción de ácidos nucleicos como el paso más duro del proceso ya que implicaba demasiado desgaste físico por soportar el calor generado con los trajes tyvek, implicaba no poder salir del cuarto hasta concluir la extracción, además de que después de varias horas comenzaban a empañarse los goggles y la careta, este proceso podía provocar periodos de deshidratación y cuando el trabajo se prolongaba hasta en la noche había acumulación de cansancio, sueño y hambre.

Procurando solucionar algunos de estos inconvenientes, meses después el hospital proporcionó respiradores de cara completa, omitiendo así el uso de KN95, goggles y careta, facilitando desde la toma de muestras múltiples y todo el proceso de extracción sin que hubiera obstrucción visual, generada por el calor ya que la máscara proporcionada cuenta con filtros que permiten el paso de aire de forma más libre y segura. Anexos No. 8



Figura 26. Proceso de extracción de RNA viral de muestras de hisopado sospechosas de SARS-CoV-2. Imagen tomada del libro digital, Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19, recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu)

En el primer mes de diagnóstico que fue en abril 2020, el kit utilizado para extracción de RNA viral fue el de la marca QIAGEN, sin embargo, este no se encontraba dentro de los autorizados por el InDRE, por lo que se cambió al kit de extracción BioPure kit para purificación de RNA Viral con 100 reacciones, creado por el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav)

### 7.6.1 Extracción de RNA viral con el kit BioPure

Este es un kit de purificación por columnas de ARN viral en muestras de exudado faríngeo, nasofaríngeo, aspirado o lavado alveolar. Cuenta con un sistema de amortiguación especializado que facilita la lisis completa de partículas virales para el aislamiento eficiente del ARN de muestras que contienen los agentes infecciosos (virus), etc. El ARN viral se une a la columna, se lava y se eluye mediante procedimientos rápidos de centrifugación, este ARN viral aislado de alta calidad estará listo para todas las aplicaciones posteriores tales como RT-PCR y está probado en la detección de COVID-19 mediante qRT-PCR.

El kit contiene:

- ✓ 1 Caja de plástico con asa
- ✓ 1 Buffer ARV (40 ml)
- ✓ 2 Buffer BRV (40 ml) cada uno
- ✓ 2 Buffer CRV (40 ml) cada uno
- ✓ 1 Buffer DRV (10 ml)
- ✓ 2 Bolsas con 50 columnas y 50 tubos colectores de 2 ml

Protocolo detallado:

1. De la muestra de exudado faríngeo, nasofaríngeo, aspirado o lavado bronquial, se colectan de 140 a 200µl, en un microtubo nuevo de 1.5mL.
2. Posteriormente se agregan 400µl de buffer Arv, se cierra el tubo y se mezcla usando vórtex e inmediatamente se incuba a 65°C por 10 minutos.
3. Transcurrido el tiempo se deja que la muestra llegue a temperatura ambiente (Aprox.2 minutos) para agregar 800µl de etanol frío y mezclar con vórtex.
4. Se transfieren 700µl del contenido del tubo a la columna blanca con el tubo colector, si se observan precipitados, también se agregan a la columna.
5. Se centrifuga el tubo que contiene la columna blanca, se centrifuga por 1 minuto a 10,000 rpm (12,900 x g), pasado el tiempo se desecha el sobrenadante del tubo colector. Repetir los pasos 4 y 5 con los 700 µl restantes.
6. Agregar 700µl de buffer Brv a la columna blanca, centrifugar por 1 min a 10,000 rpm (12,900 x g), pasado el tiempo se desecha el sobrenadante del tubo colector.
7. Agregar 700µl de buffer Crv a la columna blanca, centrifugar por 1 min a 10,000 rpm (12,900 x g), pasado el tiempo se desecha el sobrenadante del tubo colector.
8. Centrifugar nuevamente el tubo que contiene la columna, 1 minuto a 10,000 rpm (12,900 x g) con la finalidad de secarlo. En este paso se elimina cualquier residuo del buffer de lavado.
9. Posteriormente transferir la columna blanca a un microtubo nuevo y agregar 40µl de buffer Drv, incubar 5 minutos a 65°C. Centrifugar 1 minuto a 10,000 rpm (12,900 x g).
10. Desechar la columna blanca, cerrar el microtubo y guardar el RNA a -80°C hasta su uso para la siguiente técnica analítica.

El kit pone a disposición un protocolo para expertos que resume en diagrama el proceso completo, haciéndolo más entendible y práctico.

Purificación de RNA de exudado faríngeo, nasofaríngeo, aspirado o lavado bronquial.

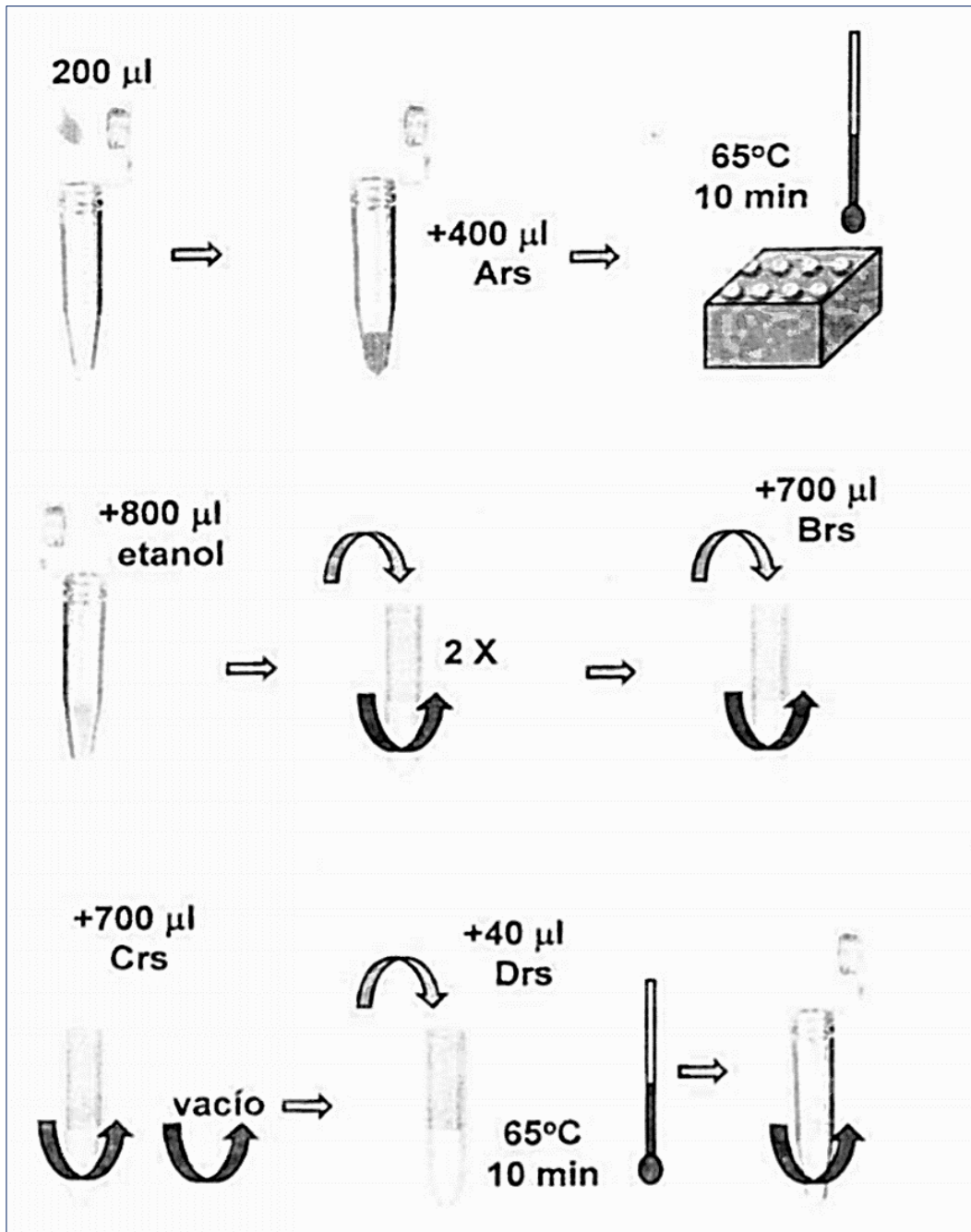


Figura 27. Diagrama de protocolo para expertos, proporcionado en el kit de extracción de la marca BioPure. CINVESTAV.

Esa fue la metodología seguida, el personal se apegó a las indicaciones del InDRE, sin embargo, tras el paso de los meses el número de casos fue en aumento y con esto se vino una escasez de reactivos, insumos y equipo de protección, los costos se elevaron y fueron exagerados para algunos de los consumibles, entre ellos los de los kits tanto de extracción como de detección, por lo que al paso del tiempo se fue cambiando de metodología adaptándose a lo que estaba disponible.

En general todos se rigen bajo el mismo principio, pero por mencionar algunos, se trabajó con las siguientes marcas comerciales:

Tabla 1

*Kits comerciales para la extracción de ácidos nucleicos, probados en el LabMol del HRAEI durante pandemia por COVID-19*

Marca comercial del kit	No. de Rxns	Ventajas	Desventajas
<p>Stratec</p>  <p><a href="https://www.selectscience.net/suppliers/stratec-molecular-qmbh/?compID=7492">https://www.selectscience.net/suppliers/stratec-molecular-qmbh/?compID=7492</a></p>	250	<p>Kit de columnas que evita pérdidas de material genético.</p> <p>Pocos pasos con buffers de lavado.</p> <p>Alto rendimiento, aprxo. 50mucrolitros</p>	<p>Número limitado de tubos colectores</p> <p>Requiere incubaciones que demoran más el tiempo de extracción.</p>
<p>Biopure</p>  <p><a href="https://ctrscientific.com/products/kit-p-purificacion-de-rna-viral-100-purificaciones-biopure">https://ctrscientific.com/products/kit-p-purificacion-de-rna-viral-100-purificaciones-biopure</a></p>	100	<p>Pocos pasos de reacción</p> <p>Fue de los primeros aprobados por el InDRE</p>	<p>Un solo tubo colector por reacción.</p> <p>Hubo escasez de este kit en meses de contagios elevados.</p> <p>Costo elevado</p>
<p>Qiagen</p>  <p><a href="https://www.qiagen.com/us/products/diagnostics-and-clinical-research/sample-processing/qiaamp-viral-rna-kits/">https://www.qiagen.com/us/products/diagnostics-and-clinical-research/sample-processing/qiaamp-viral-rna-kits/</a></p>	250	<p>Pocos pasos de reacción</p> <p>Buffer de elución muy estable y permite preservar la integridad del material genético</p> <p>Mas de un tubo colector por reacción.</p> <p>Fácil y rápido para ejecutar</p>	<p>Tardo más tiempo para ser avalado por el InDRE</p> <p>En los meses de mayor demanda se elevó el costo y se prolongó el tiempo de entrega por parte del proveedor.</p>

<p style="text-align: center;"><b>MGI</b></p>  <p style="text-align: center;"><a href="https://es.trademed.com/categories/714/Kits-para-an%C3%A1lisis-listos-para-usar/">https://es.trademed.com/categories/714/Kits-para-an%C3%A1lisis-listos-para-usar/</a></p>	250	<p>Requiere poca cantidad de muestra (200 µl)</p>	<p>Tiempo de extracción prolongado, más de 2 horas. Al ser un kit con perlas magnéticas se dificulta la separación de las perlas al momento de la elución.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Invitek</b></p>  <p style="text-align: center;"><a href="http://www.ebiotrade.com/custom/GeneTech/100406/index.htm">http://www.ebiotrade.com/custom/GeneTech/100406/index.htm</a></p>	250	<p>Permite obtener DNA y RNA en una misma extracción.</p> <p>Sencillo de trabajar</p>	<p>Requiere incubaciones a altas temperaturas, lo que prolonga el tiempo de extracción.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Fast Gene</b></p>  <p style="text-align: center;"><a href="https://www.medicaexpo.es/prod/nippon-genetics/product-128292-944323.html">https://www.medicaexpo.es/prod/nippon-genetics/product-128292-944323.html</a></p>	300	<p>Protocolo de columnas, rápido de realizar.</p> <p>Buffers de lavado facilitan la extracción.</p> <p>Más de un tubo colector por reacción.</p>	<p>No se encuentra avalado por el InDRE</p>

Nota: Cabe mencionar que, a pesar de haber probado y estandarizado los diferentes kits, no todos se utilizaron para el diagnóstico, salvo aquellos que en ese momento se encontraban bajo la aprobación del InDre.

Debido a que no todos los kits se encontraban bajo aprobación del InDRE, se hacía la comparación de uno y otro, además se evaluaban las ventajas y desventajas de cada uno, como el tiempo de extracción, el rendimiento y las condiciones. Resultando algunos más efectivos que otros, además de que con cada protocolo puesto en práctica se incrementó la habilidad y la capacidad para desarrollar diferentes protocolos.

## **7.7 Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qRT-PCR)**

Siguiendo con el procesamiento de las muestras, una vez que se tenía el RNA extraído, esas muestras eran pasadas al cuarto de PCR.

En un principio la OMS puso a disposición dos protocolos de diagnóstico molecular en la página web bajo el nombre de “Pruebas de laboratorio para casos humanos sospechosos del nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV)” uno de estos fue el llamado protocolo de Berlín, bajo el cual se comenzó a trabajar en el laboratorio de diagnóstico molecular del HRAEI.

Este protocolo se basa en la detección de 2 marcadores diferentes: genes N, E y RdRp. Los ensayos para los genes E y N se entienden como protocolos de tamizaje para detectar cualquier beta-coronavirus asociado a murciélagos (no detectan coronavirus humanos comunes); el ensayo para RdRp es específico para coronavirus SARS y tipo SARS (incluyendo el 2019-nCoV). Este protocolo pone en evidencia la presencia del gen RdRP.

La detección de SARS-CoV-2 se realizó conforme a las guías decretadas por la OMS, sin embargo, conforme paso el tiempo este protocolo fue poniéndose en desuso ya que tenía como desventaja que todas las reacciones se tenían que hacer por triplicado, esto involucraba tiempo, espacio en la placa del termociclador y gasto de reactivos en mayor volumen, por lo que en cuanto fueron poniendo a disposición protocolos más rápidos y sencillos, se fue modificando la técnica de detección en el HRAEI.

Ejemplo de esto es que a los pocos meses de haber obtenido la aprobación por parte del IndRE para realizar el diagnóstico, este dio a donación kits de detección, la primera donación fue por mil reacciones de la marca Da An Gene, kit que redujo el tiempo de preparación de la mix y de corrimiento en el termociclador ya que tenía duración de una hora y treinta minutos, además de que, a diferencia del protocolo de Berlín, solo era necesario correr una reacción por cada muestra.

Dicho kit tiene como primer paso la preparación de la mix de reacción, en la que debían incluirse primers, sonda, enzima y mix de reacción que proporcionara los catalizadores y dntp's; de acuerdo con las indicaciones del kit se redacta la siguiente metodología.

### **7.7.1 Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (q RT-PCR) utilizando el kit de detección**

#### **Da An Gene**

Este es un kit de detección para ARN del coronavirus de SARS-CoV-2, se utiliza para la detección cualitativa in vitro basándose en la técnica de RT-PCR de un solo paso, identificando la presencia de los genes ORF1ab y N de dicho virus seleccionados como regiones diana de amplificación.

Los cebadores específicos y las sondas fluorescentes están diseñados para la detección del ARN en las muestras. Además, el kit también incluye un sistema de detección estándar interno endógeno, que se utiliza para monitorear los procesos de recolección de muestras, amplificación del ARN y PCR, lo que permite reducir falsos negativos.

