



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"**

**DETECCIÓN RÁPIDA DE SARS-COV-2 MEDIANTE LA PRUEBA
RÁPIDA DE ABBOT PANBIO™ COVID-19 AG EN EL PERSONAL
DE SALUD DEL INER.**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE MEDICO ESPECIALISTA EN:

NEUMOLOGÍA

PRESENTA

DR. JESÚS ARIEL MARISCAL OCHOA

TUTOR Y ASESOR:

DR. EDUARDO BECERRIL VARGAS

Ciudad de México, 19 de octubre de 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.

**SECRETARIA DE SALUD
DIRECCIÓN DE
ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS "ISMAEL COSÍO VILLEGAS"
NEUMOLOGÍA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO FACULTAD
DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ
GARCÍA**
DIRECTOR DE
ENSEÑANZA

**DRA MARIA DEL CARMEN CANO
SALAS**
SUBDIRECTOR DE
ENSEÑANZA

**DRA DAYANNA LORELLY ALVAREZ
MONTER**
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE
POSGRADO

**DR. EDUARDO BECERRIL
VARGAS**
ASESOR Y TUTOR DE TESIS DE TITULACIÓN EN NEUMOLOGÍA
JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA INER

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS:

- A mis padres, Diego Mariscal Beltrán e Imelda Ochoa Pacheco por darme siempre su ejemplo, apoyo y amor incondicional para llevar a cabo mis estudios.
- A mis hermanos, Diego Antonio Mariscal y Juan Manuel Mariscal, por siempre haber confiado en mi y ser un ejemplo a seguir.
- A mi esposa Ibeth Susana, por ser siempre mi apoyo y ser mi más grande pilar en el amor y lo laboral.
- Al Dr. Eduardo Becerril Vargas, por ser un excelente tutor, y una gran persona que con su tiempo y apoyo ha hecho posible este proyecto.
- A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias por ser las instituciones que me dieron la oportunidad de formarme en esta noble especialidad.

¡Gracias!

ÍNDICE

1. Introducción.....	5
2. Planteamiento del problema.....	14
3. Justificación.....	15
4. Hipótesis.....	16
5. Objetivos.....	16
6. Material y métodos.....	17
7. Implicaciones éticas.....	19
8. Resultados.....	19
9. Discusión.....	20
10. Conclusiones.....	20
11. Referencias Bibliográficas.....	21

1. INTRODUCCIÓN

El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) -2, un nuevo coronavirus de ARN, el 31 de diciembre de 2019, se reportó primer caso de neumonía por SARS-CoV-2 en Wuhan, China, desde donde se propagó rápidamente por China¹.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) nombró a la enfermedad por coronavirus 2019 (*Coronavirus disease 2019* o COVID-19) y posteriormente la declaró pandemia el 11 de marzo del 2020 debido a la infectividad generalizada y la alta tasa de contagio^{1,2}. Actualmente, los datos en relación a defunciones por COVID-19, reporta un total de 4 millones de defunciones a nivel mundial y 325 mil defunciones en México con fecha del 11 de agosto de 2021 ⁵.

Se han identificado las composiciones genómicas y proteómicas del SARS-CoV2, pero la respuesta del huésped al virus aún continúa en investigación⁴.

VIROLOGÍA Y PATOGENIA

Los coronavirus (CoV) son subfamilia de la familia Coronaviridae, orden nidovirales, virus de ARN de cadena positiva con el genoma más grande de todos los virus de ARN conocidos (≥ 27 Kb). Fue aislado por primera vez de las secreciones nasales de un niño con un resfriado común en 1965 por Tyrell y Bynoe [11]. Debido a su similitud morfológica con una corona solar bajo un microscopio electrónico (en forma de corona), el virus se denominó coronavirus³.

Los coronavirus tienen cuatro subfamilias que incluyen alfa, beta, gamma y delta. En humanos, las infecciones por CoV se asocian principalmente con enfermedades respiratorias, cuatro de ellos circulan con frecuencia y dos han causado epidemias de enfermedad respiratoria aguda grave: SARS-CoV (betacoronavirus), HCoV-229E, HCoV-NL63 (alfacoronavirus), HCoV-OC43, HCoV-HKU1 y MERS-CoV que surgió en 2012. La partícula del virión del coronavirus es típicamente redonda o de múltiples formas. Mide 120-160 nm de

diámetro e incluye una proyección en forma de pétalo que consta de una proteína triple Spike (S), que es una característica común de los coronavirus. La proteína S media la unión del virus y la fusión de la membrana durante la infección. Además de la proteína S, los genomas de coronavirus generalmente codifican tres proteínas estructurales adicionales, incluida la proteína Membrana (M), la proteína Envelope (E) y la proteína Nucleocapsid (N). La proteína M del coronavirus, de 218 a 263 aminoácidos (aa), tiene un N-terminal modificado por un O- o N-glicano y una cola C-terminal hidrofílica. La proteína E, 74-109 aa, puede participar en la promoción de la virulencia; típicamente hay alrededor de 20 copias de esta proteína por virión. La proteína N del coronavirus