Tabla 2

Componentes del kit de detección Da An Gene

Componente	Especificación	cantidad	características
Kit de 96 reacciones	Solución de reacción de PCR (ORF1ab) A	2 tubo c/900 µl	Cebadores específicos, sondas, tampón de ácido tris (hidroximetil) amino metanol-hidroclórico
	Solución de reacción de PCR (ORF1ab) B	2 tubo c/200 µl	DNA polimerasa Taq de arranque en caliente, transcriptasa inversa c-MMLV
Control S	Control negativo NC	1 tubo c/400 µl	Pseudovirus con fragmento de patrón interno
	Control positivo NC	1 tubo c/400 µl	Pseudovirus que contiene fragmentos diana (fragmentos de control interno)

El kit se almacena a -20°C con un periodo de validez de 12 meses, no deben excederse más de 7 periodos de congelación y descongelación repetidas. El kit está diseñado para trabajar con muestras de hisopado faríngeo y/o esputo.

#### Preparación del reactivo de PCR

1. De los reactivos del kit, seleccionar la solución de reacción de PCR "A" (ORF1ab/N) y la solución de PCR "B" (ORF1ab/N), así como los controles.
2. Descongelar a temperatura ambiente, mezclar mediante vortexeo ligero y centrifugar a 8000 rpm durante unos segundos antes de usar.
3. Realizar los cálculos necesarios para determinar la N de reacciones de trabajo (N= número de muestras a analizar + NC control negativo + NC control positivo). Seguir el siguiente sistema de amplificación para la preparación de la mezcla:

Tabla 3

Volúmenes para la preparación de la mezcla

Solución de reacción de PCR "A"	Solución de reacción de PCR "B"	Vol. Total de amplificación
17 µl	3 µl	20 µl

4. Después de mezclar bien los componentes, centrifugar durante un tiempo breve para que el líquido que haya quedado en las paredes del tubo caiga al fondo de este.
5. En los tubos de PCR, colocar alícuotas de 20 µl del sistema de amplificación de acuerdo con la N de reacciones.
6. Agregar 5 µl de control negativo en el tubo de PCR asignado como control negativo y realizar lo similar para el control positivo.
7. Agregar 5 µl de RNA de las muestras a analizar al tiempo que se van identificando y rotulando en el orden correspondiente de acuerdo con el No. COV que le corresponde a cada muestra.



8. Centrifugar 8000 rpm durante algunos segundos y colocar la o las tiras de tubos de PCR, en el termociclador.
9. Programación del equipo.

### 7.7.2 Programación de plantilla y ciclado en equipo CFX 96 BioRad

El equipo con el que se cuenta en el laboratorio es un CFX96 de la marca BioRad, el software del equipo fue instalado en una laptop convencional.

1. Como primer paso se encienden los equipos, el CFX96 y la Laptop, Verificando que el equipo se encuentre listo para usar.
2. El químico responsable, será quién tendrá que ejecutar la programación del equipo, por lo que una vez que se tienen los tubos que contienen la mezcla de reacción más muestra, estos tienen que colocarse en la placa del termociclador en orden ascendente de acuerdo con el código COV asignado. En este caso en particular, se usan tubos de PCR blancos en tiras de 8 muestras acomodándolos en la placa del termociclador CFX96.
3. Se abre el programa del CFX-96, al instante, se despliega una pantalla gris, la cual en la parte superior muestra un panel de opciones para ejecutar.
  1. Se pulsa sobre la opción "File", seguido de "New" y "Protocol"
  2. Inmediatamente se abre una nueva ventana en donde se configuran las condiciones del ciclo de acuerdo con las indicaciones del protocolo Da An Gene como se muestran en la siguiente imagen.

4.2.2 Open the "Instrument" window and set the cycle conditions as follows:

Stage	Reps	Target (°C)	Running Time	Data Collection
1	1	50	00:15:00	-
2	1	95	00:15:00	-
3	45	94	00:00:15	-
		55	00:00:45	√

Figura 28. Cuadro para programación de ciclos de acuerdo con lo indicado en el protocolo del kit de detección Da An Gene.

3. Como siguiente paso se programa la plantilla seleccionando la opción "plate" seguido de la opción "Create New" en la que se indicará el orden en que serán colocadas las muestras coincidiendo con la placa del termociclador, en esta plantilla se puede asignar un número, nombre o código para cada muestra, así mismo se seleccionan los

fluoroforos con los que están marcados los genes para ser identificados. En este caso en particular seleccionamos el canal FAM para la detección del gen N, canal VIC para la detección del gen ORF1ab y canal Cy5 para el control interno.

4. Una vez programada la plantilla, se pulsa la opción "OK" para guardar la plantilla, posteriormente se pulsa la opción "Start Run" y también es necesario guardar para tener los resultados disponibles terminado el corrimiento en el equipo.

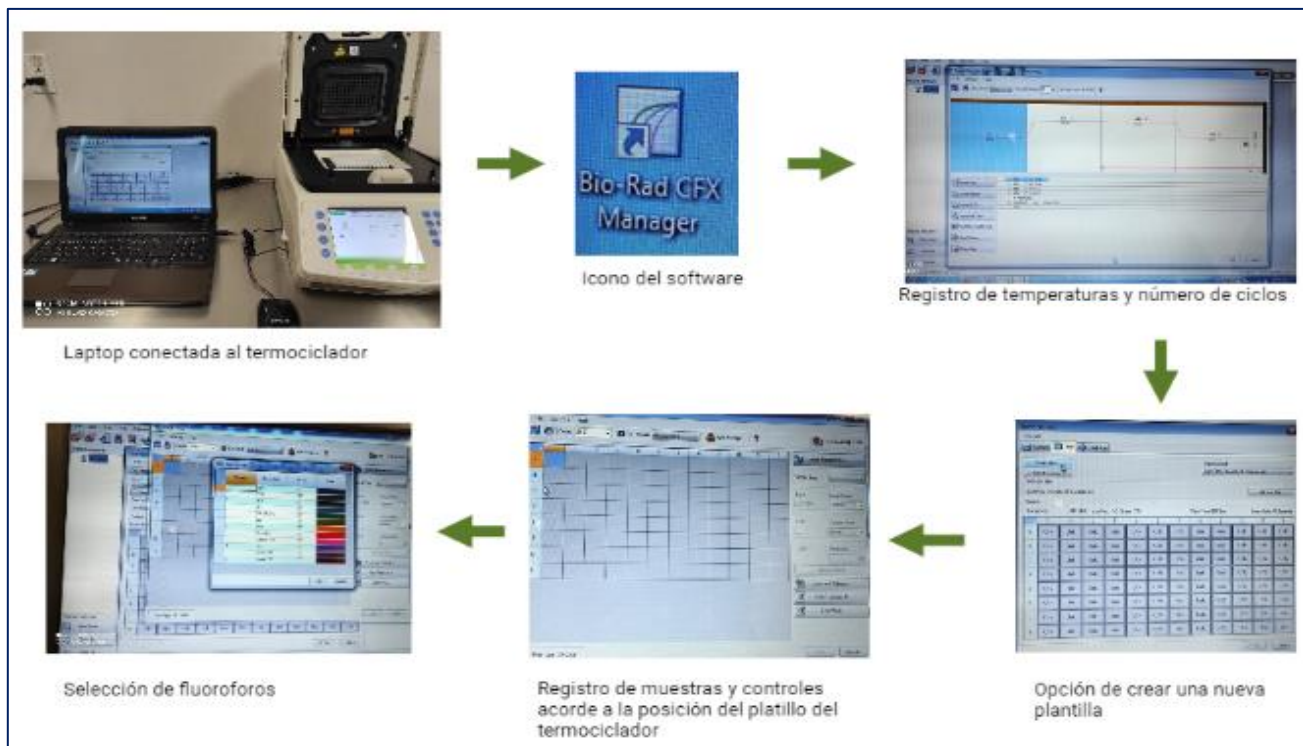









Figura 29. Programación de plantilla y ciclado en termociclador CFX96 Bio Rad. Creado con BioRender.com


Es importante mencionar, que como era de esperarse, igual que ocurrió con los kits de extracción, hubo escasez de los kits de detección y puesto que no todos se encontraban bajo aprobación del InDRE, en el laboratorio se realizaron pruebas y comparación de varios kits de detección, evaluando las ventajas y desventajas de cada uno tomando en cuenta el tiempo requerido en el equipo para cada ciclado, las condiciones, la amplificación de los controles internos, etc. Resultando algunos más efectivos que otros, además de que con cada protocolo puesto en práctica se incrementó la habilidad y la capacidad para desarrollar diferentes metodologías, incluyendo el diseño de primer's y sondas realizados por el personal del laboratorio.

Tabla 4

Kits comerciales para la detección de los diferentes genes de SARS-CoV-2, estandarizados en el LabMol del HRAEI durante pandemia por COVID-19

Marca comercial del kit	No. de Rxns	Ventajas	Desventajas
<p style="text-align: center;"><b>Altona</b></p>  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <a href="https://www.google.com/search?q=ALTONA+MOLECULAR&amp;tbm=isch&amp;ved=2ahUKEwi5go7d9v_xAhXKUawKHVaOCYsQ2-">https://www.google.com/search?q=ALTONA+MOLECULAR&amp;tbm=isch&amp;ved=2ahUKEwi5go7d9v_xAhXKUawKHVaOCYsQ2-</a> </div>	<p>96 y 384</p>	<p>Permite la detección del linaje de <math>\beta</math>CoV (gen E) marcado con FAM y con Cy5 la detección específica del gen S.                      Sensibilidad: 10 copias/reacción</p> <p>Especificidad: 100%</p> <p>No. de Rxn's necesarias por cada muestra: 1</p>	<p>El tiempo de reacción es mayor al de otros kits, 2 horas aprox. lo que implica mayor tiempo para la emisión de resultados.</p> <p>Había inhibición de reacciones constantemente por lo que era necesario repetir y gastar más reactivos y controles.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Da An Gene</b></p>  <p style="text-align: center;">No. Cat. DA-930</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <a href="https://th.bing.com/th/id/OIP.BsDV4wypIHPgaPXDTA-zMAAAAA?pid=ImgDet&amp;rs=1">https://th.bing.com/th/id/OIP.BsDV4wypIHPgaPXDTA-zMAAAAA?pid=ImgDet&amp;rs=1</a> </div>	<p>96</p>	<p>Permite la detección de los genes: ORF1ab y gen N.                      Sensibilidad (Límite de detección): 10 copias/reacción</p> <p>Especificidad Analítica (Ausencia de reacciones cruzadas): 100%</p> <p>No. de Rx's necesarias por cada muestra: 1</p> <p>Tiempo de reacción: 1:30 hrs</p>	
<p style="text-align: center;"><b>Logix Smart</b></p>  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <a href="https://th.bing.com/th/id/OIP.h7vSiOqPwpXhZcnBjaoEvgHaID?pid=ImgDet&amp;rs=1">https://th.bing.com/th/id/OIP.h7vSiOqPwpXhZcnBjaoEvgHaID?pid=ImgDet&amp;rs=1</a> </div>	<p>100</p>	<p>Es sencillo de usar ya que solo incluye 3 reactivos:                      Master Mix,                      Control positivo                      Agua libre de nucleasas.</p>	<p>No permite discriminar entre el gen de la familia y el gen específico ya que ambos se detectan en el mismo canal, lo que impide saber si la señal corresponde o no al gen discriminativo</p>

<p style="text-align: center;"><b>Fast Track</b></p>  <p><a href="https://www.nsmmedicaldevices.com/wp-content/uploads/sites/2/2021/01/LD_MD_FTD_SARSCoV-">https://www.nsmmedicaldevices.com/wp-content/uploads/sites/2/2021/01/LD_MD_FTD_SARSCoV-</a></p>	32	<p>Prueba Fast Track Diagnostics para el SARS-CoV-2 de Siemens recibe autorización para uso en emergencias según la FDA</p>	
<p style="text-align: center;"><b>Gene Finder</b></p>  <p><a href="#">kit de detección para pcr FastTrack - Bing images</a></p>	96	<p>Permite la detección de los genes: RdRp, N, E, RNAsa P*</p> <p>Sensibilidad: 10 copias/reacción</p> <p>Especificidad: 100%</p> <p>No. de Rx's necesarias por cada muestra: 1</p>	
<p style="text-align: center;"><b>Sacace</b></p>  <p><a href="https://th.bing.com/th/id/R.74545f15d8d3ccf8815d49a562471431?rik=XkYAsWbrOfWwmg&amp;riu=http%3a%2f%2fimg1.wsimg.com%2fisteam%2fip%2f07b62dc4-402b-4970-bd9b-">https://th.bing.com/th/id/R.74545f15d8d3ccf8815d49a562471431?rik=XkYAsWbrOfWwmg&amp;riu=http%3a%2f%2fimg1.wsimg.com%2fisteam%2fip%2f07b62dc4-402b-4970-bd9b-</a></p>	96	<p>Fácil de usar, con alta sensibilidad y especificidad. Permite la identificación de la familia beta coronavirus, gen E, gen N y un control interno, todos en un canal diferente.</p>	<p>A la fecha no cuenta con aprobación del InDRE.</p> <p>Las tapas se encuentran en tiras de 8 lo que implica la imposibilidad de ir cerrando cada tubo por separado e incrementa el riesgo de contaminación.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Labsystems</b></p>  <p><a href="https://documents.labsystemsdx.com/product/detail/15731270416SCID-SMA_RT_PCR_Complete_kit.jpg">https://documents.labsystemsdx.com/product/detail/15731270416SCID-SMA_RT_PCR_Complete_kit.jpg</a></p>	50 y 100	<p>Detección de los genes: E, ORF1ab, N y un control interno</p> <p>Especificidad: 100%</p> <p>validado en CFX96 de Bio-Rad</p>	

<p>Primer´s y sondas diseñados en el LabMol HRAEI, sintetizados por la empresa OLIGO T-4</p>  <p>Imagen propia, material disponible en LabMol HRAEI</p>	<p>1800</p>	<p>Detección de los genes E, ORF1ab y un control interno RNAsaP.</p> <p>Se realizó validación interna con el kit Labsystems.</p> <p>El tiempo de corrimiento es corto</p>	<p>No es utilizado para diagnóstico. Si no se resguardan adecuadamente, incrementa el riesgo de degradación y disminuye la capacidad de detección. Se requiere adquirir de forma adicional una enzima para qRT-PCR.</p>
--	-------------	---	---

Nota: Cabe mencionar que, a pesar de haber probado y estandarizado los diferentes kits, no todos se utilizaron para el diagnóstico, salvo aquellos que en ese momento se encontraban bajo la aprobación del InDre.

## 7.8 Evaluación de los controles para validar la corrida de PCR

Terminado el proceso de PCR, los químicos a cargo de cada turno son los responsables de realizar el análisis de las gráficas que el equipo arroja como resultados.

1. Cuando el equipo termine el ciclado programado, se deberán guardar los resultados.
2. Ajustar el valor de Threshold, en particular para el kit de detección de la marca Da An Gene proporcionado por el InDRE y de acuerdo con las indicaciones de este, el valor de Threshold tiene que ajustarse a 200. Se tiene que ajustar cada canal por separado, es decir un fluroforo a la vez marcando la opción "User Defined" indicando 200 en la casilla e inmediatamente los valores de Ct cambiaran de valor numérico.

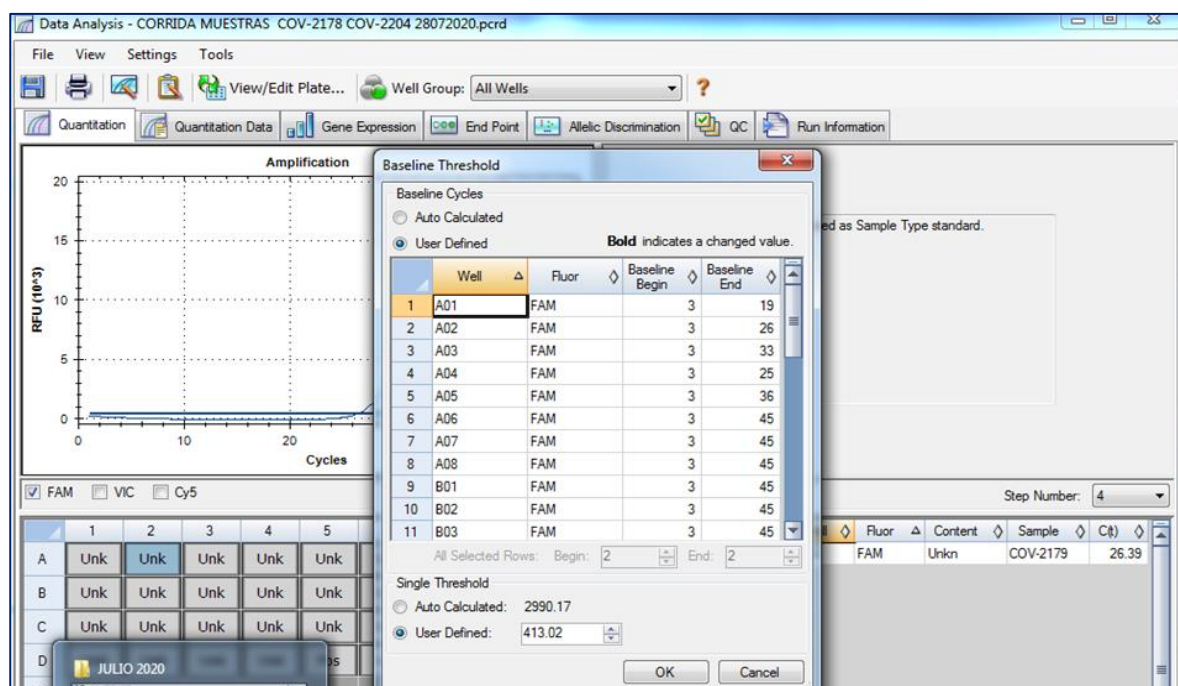


Figura 30. Ajuste del valor de threshold en termociclador CFX96 Bio Rad. Imagen obtenida de los resultados en el LabMol

- Enseguida se capturan los valores de Ct en la base de datos, incluir código COV, fecha del día de la toma de muestra, nombre completo del paciente, resultado de PCR y valor de Ct para cada gen, según el kit de detección utilizado, así como del control interno.

1	CODIGO	FECHA DE TOMA	NOMBRE COMPLETO	RESULTADO S RT-PCR	Gen N (FAM)	Gen ORF1ab (VIC)	Ct (CY5)
2							
3	COV-3480	23/09/2020	Francisco Melecio Santiago Gomez	NEGATIVO	N/A	N/A	25.97
4	COV-3481	23/09/2020	Miguel Angel Hernandez Torres	NEGATIVO	N/A	N/A	25.61
5	COV-3482	23/09/2020	Jesus Landa Dominguez	NEGATIVO	N/A	N/A	26.22
6	COV-3483	23/09/2020	Maricela Garcia Lopez	NEGATIVO	N/A	N/A	25.89
7	COV-3484	23/09/2020	Maria Teresa Angeles Estrada	NEGATIVO	N/A	N/A	24.55
8	COV-3485	23/09/2020	Alejandro Chagoya Gonzalez	NEGATIVO	N/A	N/A	28.44
9	COV-3486	23/09/2020	Francisco Orozco Rueda	POSITIVO	28.39	29.29	29.11
10	COV-3487	23/09/2020	Itzel Vazquez Garcia	NEGATIVO	N/A	N/A	25.88
11	COV-3488	23/09/2020	Ismael Martinez Morales	NEGATIVO	N/A	N/A	27.18
12	COV-3489	23/09/2020	Yael Michael Barco Sainz	NEGATIVO	N/A	N/A	28.07
13	COV-3490	23/09/2020	Norma Navarro Reboño	POSITIVO	31.1	31.1	27.47
14	COV-3491	23/09/2020	Hector Hernandez Rodriguez	POSITIVO	31.52	31.33	26.6
15	COV-3492	23/09/2020	Mel Esmeralda Anduaga Duran	NEGATIVO	N/A	N/A	28.18
16	COV-3493	23/09/2020	Yesenia Edith Cera Castellanos	NEGATIVO	N/A	N/A	27.98
17	COV-3494	23/09/2020	Wendy Sarai Mercado Caballero	NEGATIVO	N/A	N/A	26.93
18	COV-3495	23/09/2020	Losbrayka Sinai Morales Vilchis	NEGATIVO	N/A	N/A	29.38
19	COV-3496	23/09/2020	Estefania Hernandez Perez	NEGATIVO	N/A	N/A	27.63
20	COV-3497	23/09/2020	Fabian Benigno Cuervo Machuca	POSITIVO	N/A	36.05	28.7
21	COV-3498	23/09/2020	Arturo Venegas Olivares	NEGATIVO	N/A	N/A	25.57
22	COV-3499	24/09/2020	Gabriela Montes Hernandez	POSITIVO	24.94	30.48	24.96
23	COV-3500	24/09/2020	Martha Cristina Aguilar Boez	NEGATIVO	N/A	N/A	24.27
24	COV-3501	24/09/2020	Lucero Basaves Martinez	POSITIVO	33.5	34.31	25.17

Figura 31. Captura del valor de Ct para cada gen detectado. Imagen obtenida de los resultados en el LabMol HRAEI.

- Para tener control de calidad se deben de tener en cuenta las siguientes especificaciones:

**Nota: canal FAM para la detección del gen N; Canal VIC para la detección del gen ORF1ab; Canal Cy5 para control interno.**

- Control negativo NC y control interno (CY5):** no hay una curva de amplificación obvia para los canales de detección FAM y VIC, y el valor Ct del canal Cy5 tiene que ser <35.

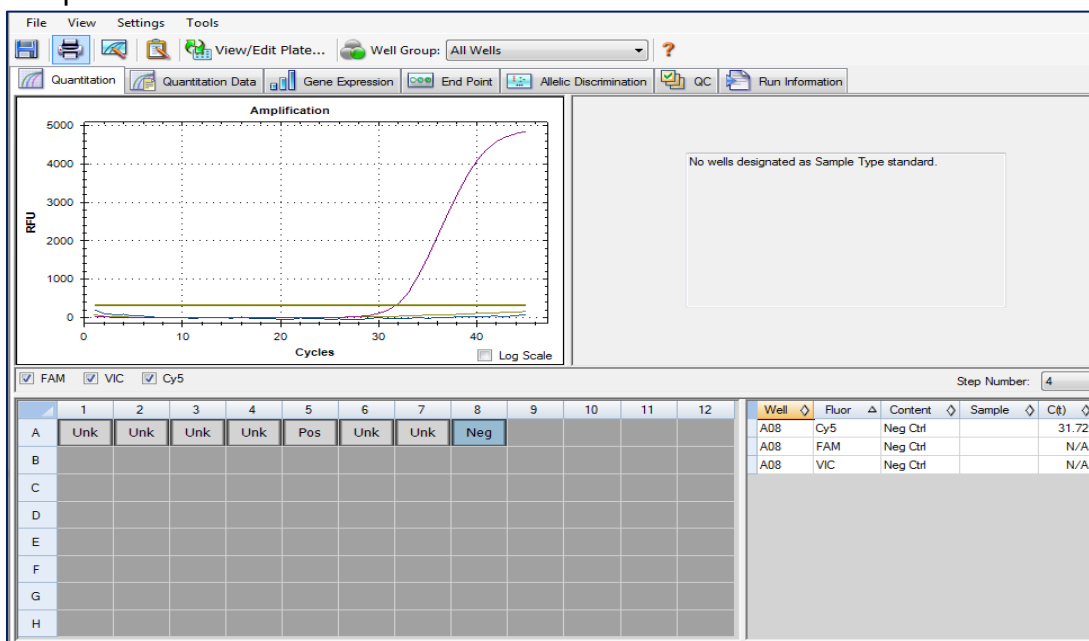


Figura 32. Evaluación del control negativo y control interno (Cy5). Imagen obtenida de los resultados en el LabMol HRAEI.

- **Control positivo (ORF1ab / N):** Las curvas de amplificación serán obvias para los canales de detección FAM y VIC con valor  $Ct \leq 32$ , y curva de amplificación o sin curva de amplificación para el canal Cy5.

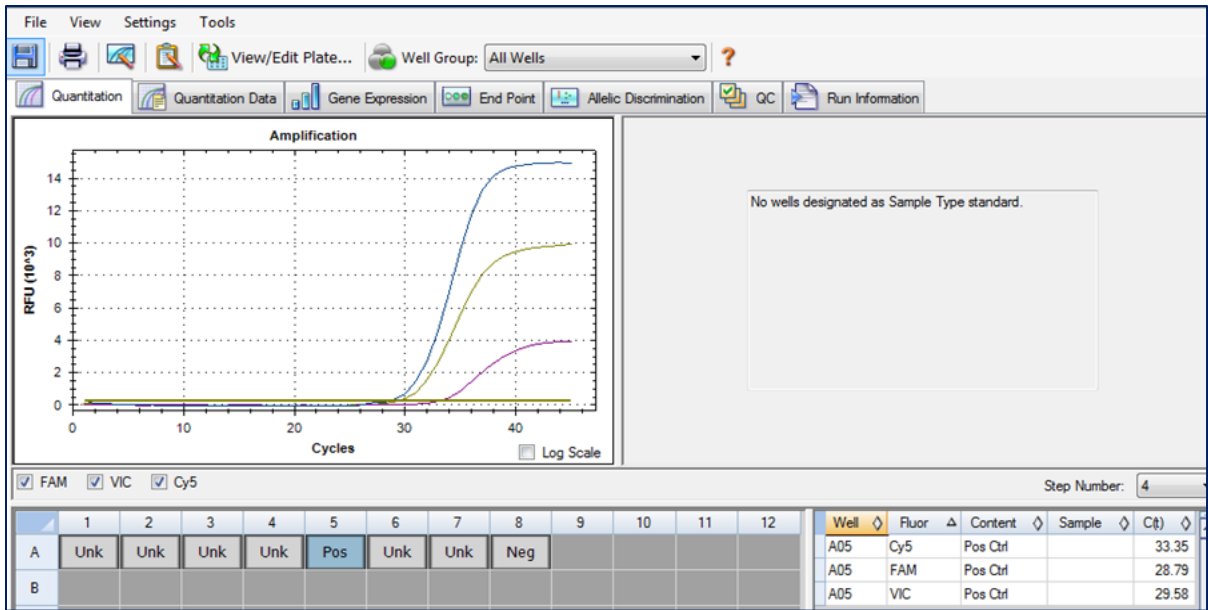


Figura 33. Evaluación del control positivo (FAM Y VIC). Imagen obtenida de los resultados en el LabMol HRAEI.

- **Inhibición del control interno.** Cuando los canales de detección FAM y VIC son positivos, el resultado del canal Cy5 (canal estándar interno) puede ser bajo o negativo debido a la competencia del sistema.

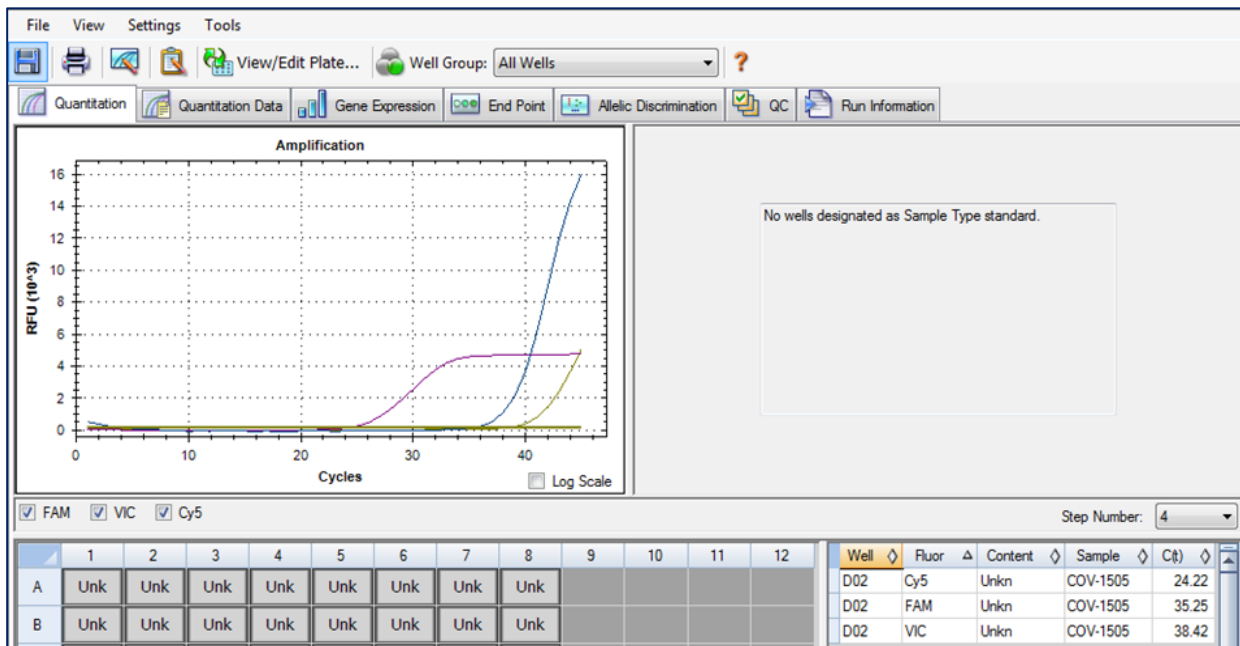


Figura 34. Ejemplo de control interno con bajas unidades de fluorescencia (RFU). Imagen obtenida de los resultados en el LabMol HRAEI.

- **Corrida Valida:** Los requisitos anteriores deben cumplirse al mismo tiempo en cada experimento; de lo contrario, el experimento no es válido y debe realizarse de nuevo. Los controles negativo y positivo deben probarse en cada experimento. Solo cuando los controles cumplen los requisitos de calidad se pueden determinar los resultados de la prueba.

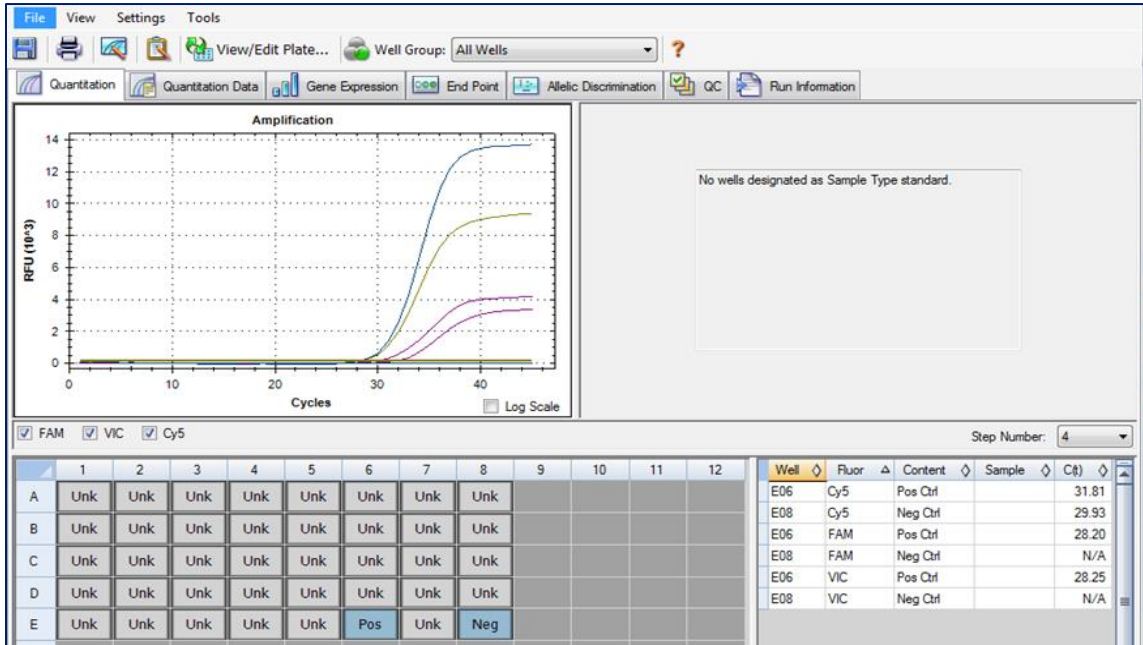


Figura 35. Evaluación de ambos controles, positivo y negativo (FAM, VIC, Cy5). Imagen obtenida de los resultados en el LabMol HRAEI.

- **Corrida Invalida:** Cuando el resultado del estándar interno es negativo, y los canales de detección FAM y VIC del tubo de ensayo también son negativos, indica que el sistema está inhibido o la operación es incorrecta, la prueba no es válida. Por lo tanto, es necesario volver a analizar la muestra.

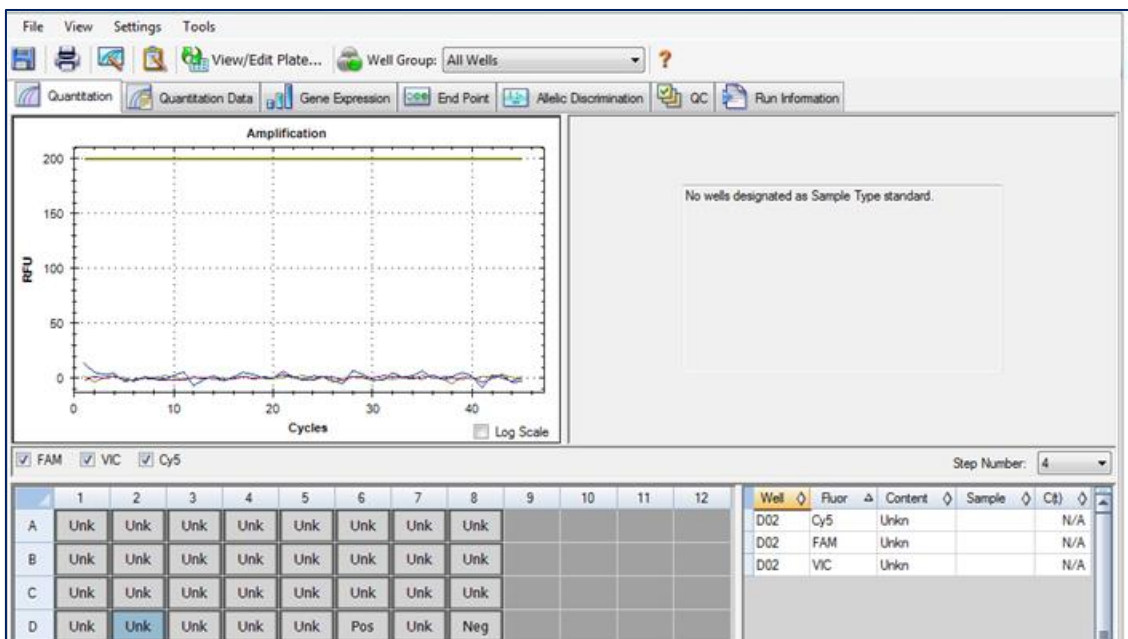


Figura 36. Ejemplo de una corrida invalida ya que hay inhibición en todos los canales. Imagen obtenida de los resultados en el LabMol HRAEI.



## 7.9 Criterios para la determinación de Resultados

1. Si la muestra de prueba no tiene una curva de amplificación en los canales FAM y VIC, con presencia de una curva de amplificación en el canal Cy5, se puede juzgar que no hay ARN del nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) en la muestra.

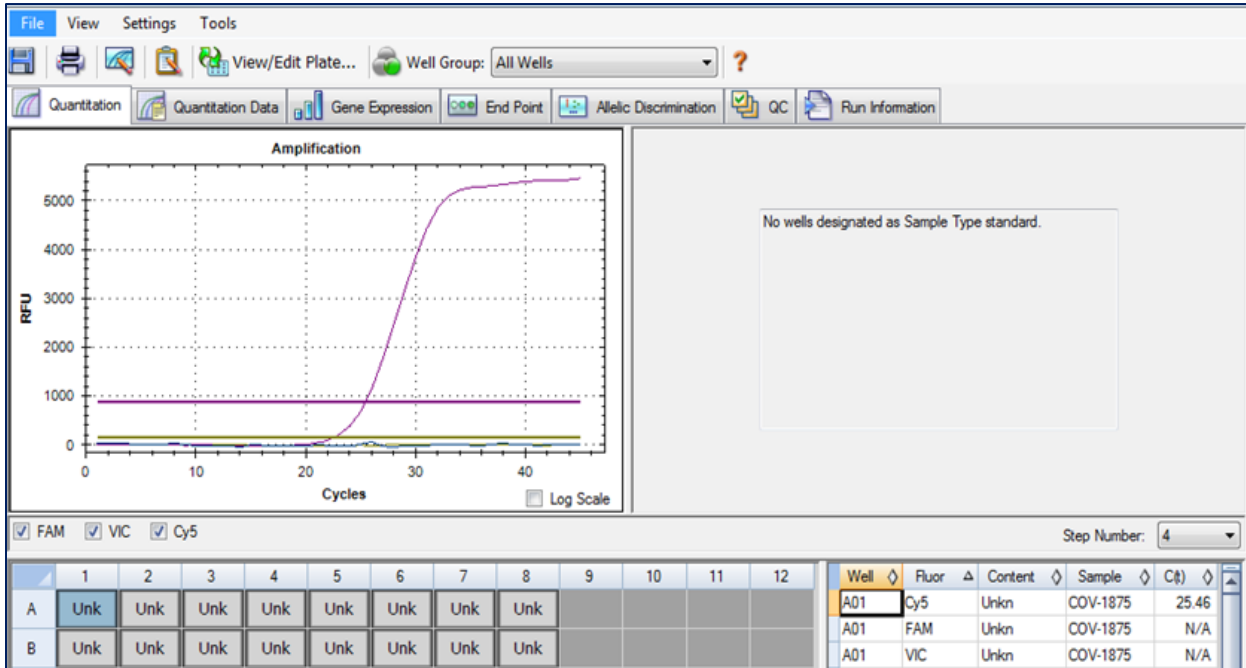


Figura 37. Ejemplo de una muestra negativa, sin amplificación de genes discriminativos (ORF1ab y gen N) y amplificación en el control interno (Cy5). Imagen obtenida de los resultados en el LabMol HRAEI.

2. Si la muestra de prueba tiene una curva de amplificación obvia en los canales FAM y VIC y un valor de  $Ct \leq 40$ , se puede juzgar que la muestra es positiva para el nuevo coronavirus (SARS-CoV-2).

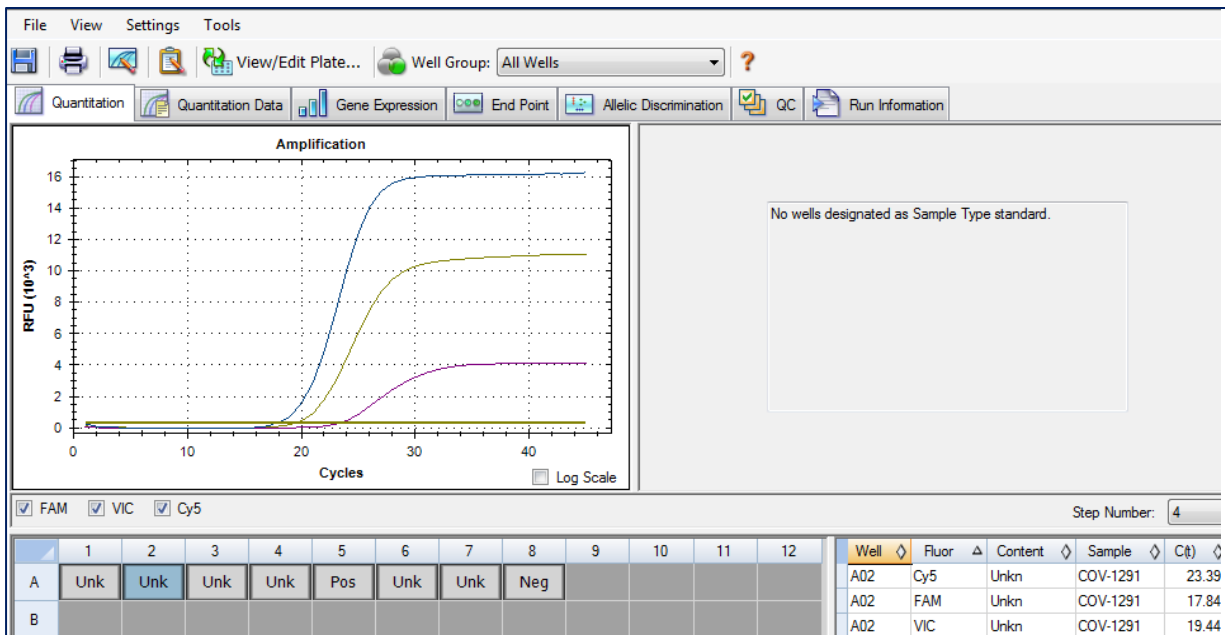
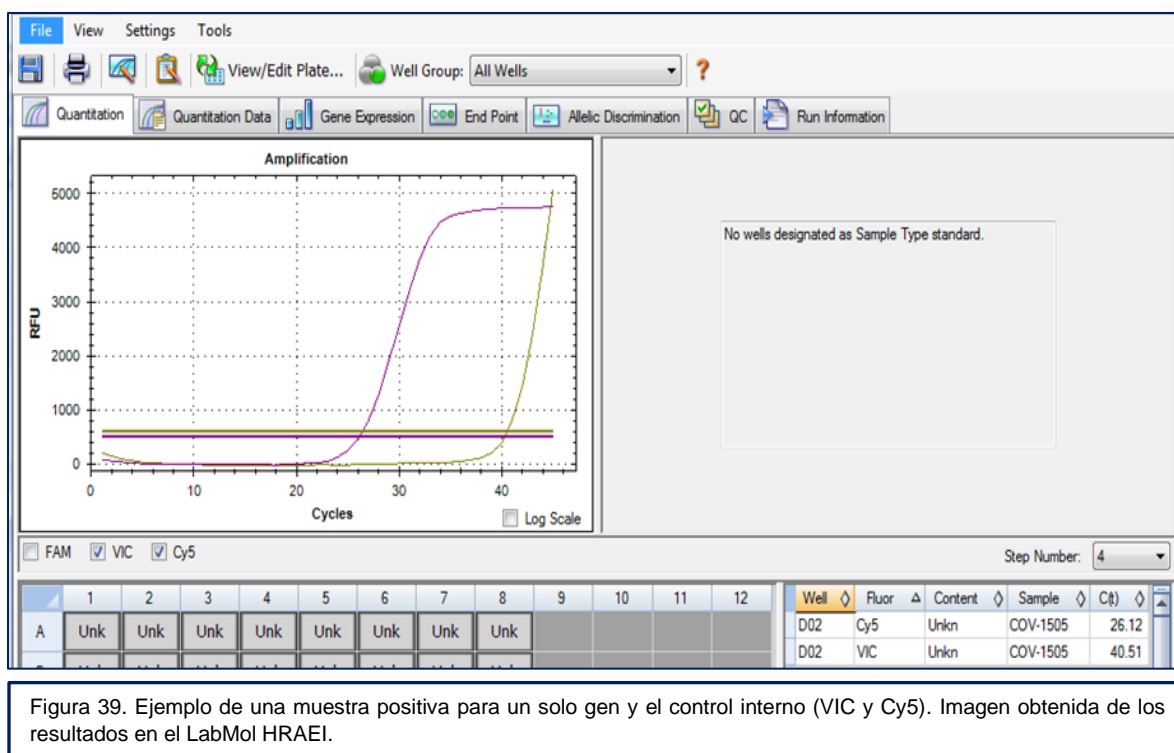


Figura 38. Ejemplo de una muestra positiva con amplificación de ambos genes (ORF1ab y gen N) y control interno (Cy5). Imagen obtenida de los resultados en el LabMol HRAEI.

- Si la muestra de prueba solo tiene el valor  $Ct \leq 40$  en un solo canal de FAM o VIC, y no hay una curva de amplificación en el otro canal, los resultados deben volver a probarse



- Si los resultados de la nueva prueba son consistentes, se puede considerar que la muestra es positiva para el nuevo coronavirus (SARS-CoV-2).
- Si los resultados de la nueva prueba son negativos, se puede juzgar que no se ha detectado ARN del nuevo coronavirus (SARS-CoV-2).

**VALOR DE JUICIO POSITIVO:** El método de la curva ROC se utiliza para determinar que tanto el valor de Ct de referencia del kit como el valor de referencia del control interno son 40.

## 8 Resultados y Análisis de Resultados

A continuación, se muestran los resultados numéricos obtenidos a lo largo de un año de trabajo en el diagnóstico molecular de SARS-CoV-2, todas las muestras fueron procesadas por el personal del LabMol del HRAE. Los resultados son presentados con la autorización de la doctora Mónica Sierra Martínez responsable directa del laboratorio de diagnóstico molecular y del doctor Gustavo Acosta Altamirano jefe de Planeación, Enseñanza e Investigación del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca. Anexo No.9

## 8.1 Resultados de las pruebas de detección de SARS-CoV-2 realizadas a partir de abril 2020 al mes de septiembre 2021

Durante el primer mes de diagnóstico en el 2020, se realizaron algunas pruebas rápidas para ver la viabilidad de aplicar éstas en casos de emergencia en donde fuera requerido un resultado rápido. Estas pruebas se realizaron a la par de la PCR para poder comparar la efectividad de las mismas, en total se realizaron 262 pruebas por duplicado, coincidiendo en los resultados para 138 pruebas que corresponde al 52.6% mientras que en el 47.3% restantes el resultado no coincide, esto se puede atribuir a múltiples factores como los días de incubación del virus, la carga viral, el tipo de muestra, etc. Por tal motivo no fue considerada como una opción viable para el diagnóstico puesto que la sensibilidad era muy baja, sin embargo en los casos coincidentes estas aportaban información extra ya que detectaban la presencia de anticuerpos IgG e IgM.

De lo anterior podríamos suponer que si estas eran positivas a IgM quería decir que el paciente estaba cursando por la infección, por el lado contrario si el resultado era positivo a IgG nos indicaba que el paciente ya había pasado por la enfermedad con la capacidad de generar anticuerpos de este tipo y por último si la prueba era positiva a ambos resultados nos indicaba que el paciente aun estaba en el proceso infeccioso pero al mismo tiempo iba generando anticuerpos.

Tabla 5

Resultados de pruebas rápidas y RT-q PCR en la detección de SARS-CoV-2

RESULTADO	RÁPIDA	PCR
POSITIVAS	109	137
NEGATIVAS	153	125
TOTAL	262	262

Tabla 6

Compatibilidad entre prueba rápida y RT-q PCR para la detección de SARS-CoV-2

PRUEBAS REALIZADAS	COINCIDEN	NO COINCIDEN
262	138	124

Comparación de resultados de Pruebas rápidas (IgG, IgM) y RT-qPCR para detección de SARS-CoV-2

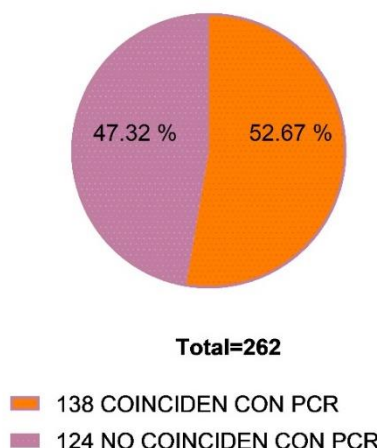


Figura 40. Representación gráfica de las pruebas rápidas para detección de SARS-CoV-2, realizadas durante el año 2020

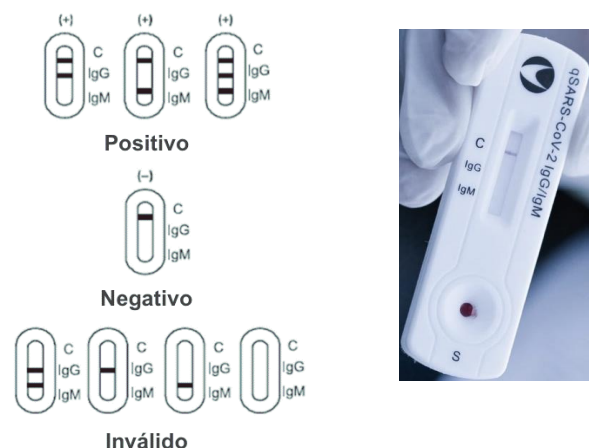


Figura 39. Figura de inserto para interpretación de pruebas rápidas para detección de SARS-CoV-2, realizadas durante el año 2020. Recuperada de: <https://kabila.mx/pruebasrapidas/interpretacion-de-resultados-prueba-rapida-covid-19-certum/>

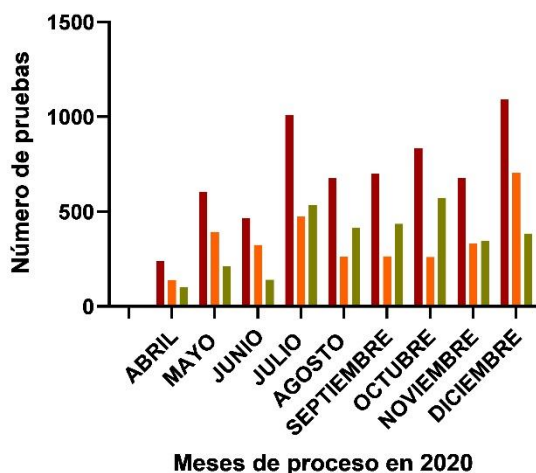
Tabla 7

Pruebas de SARS-CoV-2 realizadas en el HRAEI durante el año 2020

MES	No. DE PACIENTES	POSITIVOS	NEGATIVOS
ABRIL	238	138	100
MAYO	604	393	211
JUNIO	465	324	141
JULIO	1009	473	536
AGOSTO	675	262	413
SEPTIEMBRE	699	264	435
OCTUBRE	834	261	573
NOVIEMBRE	677	332	345
DICIEMBRE	1090	706	384
TOTAL	6291	3153	3138

Nota: En la tabla se muestra el número de pruebas realizadas por mes y el resultado obtenido durante el año 2020

Pruebas de SARS-CoV-2 realizadas en el HRAEI durante el año 2020



■ TOTAL DE MUESTRAS  
 ■ POSITIVOS  
 ■ NEGATIVOS

Figura 41. Representación gráfica de las pruebas de PCR para detección de SARAS-CoV-2, realizadas durante el año 2020

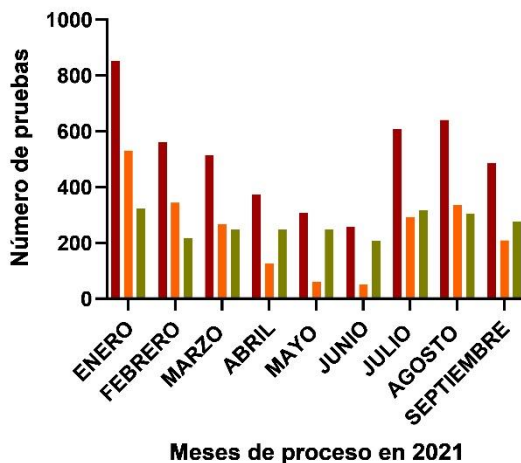
Tabla 8

Pruebas de SARS-CoV-2 realizadas en el HRAEI durante el año 2021

MES	No. DE PACIENTES	POSITIVOS	NEGATIVOS
ENERO	852	530	322
FEBRERO	560	344	216
MARZO	514	267	247
ABRIL	373	126	247
MAYO	308	60	248
JUNIO	257	50	207
JULIO	608	292	316
AGOSTO	640	335	305
SEPTIEMBRE	486	209	277
TOTAL	4598	2213	2385

Nota: En la tabla se muestra el número de pruebas realizadas por mes y el resultado obtenido durante el año 2021

Pruebas de SARS-CoV-2 realizadas en el HRAEI durante el año 2021



■ TOTAL DE MUESTRAS  
 ■ POSITIVOS  
 ■ NEGATIVOS

Figura 42. Representación gráfica de las pruebas de PCR para detección de SARAS-CoV-2, realizadas durante el año 2021

Si se pretende realizar la comparación por mes en ambos años, solo se podría de mayo a septiembre que son los meses en común entre 2020 y 2021, sin embargo, es claramente visible que durante los 9 meses de diagnóstico en 2020 hubo mayor predominio en cuanto al número de casos sospechosos de COVID-19, desde abril que fue el mes en que se inicio el diagnóstico

hasta diciembre hubo una incidencia global de 6,291 casos, mientras que en los 9 meses que van de enero a septiembre de 2021 la incidencia global es menor con un total de 4,598 muestras procesadas, sumando entre ambos años 10,889 pruebas realizadas; se podría decir que es una de las bases de datos más grandes del estado de México, lo que nos deja la gran satisfacción de haber brindado el servicio a un número tan representativo de la población mexicana.

En abril 2020 como fue el primer mes en que se empezaron a realizar las pruebas, el número de solicitudes fue bajo y a medida que pasaron los meses éste fue incrementando, de esta manera en julio tuvimos el primer pico alto de solicitudes, sin embargo, en este mes el número de pacientes negativos fue mayor al de resultados positivos, posteriormente en diciembre se observa otro pico elevado de pacientes incluso mayor que en julio y a diferencia de este, en diciembre la incidencia de casos positivos fue de 706 mientras que en julio alcanzo un total de 473 casos positivos, esto se ve en la figura número 43 en donde la positividad marcada en color naranja es mayor a finales del año 2020.

En las gráficas se observa que en la transición de diciembre 2020 a enero 2021 es en donde hay mayor incidencia de infección viral por SARS-CoV-2, parte de estos resultados se atribuyen al periodo vacacional y temporada decembrina, además hay que recordar que en aquel entonces aún no se había implementado el sistema de vacunación, por lo que lamentablemente la población más afectada fue la de adultos mayores.

Lo antes mencionado se comprueba al realizar una clasificación de edades de los pacientes hospitalizados en los diferentes servicios del HRAEI durante el año 2020, a los que se les realizó prueba de PCR para saber si estos eran portadores del virus o no.

Tabla 9

*Positividad a SARS-CoV-2 respecto a la edad en el año 2020*

<b>EDAD (años)</b>	<b>POSITIVOS</b>	<b>NEGATIVOS</b>	<b>TOTAL</b>
Infantes 0-6	32	183	215
Niños 7-12	17	106	123
Adolescentes 13-20	37	139	176
Jóvenes 21-25	56	125	181
Adultos jóvenes 26-40	318	306	624
Adultos mayores 41-60	883	399	1282
Ancianos más de 61	728	276	1004
<b>TOTAL</b>	<b>2071</b>	<b>1534</b>	<b>3605</b>

Nota: En la tabla se muestra el número de resultados positivos y negativos de acuerdo con la edad durante el año 2020

Con los resultados obtenidos se observa que de los 3,605 pacientes hospitalizados en las diferentes áreas, el 63% fueron adultos mayores de 41 años y ancianos con un total de 2286 hospitalizaciones, tomando en cuenta que para el mes de diciembre se hospitalizaron 424 pacientes entre estos rangos de edad se puede decir que el riesgo de adquirir el virus para esta población era de 6.28 por cada 10 ancianos durante el año 2020. De ahí que se hace lógica la decisión del gobierno por empezar el sistema de vacunación con esta población ya que es la que se encontraba en mayor riesgo como se observa en la siguiente gráfica.

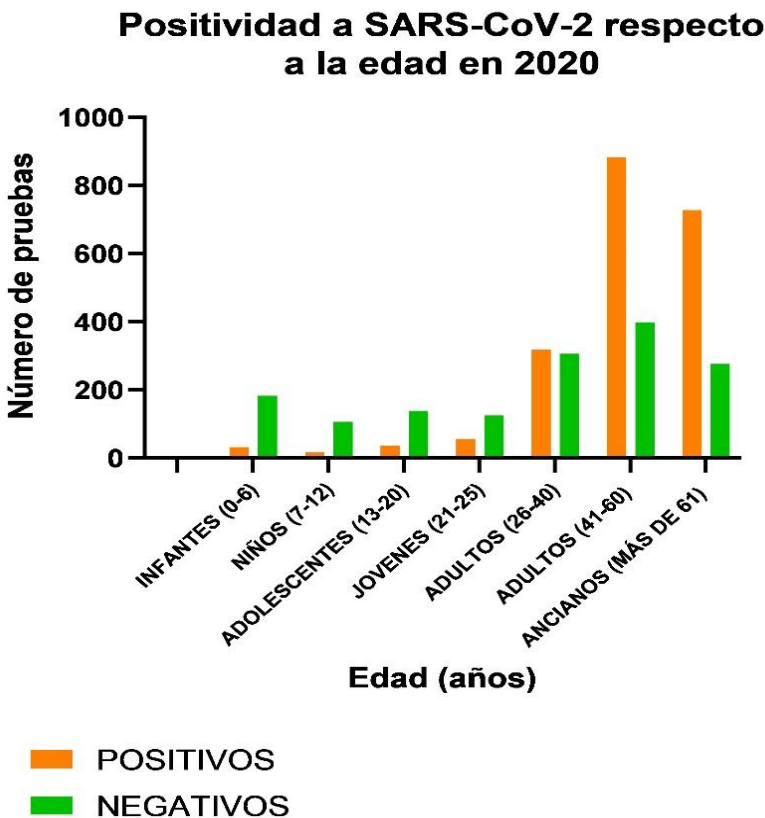


Figura 43. Representación gráfica de la positividad a SARS-CoV-2 respecto a la edad, durante el año 2020

Claculo del riesgo de ser portadores del virus de SARS-CoV-2 para la población de adultos mayores a 41 años y ancianos durante el mes de dicmiembre 2020

$$Riesgo = \frac{424 \text{ Px.mayores en diciembre}}{(2286 \text{ ancianos en 2020}) - (1611 \text{ ancianos positivos})} = 0.6$$

Para el año 2021 a pesar de que el número de hospitalizados fue similar, hubo mayor número de pacientes negativos debido a que en este año las hospitalizaciones fueron debido a que las especialidades empezaron a retomar los procedimientos y las consultas a los pacientes.

Sin embargo el número de positivos en los pacientes entre 26 a 60 años fue similar al del 2020 con 1078 hospitalizados positivos a SARS-CoV-2 a pesar de que en este año el número de casos fue menor, lo que demuestra que para este entonces la población más joven ahora era la más afectada puesto que las cifras se mantuvieron y en el caso de los ancianos mayores de 60 años disminuyó considerablemente la positividad ya que desde enero hasta septiembre de 2021 se hospitalizaron 713 ancianos mayores de 60 años y en septiembre habían 66 positivos a SARS-CoV-2, se puede decir entonces que para este mes el riesgo de contraer el virus en esta población era de 1 por cada 10 ancianos hospitalizados, mostrando una efectividad de la vacuna en esta población.

Tabla 10

Positividad a SARS-CoV-2 respecto a la edad en el año 2021

EDAD (años)	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
Infantes 0-6	23	341	364
Niños 7-12	18	174	192
Adolescentes 13-20	35	222	257
Jóvenes 21-25	51	70	121
Adultos jóvenes 26-40	316	137	453
Adultos mayores 41-60	762	194	956
Ancianos más de 61	587	126	713
<b>TOTAL</b>	<b>1792</b>	<b>1264</b>	<b>3056</b>

Nota: En la tabla se muestra el número de resultados positivos y negativos de acuerdo con la edad durante el año 2021

Positividad a SARS-CoV-2 respecto a la edad en 2021

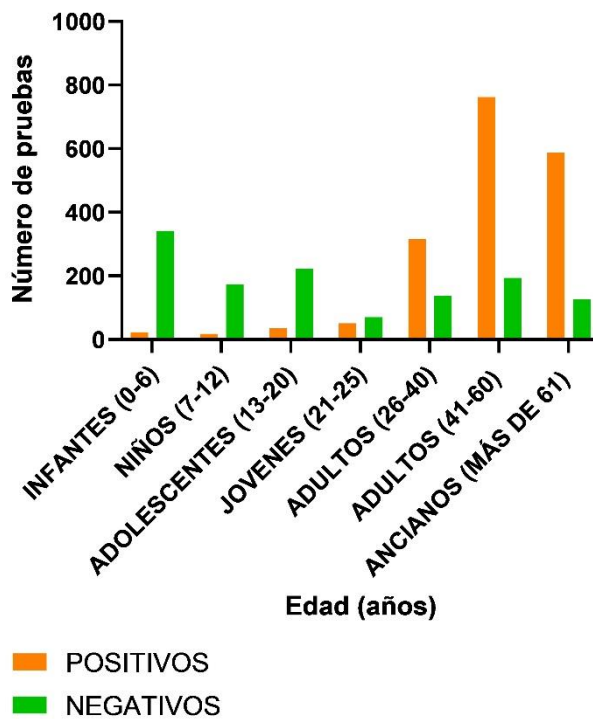


Figura 44 Representación gráfica de la positividad a SARS-CoV-2 respecto a la edad, durante el año 2021

Claculo del riesgo de ser portadores del virus de SARS-CoV-2 para la población de ancianos durante el mes de septiembre 2021

$$Riesgo = \frac{66 \text{ Px. mayores en septiembre}}{(713 \text{ ancianos en 2021}) - (66 \text{ ancianos positivos})} = 0.1$$

Por otra parte, tomando en cuenta unicamente a los pacientes hospitalizados, durante el 2020 fue mayor el número de positividad y por ende mayor el número de defunciones en

comparación con el año 2021. La figura 45 muestra las llamadas olas de alza de defunciones durante mayo y junio del 2020, posteriormente otra en el mes de diciembre del mismo año.

Tabla 11

*Defunciones de pacientes hospitalizados positivos a SARS-CoV-2 durante el año 2020*

HOSPITALIZADOS 2020				
	Hospitalizados	Positivos	Negativos	Defunciones
<b>Abril</b>	145	90	55	54
<b>Mayo</b>	427	308	119	170
<b>Junio</b>	329	259	70	137
<b>Julio</b>	342	220	122	77
<b>Agosto</b>	388	169	219	62
<b>Septiembre</b>	491	182	309	64
<b>Octubre</b>	502	196	306	28
<b>Noviembre</b>	426	234	192	77
<b>Diciembre</b>	607	457	150	130
<b>Total</b>	3657	2115	1542	799

### Defunciones de Px. Hospitalizados durante el año 2020

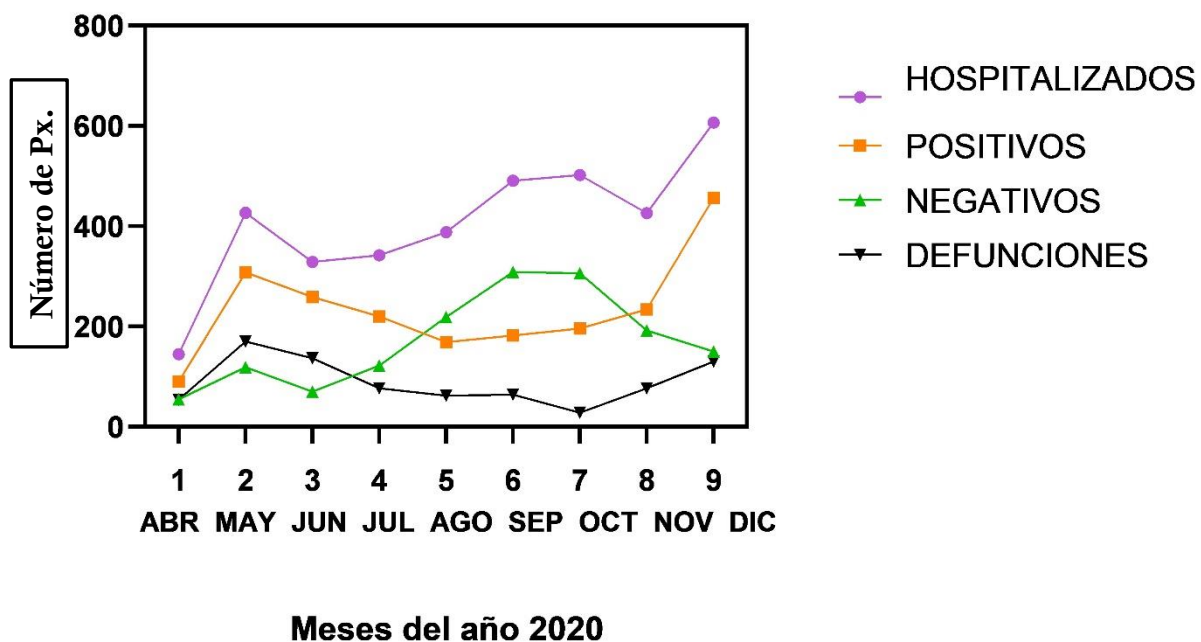


Figura 45. Representación gráfica del número de pacientes hospitalizados con resultado positivos a SARAS-CoV-2 durante el año 2020



En la figura 46 se puede notar que la positividad se mantuvo en enero 2021 y fue en deceso conforme pasaron los meses, sin embargo, el número de defunciones se mantuvo hasta marzo del mismo año, habiendo un incrememnto tanto de positividad como de defunciones en agosto y julio del presente año. Estos datos reflejan las olas de infeccion viral, sin embargo a la fecha seguimos a la expectativa de la eficacia de la respuesta inmune tras el sistema de vacunación.

Tabla 12

*Defunciones de pacientes hospitalizados positivos a SARS-CoV-2 durante el año 2021*

HOSPITALIZADOS 2021				
	Hospitalizados	Positivos	Negativos	Defunciones
<b>Abril</b>	503	385	118	121
<b>Mayo</b>	415	310	105	116
<b>Junio</b>	345	232	113	111
<b>Julio</b>	261	112	149	38
<b>Agosto</b>	218	50	168	16
<b>Septiembre</b>	175	49	126	16
<b>Octubre</b>	415	249	166	67
<b>Noviembre</b>	457	296	161	140
<b>Diciembre</b>	338	192	146	94
<b>Total</b>	3127	1875	1252	719

### Defunciones de Px. Hospitalizados durante el año 2021

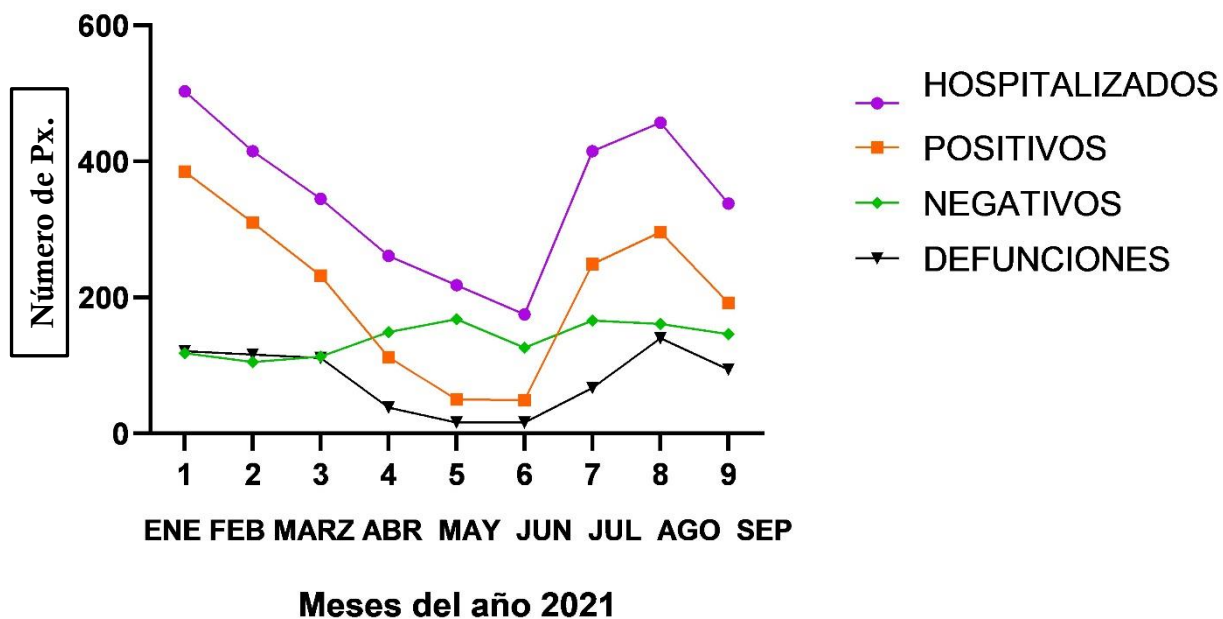


Figura 46. Representación gráfica del número de pacientes hospitalizados con resultado positivos a SARAS-CoV-2 durante el año 2021

## 8.2 Participación en el libro “Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19”

Como parte de los logros obtenidos en el HRAEI, destaca la participación del personal del laboratorio molecular en la redacción de un capítulo del libro titulado “Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19” mismo que fue escrito por las diferentes áreas que conforman el hospital, así el laboratorio molecular tuvo participación en el capítulo número 10 titulado “Diagnóstico molecular del SARS-CoV-2 en el hospital” al inicio el libro solo se publicó de forma digital en el link: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu), meses más tarde fue impreso y cuenta con reconocimiento **ISBN 978-607-99330-1-2**, Número Internacional Normalizado del Libro por sus siglas en inglés, International Standard Book Number, identificador que se designa a una publicación o edición monográfica de forma exclusiva, relacionado a un título y su editor, según el instituto nacional de derecho de autor.



Figura. 47. Dra. Alma Rosa Sánchez Conejo, directora del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca. Imagen tomada del libro digital “Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19”, recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu)



Figura. 48. Doctor Gustavo Acosta Altamirano, director de Planeación, Enseñanza e Investigación, jefe del Laboratorio molecular y responsable del proyecto del libro "Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19", recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu)



Figura. 49. Dr. Gustavo Acosta Altamirano, Dra. Mónica Sierra Martínez, Susana Bernardo Hernandez en el laboratorio de diagnóstico molecular, imagen del libro "Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19", recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu)



Figura. 50. Equipo de trabajo del LabMol presentado el libro "Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19", recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu)



Figura. 51. Portada del libro "Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19" mostrando el registro ISBN, recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu)

## CAPÍTULO 10

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL SARS-COV-2 EN EL HOSPITAL

MTRA. MARIANA JARQUÍN MARTÍNEZ, LIC. LADISLAO AMADOR TZAPOT, LIC. SUSANA BERNARDO HERNÁNDEZ, DR. GUSTAVO ACOSTA ALTAMIRANO, DRA. MÓNICA SIERRA MARTÍNEZ.

Una de las preocupaciones de las autoridades del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca (HRAEI), era cómo enfrentar de la mejor manera la pandemia por COVID-19, un reto para el personal de salud. Desconocíamos aún el alcance que esto tendría, pero estudios indicaban que los contagios se incrementarían considerablemente, de acuerdo con lo observado en otros países como Italia y España.

La Secretaría de Salud en el mes de febrero inició con la capacitación para el personal de salud que incluía a enfermeras, médicos y químicos sobre la colocación del Equipo de Protección Personal (EPP).

Aunque el porcentaje estimado de mortalidad era menor al de influenza (0.01%), era importante tomar todas las medidas de seguridad, ante el desconocimiento total del comportamiento del SARS-CoV-2.

Por ello se decidió crear el Laboratorio de Diagnóstico Molecular (LDMol) para SARS-CoV-2 (en marzo), iniciando con las adecuaciones necesarias en la Unidad de Investigación, tratando de cubrir áreas indispensables que cumplieran con lo establecido con el manejo de muestras biológicas infecto-contagiosas.

El 19 de abril de 2020 se obtuvo la liberación diagnóstica por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE), entidad encargada de evaluar dicho procedimiento. A partir de esta fecha se inició con el diagnóstico de SARS-CoV-2 por PCR en tiempo real en nuestra institución.

En este capítulo abordaremos la técnica de PCR así como lo utilizado en el mundo para el Diagnóstico de SARS-CoV-2, además incluiremos la experiencia del LDMol a lo largo de estos meses en la realización de las pruebas moleculares de pacientes del HRAEI.

Estamos ante un reto indudablemente que va más allá de nuestra capacidad y nuestro entendimiento, cada vez nos alertamos del comportamiento de este virus y esperamos que el conocimiento de la fisiopatología y

biología molecular nos permita crear estrategias para reducir la tasa de contagio y mortalidad en nuestro país y alrededor del mundo.

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR de SARS-CoV-2

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa de Transcriptasa Reversa en tiempo real (qRT-PCR) como "estándar de oro" para la detección de SARS-CoV-2, la cual detallamos a continuación.

► La PCR es una técnica molecular que permite la

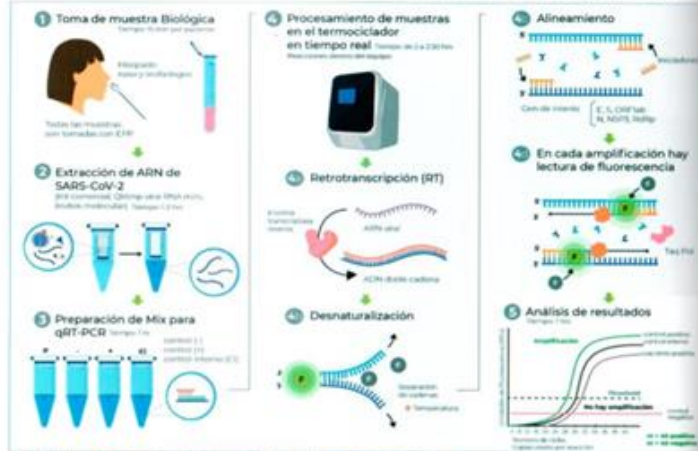


Fig. 1 Metodología de qRT-PCR para el diagnóstico de SARS-CoV-2 aplicada en todo el mundo.

Figura. 52. Portada del capítulo 10 del libro "Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19" en el que participo el personal del laboratorio de diagnóstico molecular, recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu)

## Galería fotográfica institucional

## AUTORES EN ORDEN ALFABÉTICO

## 1. Gustavo Acosta Altamirano.

Médico cirujano, Especialidad en Inmunología en el Instituto de Patología Molecular Universidad de Lovaina, Maestría y Doctorado en Ciencias en Inmunología de la Escuela Superior de Medicina del IPN. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores SNI nivel I. Director de Planeación, Enseñanza e Investigación del HRAEI. Profesor de la Escuela Superior de Medicina IPN. Capítulos: 10, 20, 21, 25

## 2. Ma. del Rocio Acosta Reyes.

Médico geriatra por el Hôpital Charles Foix-AP-HP Responsable del Centro Geriátrico La Cieneguita San Miguel Allende, Guanajuato. Capítulo 20

## 3. Rosío Albarrán Ordaz.

Licenciada en Trabajo Social por el Instituto Politécnico Nacional. Maestría en Tanatología por el Instituto Mexicano de Psicooncología. Doctorado en Administración y Políticas Públicas por el Centro de Estudios Superiores en Ciencias Jurídicas y Criminológicas. Posdoctorado en Derecho por el Centro de Estudios Superiores en Ciencias Jurídicas y Criminológicas. Supervisora de Enseñanza e Investigación. Capítulo 11

## 4. Alfredo Arellano Ramírez.

Médico intensivista y urgenciólogo. Responsable

## 6. Carolina Balderas Delgado.

Especialista en Medicina Interna. Subespecialista en Hematología. Alta Especialidad en Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas en Adultos. Maestría en Ciencias de la Salud. Adscrito del Servicio de Hematología del HRAEI. Capítulo 17

## 7. Adriana Barreto Sosa.

Alergóloga por la UNAM. Médico Adscrito al Servicio de Medicina Interna del HRAEI. Profesor asociado al curso de posgrado en la especialización de Medicina Interna en el HRAEI/UNAM. Capítulo 13

## 8. Geovanni Benitez Valdez.

Neumólogo adscrito al Departamento de Urgencias Respiratorias, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas. Capítulo 13

## 9. Emanuel Bermeo Maldonado.

Cirujano General. Subdirector de Especialidades Quirúrgicas. Capítulo 16

## 10. Susana Bernardo Hernández.

Egresada de la Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica, con especialidad en Citogenética Toxicológica y Humana, de la FES Cuautitlán-UNAM. Capítulo 10

Figura 53. Lista de autores del libro "Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19" en el que aparece el nombre de la que escribe el presente trabajo profesional, Susana Bernardo Hernández, recuperado de: [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020_issu)

### 8.3 Proyecto de extensión del laboratorio de diagnóstico molecular HRAEI

Después del servicio que se brindó al hospital tras la pandemia, se vio la necesidad de ampliar el panorama para realizar diferentes determinaciones ya que como laboratorio molecular se cuenta con la capacidad de implementar nuevos diagnósticos y no solo COVID, a la fecha se está trabajando en la estandarización de nuevas pruebas que a continuación se detallan, con la finalidad de ampliar la cobertura de diagnóstico dentro del hospital ya que la mayoría de las determinaciones son subsidiadas a laboratorios particulares, presentando varios inconvenientes o desventajas como la obtención de resultados tardíos, la degradación de muestras, mayor inversión por parte del hospital y poca comunicación entre los servicios y los analistas.

Hasta el momento se ha tenido éxito en la mayoría de las pruebas que a continuación se mencionan, sin embargo, aún no se realizan de forma permanente en el laboratorio ya que hay que seguir protocolos y acuerdos por parte de los directivos, pero se sigue trabajando y presentando resultados certeros para obtener el nombramiento oficial que permita crecer como laboratorio y poder brindar estos paneles de diagnóstico por parte del laboratorio molecular del HRAEI, enriqueciendo la capacidad misma de hospital para un mejor servicio a la comunidad mexicana.

De forma conjunta también se está trabajando en diferentes proyectos de investigación en colaboración con otras instituciones como el Hospital Juárez de México, el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV), así como algunas colaboraciones con investigadores de diferentes áreas de trabajo lo que brinda la ampliación de conocimientos en nuevas técnicas, la inmersión dentro del ámbito científico, la posibilidad de ser partícipes en el desarrollo de nuevos proyectos, adquirir más conocimiento y experiencia laboral.

Como parte del crecimiento de laboratorio también se está planteando la implementación de otras áreas como citogenética, citogenómica, citometría y criopreservación que darán al personal la oportunidad de especializarse de forma concreta en algún área específica de acuerdo a los intereses de los colaboradores y como parte de la formación del personal se ha estado enviando a cursos de capacitación al equipo de trabajo del laboratorio molecular para asegurar buenos resultados en lo que se pretende hacer a futuro.

Tabla 12

*Nuevas determinaciones dentro del Laboratorio de Diagnóstico Molecular del HRAEI*

<b>Determinación</b>	<b>Agentes identificados</b>	<b>Ventajas</b>
Panel respiratorio	Aparte de SARS incluye: <i>otro coronavirus</i> <i>Influenza H1N1, H1N3</i> <i>Rinovirus</i> <i>Metapneumovirus</i> <i>Parainfluenza</i> <i>Virus sincitial</i>	*A diferencia de los laboratorios subsidiados, se identifican múltiples patógenos en una sola reacción de PCR.

	<i>Adenovirus</i> <i>Enterovirus</i>	
Panel bacteriano (IAAS)	Se identifican: <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	*Optimización de costos ya que en el laboratorio se hace la identificación de estas bacterias en panel y no de forma individual.
Agentes causantes de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS)	Se hace determinación de: <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Tricomona vaginalis</i> <i>Mycoplasma genitalum</i> <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Ureoplasma urealyticum</i> <i>Ureaplasma parvum</i>	*Se darían los resultados de forma pronta y oportuna.  *Establecer acuerdos con todos los servicios y promover la comunicación para complementar el diagnóstico.
Determinación DE TB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
Identificación de Variantes de SARS-CoV-2	<i>Mutación D614G</i> <i>Mutación T478K</i> <i>Mutación P681H</i> <i>Mutación T732A</i> <i>K417N</i> <i>N501Y</i> <i>E484K</i> <i>E484Q</i> <i>Del 88/70</i> <i>L452R</i>	*Engrandecer la capacidad del HRAEI para brindar un servicio con mayor eficacia.
Identificación de genes de fusión o translocaciones	Estudio de 30 translocaciones que incluye 140 puntos de rompimiento, entre las más representativas: <i>t(15;17) (q24;q21) PML-RARA</i> <i>t(8;21) (q22;q22) AML-ETO</i> <i>t(12;21) (p13;q22) TEL-AML</i> <i>t(9;22) (q34;q11) BCR-ABL1</i> <i>del(4) (q12) FIP1L1-PDGFR</i> <i>del(9)(q34) SET-CAN</i> <i>t(17;19) (q23;p13) E2A-HLF</i> <i>t(6;9) (p23;q34) DEK-CAN</i> <i>t(X;11)q24;q23 MLL-SEPT6</i> <i>t(5;17)(q32;q21) NPM-RARA</i> <i>t(3;5)(q25;q35) NPM-MLF1</i> <i>t(11;17)(q23;q21) PLZF-RARA</i>	*Impulsar al personal para el crecimiento laboral.
Citometría de flujo	Determinación de relación CD4/CD8 Cuantificación de CD34 Inmunofenotipos para pacientes oncohematológicos	

## 8.4 Conclusiones

La experiencia lograda a lo largo de un año de trabajo sin duda es más grande de lo esperado, el hecho de haber ingresado al campo laboral en el área de salud me dio la oportunidad de conocer un amplio panorama para el egresado de la Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica.

La licenciatura de Bioquímica Diagnóstica proporciona conocimientos relevantes y a la vanguardia ya que siendo recién egresada de esta carrera tuve la capacidad de involucrarme en el área molecular de una institución de salud que no estaba preparada para enfrentar una contingencia nacional y que tras la implementación del laboratorio molecular pudo hacer frente a la pandemia por SARS-CoV-2. Mucho del éxito obtenido en el diagnóstico de este virus fue conocer y poner en práctica algunas de las técnicas aprendidas como estudiante, así mismo se mostró la capacidad de razonamiento y análisis como profesional para la emisión de resultados e implementación de estrategias que permitieran optimizar recursos, reactivos, equipo y tiempo ya que la pandemia puso en crisis al país entero, en donde la forma de diagnóstico estuvo en cambio constante pero siempre acatando las indicaciones del sector salud.

Tras el desempeño bajo el puesto de Auxiliar de Laboratorio se adquirió la capacidad de estandarizar diferentes determinaciones implementando múltiples técnicas que abarcan desde la toma de muestra, extracción de ácidos nucleicos, detección de una amplia gama de patógenos causantes de enfermedades o infecciones de diferente índole hasta la participación en proyectos de investigación, resaltando la oportunidad que tuvo el laboratorio en la redacción de un capítulo del libro escrito dentro del HRAEI.

Otro atributo es que esta carrera brinda la oportunidad de crecimiento en el ambiente científico ya que los conocimientos que proporciona son lo bastante sólidos para participar en estrategias de innovación e investigación de situaciones relevantes que se pueden proyectar para mejorar a la comunidad. E incluso la inmersión en este tipo de proyectos puede dar la oportunidad de crecer profesionalmente, puesto que muchos de los protocolos son propuestos por estudiantes de maestría o posgrados que engrandecen la formación académica.

El haber sido participe en la implementación de un laboratorio de diagnóstico molecular en la desesperación de brindar servicio a la comunidad por pandemia, es un logro que fortaleció y puso a prueba desde el carácter hasta la capacidad misma de superar límites, además de resaltar que los conocimientos con los que sale un egresado de la licenciatura en Bioquímica Diagnóstica, son lo bastante completos para ser capaces de enfrentar al ámbito laboral con éxito.



## 8.5 Anexos

### 8.5.1 Anexo 1. Oficio de Acreditación del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológico (InDRE)

279

**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD  
2020  
LEONA VICARIO

Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud  
Dirección General de Epidemiología

Ciudad de México, a **21 ABR 2020**

Oficio. No. DGE-DDYR-DSAT- **03799** - 2020.

Asunto: Liberación Diagnóstica SARS-COV2.

**Dra. Alma Rosa Sanchez Conejo**  
Directora General del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca  
Carretera México- Puebla Km. 34.5, Col. Zoquiapan  
56530, Ixtapaluca, Estado de México

**Att. Dra. Monica Sierra Martínez**  
Responsable del Laboratorio de Diagnóstico Molecular del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca

**Presente**

Como parte de la transferencia de la metodología para la identificación del SARS-COV2, me complace informar a usted que, después de haber revisado sus gráficos de los controles positivos y sus diluciones procesadas, el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) "Dr. Manuel Martínez Báez", ha liberado el diagnóstico del SARS-COV2 al Laboratorio del **Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca**, a su digno cargo, para cumplir con el Aseguramiento de la Calidad, por lo que puede procesar las muestras que reciba para este diagnóstico y sus resultados tienen validez, situación que le fue informada el pasado 18 de marzo del presente a través de listado oficial que se publica en la plataforma de [www.gob.mx/salud](http://www.gob.mx/salud).

Es importante señalar que los resultados positivos se deben notificar al InDRE de inmediato, para que un servidor, como vocero oficial, comunique e informe al Subsecretario de Prevención y Promoción de la Salud, Dr. Hugo López Gatell-Ramírez.

Los resultados de las muestras procesadas positivas o negativas se deberán informar al InDRE de forma inmediata, mediante la máscara de captura COVID-19 y enviar los gráficos obtenidos a la M en C. Gisela Barrera Badillo, Jefa del laboratorio de Virus Respiratorios al correo [laboratoriovirusrespiratorios@yahoo.com.mx](mailto:laboratoriovirusrespiratorios@yahoo.com.mx), para hacer un corte de información diario; asimismo, deberán enviar las muestras positivas a SARS-CoV-2 y negativas a SARS-CoV-2 de casos graves y defunciones en forma inmediata al InDRE para la búsqueda de otros virus respiratorios, en caso de que no se realice en la institución o Laboratorio a su digno cargo. Cabe mencionar que las muestras positivas a SARS-CoV-2 se van a banco de muestras y solo algunas de ellas se seleccionaran para sus secuenciación y aislamiento.

Francisco de P. Miranda No. 157, Col. Lomas de Plateros, DT. Avana Obregon, CD. JAL. T+1 (55) 5337 1664-5337 1665 www.gob.mx/2020

Figura 54. Oficio de acreditación oficial por parte del InDRE en 2020. Documentación del laboratorio molecular del HRAEI.



Lo exhorto a continuar con el correcto trabajo que hasta hoy ha evidenciado para contribuir con la vigilancia epidemiológica del país.

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para enviarle un cordial saludo.

**Atentamente**  
**Directora de Diagnóstico y Referencia del**  
**InDRE**

**Directora de Servicios y Apoyo Técnico**  
**del InDRE**

**Biol. Irma López Martínez**

**M. en G.S. Lucía Hernández Rivas**

C.c.p. Dr. Hugo López-Gatell Ramírez.-Subsecretario de Prevención y Promoción de la Salud.- Presente.  
Biol. Irma López Martínez Directora de Diagnóstico y Referencia del InDRE.  
M en G.S. Lucía Hernández Rivas. - Directora de Servicios y Apoyo Técnico del InDRE.  
M en C. Judith Estevéz Ramírez, Jefa del Departamento de Control de Muestras y Servicios del InDRE.  
M en C. Gisela Barrera Badillo.-Jefa del Laboratorio de Virus Respiratorios del InDRE.


Sección/Serie: 652

LM/LHR/

Figura 55. Oficio de acreditación oficial por parte del InDRE en 2020. Documentación del laboratorio molecular del HRAEI.

## 8.5.2 Anexo 2. Cartel informativo de Lavado de manos

# EN EL LABORATORIO, LA SALUD ESTÁ EN TUS MANOS


**Evita contraer y transmitir la enfermedad del COVID-19** 

**Al entrar, entre diferentes actividades y al salir del laboratorio, lava tus manos con agua y jabón.**

**Los virus y microorganismos** pueden permanecer en las manos después de tocar superficies contaminadas con éstos.

**El lavado adecuado de manos con agua y jabón reduce** el contagio y la transmisión.

**Lava tus manos:** Al entrar al laboratorio; antes y después de manipular muestras, materiales biológicos o químicos y; antes de salir del laboratorio. Así mismo: después de usar el transporte público y tocar dinero; al llegar a tu casa; antes y después de ir al baño; antes de preparar o consumir alimentos y; después de tocar mascotas.



1. Del despachador de toallas, toma un trozo para abrir la llave del agua y dispensa otro trozo para el sacado de manos
2. Abre la llave con la primera toalla
3. Mójate las manos
4. Deposita en la palma de la mano una cantidad suficiente para lavar todas las superficies
5. Frota las palmas de las manos entre sí
6. Frota la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa
7. Frota las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados
8. Frota el dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándote los dedos
9. Frota con un movimiento de rotación el pulgar derecho, atrapándolo con la palma de la mano derecha y viceversa
10. Frota la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa
11. Frota las muñecas
12. Enjuaga las manos con agua
13. Seca tus manos con una toalla desechable
14. Sírrete de la toalla para cerrar la llave del agua y evita tocar la llave o el lavamanos
15. En este momento tus manos están limpias y son seguras



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



**DGE**  
DIRECCIÓN GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA

**INDRE**


INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICA

 [gob.mx/salud](https://www.gob.mx/salud)

Figura 56. Lavado correcto de manos. Secretaría de salud. Fecha de publicación: 15-05-21. Recuperado de: [Documentos de apoyo para el laboratorio | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](https://www.gob.mx/documentos-de-apoyo-para-el-laboratorio)

### 8.5.3 Anexo 3. Secuencia de colocación de Equipo de Protección Personal (EPP)

## SECUENCIA DE COLOCACIÓN DE EPP EN EL LABORATORIO PARA LA TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRA DE PACIENTES SOSPECHOSOS DEL VIRUS **SARS-COV-2 (COVID-19)** Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS




- 

El zapato de seguridad cerrado (rígido y antiderrapante; no tenis).


**COLOCAR EL ZAPATO DE SEGURIDAD CERRADO**
- 

**LAVADO DE MANOS**
- 


Identificar tipo y talla a emplear

**VERIFICAR LA INTEGRIDAD DEL EPP**
- 


Sentado y amarrar por parte trasera

**COLOCAR LOS ZAPATONES**
- 

(Trabaja en binomio)  
Ajustar por detrás a la altura del cuello y la cintura.

**COLOCAR LA BATA QUIRÚRGICA**
- 


Ajustar con cinta micropore al puño de la bata y el guante. Dejar pestaña para el retiro

**COLOCAR PRIMER PAR DE GUANTES**
- 



Previamente cumpla la prueba de ajuste, verifique que esté correctamente colocado

**COLOCAR EL RESPIRADOR**
- 

**COLOCAR LENTES DE SEGURIDAD, GOGGLES O CARETA**
- 

**COLOCAR EL CUBRE CABELLO VERIFICANDO QUE LAS OREJAS QUEDEN POR DENTRO**
- 

**COLOCAR EL SEGUNDO PAR DE GUANTES**



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



**DSE** **INDRE**  
DIRECCIÓN GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA  
INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS

## 8.5.4 Anexo 4. Secuencia de retiro de Equipo de Protección Personal

# SECUENCIA DE RETIRO DE EPP EN EL LABORATORIO **SARS-COV-2 (COVID-19)** Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS

## RECUERDEN RETIRAR EPP DE LO **MÁS** CONTAMINADO A LO **MENOS** CONTAMINADO

- 1



Después de la toma de muestra o antes de salir del CSB Seguir la técnica "Beaking Method"

RETIRAR EL SEGUNDO  
PAR DE GUAITES
- 2



Con el primer par de guantes puestos, desatar los dos cordones traseros que se encuentran a la altura de la cintura



Posteriormente desatar el cordón trasero o la cinta velcro que se encuentra a la altura del cuello

RETIRO DE CINTA MICROPORÉ
- 3



Con la pestaña contemplada en la colocación de EPP, posteriormente sacar manga del guante con cuidado

RETIRO DE BATA QUIRÚRGICA
- 4



Evitar que las manos con el primer par de guantes, tengan contacto con el exterior de la bata desechable y pasar por encima del cuello y de los hombros. Retirar la bata volteándola al revés

RETIRO DEL GORRO QUIRÚRGICO  
O CUBRE CABELLO
- 5



Tomar el gorro quirúrgico o cubre cabello de la parte trasera y se jala hacia adelante para retirarlo

RETIRO DE ZAPATONES
- 6



Evite tocar la parte exterior

RETIRO DEL PRIMER  
PAR DE GUAITES
- 7



Evite tocar su piel con el guante

RETIRO DE LENTES DE SEGURIDAD,  
GOGGLES O CARETA
- 8



Retirar los lentes o careta por la parte de la banda de la cabeza o de las orejas sin tocar la parte delantera. Si las manos se contaminan lavar inmediatamente

RETIRAR MASCARILLA  
QUIRÚRGICA O RESPIRADOR N95
- 9



Sin tocar la parte delantera Si sus manos se contaminan durante la remoción de la máscara / respirador, lavarlas inmediatamente

LAVADO DE MANOS
- 10



Recomendado en el protocolo de bioseguridad y biocustodia para el manejo de pacientes durante la toma de muestra y procesamiento de muestras



SECRETARÍA DE SALUD | DIRECCIÓN GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES | INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLOGICOS

 [gob.mx/salud](https://gob.mx/salud)

Figura 58. Secuencia de retiro de EPP. Fecha de publicación: 15-05-21. Recuperado de: [Documentos de apoyo para el laboratorio | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](#)

## 8.5.5 Anexo 5. Embalaje para el transporte seguro de muestras sospechosas de SARS-CoV-2 y otros virus respiratorios.

# EMBALAJE PARA EL TRANSPORTE SEGURO DE MUESTRAS SOSPECHOSAS DE SARS-COV-2 (COVID-19) Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS

Las muestras de pacientes sospechosos de COVID-19 son clasificadas como **Sustancias Biológicas Categoría B** y deben enviarse al laboratorio estatal y al InDRE garantizando el cumplimiento del **Reglamento Para El Transporte Terrestre de Materiales Y Residuos Peligrosos, DOF-28-11-2006** y el Lineamiento Estandarizado para la Vigilancia Epidemiológica y por laboratorio de la Enfermedad Respiratoria Viral. Abril 2020.

La persona encargada del embalaje y envío de estas muestras debe estar capacitada y contar con los insumos necesarios para el embalaje de muestras **Categoría B**.

## PROCEDIMIENTO DE EMBALAJE

**1** ANTES DE EMPEZAR, REALICE EL LAVADO DE MANOS

**2** ABRA EL EMBALAJE/ ENVASE EXTERNO

**3** SAQUE EL ENVASE SECUNDARIO ASEGURESE DE QUE TENGA UN TAMAÑO ADECUADO PARA CONTENER EL (LOS) TUBO(S) CON LA(S) MUESTRA(S)

**4** ABRA EL ENVASE SECUNDARIO

**5** INTRODUZCA EL MATERIAL ABSORBENTE

**6** PÓNCASE LOS GUANTES

**7** DESINFECTE EL ENVASE PRIMARIO CON ETANOL AL 70%

**8** ENVUELVA EL RECIPIENTE PRIMARIO CON EL MATERIAL AMORTIGUADOR

**9** COLOQUE LA MUESTRA EN EL ENVASE SECUNDARIO

**10** QUITÉSE LOS GUANTES

**11** REALICE EL LAVADO DE MANOS

**12** CIERRE EL EMBALAJE/ENVASE SECUNDARIO

**13** COLOQUE EL CONTENEDOR SECUNDARIO DENTRO DE LA CAJA DE UNICEL, RODEÉLO CON VARIOS GELES REFRIGERANTES CONGELADOS Y CIERRE

**14** COLOQUE LA LISTA CON EL CONTENIDO E INSTRUCCIONES DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO

**15** CIERRE BIEN LA PARTE SUPERIOR DE LA CAJA Y COLOQUE CINTA PARA SELLARLA DE FORMA SEGURA

**16** COMPRUEBE QUE EL EMBALAJE/ENVASE EXTERIOR ESTÁ DEBIDAMENTE MARCADO:

- A. NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL EXPEDIDOR.
- B. NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL DESTINATARIO.
- C. DESIGNACIÓN OFICIAL DE TRANSPORTE:
- D. SUSTANCIAS BIOLÓGICAS CATEGORÍA B. NÚMERO ONU: UN3373.

**17** AL TÉRMINO DEL EMBALAJE Y ANTES DE SALIR DEL LABORATORIO, REALICE EL LAVADO DE MANOS

PARA ACCEDER AL LINEAMIENTO ESTANDARIZADO PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA Y POR LABORATORIO DE LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA VIRAL. ABRIL 2020, CONSULTE LA SIGUIENTE LIGA:  
[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/data/file/546206/Lineamiento\\_estandarizado\\_para\\_la\\_VE\\_y\\_Lab\\_Enfermedad\\_Respiratoria\\_Viral....pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/data/file/546206/Lineamiento_estandarizado_para_la_VE_y_Lab_Enfermedad_Respiratoria_Viral....pdf)

DOCUMENTOS DE APOYO PARA EL LABORATORIO:  
<https://www.gob.mx/salud/documentos/documentos-de-apoyo-para-el-laboratorio?state=published>

Figura 59. Embalaje seguro de muestras sospechosas de SAR-CoV-2 (COVID-19). Fecha de publicación: 15-05-21. Recuperado de: [Documentos de apoyo para el laboratorio | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](https://www.gob.mx/salud/documentos/documentos-de-apoyo-para-el-laboratorio)

8.5.6 Anexo 6. Residuos peligrosos biológico-infecciosos no anatómicos

# MANEJO DE SARS-COV-2 EN EL LABORATORIO

## RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS NO ANATÓMICOS

**SEMARNAT**  
SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

LEY GENERAL PARA LA PREVENCIÓN Y GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RESIDUOS (LGPGR), ART. 42.

**NOM-087-SEMARNAT-SSAI-ZUUZ**

**EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL COMO:**

- ✦ BATA DESECHABLE
- ✦ MASCARILLAS
- ✦ COFIA O CUBRE PELO
- ✦ CARETA DESECHABLE
- ✦ GUANTES

**MATERIAL DESECHABLE COMO:**

- ✦ TUBOS CÓNICOS
- ✦ HISOPOS
- ✦ GASAS PARA MANIPULACIÓN O DESINFECCIÓN

RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS

Basuret

TRANSPORTA RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS



### FASES DE MANEJO INTEGRAL DE RPBI



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



**DGE**  
DIRECCIÓN GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA



**INDRE**  
INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS

[gob.mx/salud](https://www.gob.mx/salud)

Figura 60. Manejo De Residuos Biológico-Infecciosos No Anatómicos. Fecha de publicación: 15-05-21. Recuperado de: [Documentos de apoyo para el laboratorio | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](#)

8.5.7 Anexo 7. Desinfección y limpieza en el laboratorio

# DESINFECCION Y LIMPIEZA EN LABORATORIO

**1 DESINFECCIÓN DE ÁREAS:**  
PREVIO Y POSTERIOR AL TRABAJO

**PLANIFICACIÓN DE ACTIVIDADES**

**¡ANÁLISIS DE RIESGOS!**

DETERMINA SI ES NECESARIO COMENZAR CON UNA DESINFECCIÓN O CON LA LIMPIEZA DE ÁREAS.

DEPENDERÁ DE LA CARGA DE SUCIEDAD DEL ÁREA

MIENTRAS QUE LA LIMPIEZA EXHAUSTIVA DEBERÁ SER PROGRAMADA DE FORMA PERIÓDICA O EN SITUACIONES ESPECIALES, COMO DERRAMES

**2 LIMPIEZA DE ÁREAS:**  
PREVIA AL TRABAJO PARA ELIMINAR SUCIEDAD, MATERIA ORGÁNICA Y MANCHAS

**3 LIMPIEZA EXHAUSTIVA:**  
PROGRAMADA, LIMPIEZA DE TODO EL LABORATORIO (ÁREAS DE TRABAJO, MOBILIARIO Y EQUIPO MÉDICO)

---

### PREPARACIÓN DE DESINFECTANTES

LA OMS RECOMIENDA EL USO DE HIPOCLORITO DE SODIO AL **0.1%** O ETANOL AL **70%**

- ETANOL AL 70%: PARA UN LITRO, AGREGA 730ML DE ETANOL AL 96% A 270ML DE AGUA.
- HIPOCLORITO DE SODIO AL 0.1%: PARA PREPARAR UN LITRO, AGREGA 7.7ML DE HIPOCLORITO AL 13% A 992.3ML DE AGUA.

**NOTA:** PARA PREPARAR MODIFICAR EL VOLUMEN REQUERIDO PUEDES UTILIZAR LA SIGUIENTE FORMULA, CONSIDERANDO LA CONCENTRACIÓN INICIAL DEL REACTIVO Y EL VOLUMEN A PREPARAR:

$$V_2 = \frac{(C_1 \times V_1)}{C_2}$$

**OTROS DESINFECTANTES RECOMENDADOS SON:**

- PERÓXIDO DE HIDROGENO AL 0.5%
- COMPUESTOS CUATERNARIOS DE AMONIO Y COMPUESTOS FENÓLICOS, DEBE SEGUIRSE LAS INDICACIONES DEL FABRICANTE.

### DETERMINACIÓN DEL DESINFECTANTE Y CONCENTRACIÓN IDEAL

**PREPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE DESINFECTANTES**  
EMPLEA EL SISTEMA GLOBALMENTE ARMONIZADO (SGA) Y REQUERIMIENTOS ESPECÍFICOS **NOM-018-STPS-2015**

**CONTROL Y REGISTRO DE LOS DESINFECTANTES**

- ALMACÉNALOS EN CONDICIONES AMBIENTALES ADECUADAS
- REGISTRE LA FECHA DE PREPARACIÓN Y CADUCIDAD

**PARA MÁS INFORMACIÓN:**

- PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD Y BIOCUSTODIA PARA LA TOMA Y MANEJO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE SARS-COV-2. <https://www.gob.mx/salud/documentos/lineamiento-estandarizado-para-la-vigilancia-epidemiologica-y-por-laboratorio-de-la-enfermedad-respiratoria-viral>
- NOM-018-STPS-2015, SISTEMA ARMONIZADO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y COMUNICACIÓN DE PELIGROS Y RIESGOS POR SUSTANCIAS QUÍMICAS PELIGROSAS EN LOS CENTROS DE TRABAJO. <https://www.gob.mx/salud/documentos/normas-oficiales-aplicables-a-los-laboratorios?state=published>

**DOCUMENTOS DE APOYO PARA EL LABORATORIO:**  
<https://www.gob.mx/salud/documentos/documentos-de-apoyo-para-el-laboratorio?state=published>

gob.mx/salud

Figura 61. Desinfección Y Limpieza En El Laboratorio. Fecha de publicación: 15-05-21. Recuperado de: [Documentos de apoyo para el laboratorio | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](https://www.gob.mx/salud/documentos/documentos-de-apoyo-para-el-laboratorio?state=published)



### 8.5.8 Anexo 8. Colocación del respirador de cara completa

Antes de iniciar a colocar el respirador es necesario tener el cabello recogido, no tener accesorios como aretes o collares y si el tiempo de uso será prolongado puede colocar parches o bandas en los puntos de apoyo que tendrá la máscara sobre el rostro (frente, barbilla, nariz y laterales de las mejillas).

#### RESPIRADOR DE CARA COMPLETA LIBUS FEEL SAFE 9955/3M



#### 4.- Forma adecuada de retirar el respirador

Se recomienda tener doble par de guantes y retirar los filtros o cartuchos girando en sentido contrario a las manecillas del reloj. Es importante no mojar los filtros y guardarlos en bolsas de grado médico por separado.

- Retirar el gorro quirúrgico o cofia y el primer par de guantes.
- Levantar los broches de las bandas ajustables inferiores y superiores sujetando el respirador con la mano no dominante y con la otra retirar por completo las bandas de la cabeza de atrás hacia adelante sin tocar la cara.
- rociar el respirador con antiséptico la parte interna y externa, introducir en bolsa transparente, cerrar y retirar el segundo par de guantes.
- Rotular para llevar a CEyE o al laboratorio para su posterior esterilización.

#### 1.- Colocación del respirador

Antes de colocar el respirador se debe recoger el cabello, retirar accesorios, colocar gorro quirúrgico o cofia y si el tiempo de uso será prolongado puede colocar parches o bandas en los puntos de apoyo que tendrá la máscara sobre el rostro (frente, barbilla, nariz y laterales de las mejillas).

- Aflojar las bandas ajustables y colocar el arnés sobre la cabeza de forma que no se obstruya la visibilidad facial, posteriormente se ajustan las bandas inferiores como superiores sin apretar exageradamente para no lesionar la piel.

#### 2.- Revisión del sello

- Una vez que el respirador se ha colocado, se tapa la válvula frontal para después exhalar, se tiene que notar un ligero abultamiento ya que se esta impidiendo la salida de aire.
- Se procede a cubrir las roscas e inhalar, notando que el respirador se pega a la cara.
- Al realizar estas pruebas no debe haber fugas de aire, de lo contrario hay que reajustar el respirador.

#### 3.- Colocación de filtros

Debido a que los filtros se van a encontrar expuestos en todo momento, para realizar la colocación se debe utilizar doble par de guantes como medida de seguridad.

- Posteriormente se alinea la guía de los filtros con la ranura más pequeña del respirador y se girar el filtro o cartucho en sentido de las manecillas del reloj hasta escuchar clic.

Figura 62. Colocación de respirador de cara completa, creado con BioRender.com

### 8.5.9 Anexo 9. Consentimiento para uso de datos del laboratorio molecular del Hospital Regional de Alta Especialidad Ixtapaluca.



HOSPITAL REGIONAL DE ALTA ESPECIALIDAD DE IXTAPALUCA  
DIRECCION DE PLANEACIÓN, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN



#### CARTA DE CONSENTIMIENTO DEL JEFE DIRECTO PARA USO DE DATOS

Ixtapaluca, Estado de México a 12 de noviembre de 2021

#### PRESENTE:

Yo, Mónica Sierra Martínez, como responsable del laboratorio de diagnóstico molecular del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca (HRAEI), manifiesto que estoy de acuerdo con el uso de la base de datos de las pruebas de SARS-CoV-2 que se han realizado en el laboratorio durante el año 2020 y 2021, esto con fines estrictamente académicos. Así mismo confirmo que la información, documentos Y fotografías que se le han proporcionado a la pasante de licenciatura en Bioquímica diagnóstica Susana Bernardo Hernandez, son verídicos y que corresponden al laboratorio de diagnóstico molecular del HRAEI.

Dado lo anterior y por tener la facultad para este permiso, firmo esta carta al tiempo que lo hace el director del área de Planeación, enseñanza e investigación.

#### ATENTAMENTE

Dra. Mónica Sierra Martínez  
Responsable del Laboratorio de  
Diagnóstico Molecular  
Tel: (55) 5972 9800  
Ext. 1083

Gustavo Acosta Altamirano  
Director de planeación, enseñanza e  
investigación  
Tel: (55) 5972 9800  
Ext. 1202

Carretera Federal, México Puebla Km 34.5, Pueblo de Zoquiapan, Municipio de Ixtapaluca,  
Estado de México, C.P. 56530 Tel. 5972 9800 Ext. 1108.

Figura 63. Carta de consentimiento para el uso de datos de las pruebas para detección de SARS-CoV-2. Documentación del laboratorio molecular del HRAEI.

## 9 BIBLIOGRAFÍA

---

- Barakat A., B. C. (11 de Septiembre de 2020). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2: Orientaciones provisionales: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/335830/WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.6-spa.pdf>
- Gestoso, L. G. (14 de Octubre de 2020). *NCBI*. Obtenido de Recomendaciones y uso de los diferentes tipos de test para detección de infección por SARS-COV-2: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7556773/>
- HRAEI, H. R. (2021). *Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19*. Obtenido de [https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro\\_hraei\\_al\\_22\\_oct\\_2020\\_\\_issu](https://issuu.com/liderazgoexperienciamedica/docs/libro_hraei_al_22_oct_2020__issu)
- HRAEI, H. R. (2021). *Estrategias del HRAEI ante el reto de COVID-19*. México : ISBN .
- ISBN, I. N. (2021). *Agencia Nacional ISBN*. Obtenido de <https://www.indautor.gob.mx/documentos/informacion-general/ISBN.pdf>
- Morales C., G. R. (Mayo de 2020). *Toma de muestras nasofaríngeas para diagnóstico de COVID-19*. Obtenido de Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. IDIVAL. : <https://seorl.net/wp-content/uploads/2020/07/Toma-de-muestras-nasofar%C3%ADngeas-para-el-diagn%C3%B3stico-de-COVID-19.pdf>
- OMS. (2005). *Una atención limpia es una atención más segura*. Obtenido de <https://www.who.int/gpsc/5may/5moments-posters/es/>
- OMS, O. M. (17 de octubre de 2020). *IRIS PAHO*. Obtenido de Repositorio Institucional para intercambio de información: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52471>
- Organización Mundial de la Salud, O. (2020). *Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2, Orientaciones provisionales*. Obtenido de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/335830/WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.6-spa.pdf>
- Parks J., P. D. (20 de Agosto de 2020). *The New England Journal of Medicine*. Obtenido de <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMcibr2007042>
- Salazar, A. S. (2013). *Biología Molecular Fundamentos y Aplicaciones en las Ciencias de la Salud*. México: Mc Graw Hill.
- Secretaría de salud. (18 de septiembre de 2014). *Blog, Gobierno del Estado de México*. Obtenido de <https://www.gob.mx/salud/prensa/se-amplian-servicios-del-hospital-regional-de-alta-especialidad-de-ixtapaluca-hraei>
- Secretaría del trabajo y previsión social. (17 de julio de 2017). *Gobierno de México*. Obtenido de Secretaría del Trabajo y Previsión Social, Documentos: <https://www.gob.mx/stps/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-017-stps-2008-equipo-de-proteccion-personal-seleccion-uso-y-manejo-en-los-centros-de-trabajo>
- Tomita N., M. Y. (2008). Amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) de secuencias de genes y detección visual simple de productos. *nature* , 877–882.

Xoconostle B., R. R. (04 de septiembre de 2020). *Conexión Cinvestav*. Obtenido de <https://conexion.cinvestav.mx/Publicaciones/detecci243n-de-covid-19-r225pida-in-situ-por-rt-lamp>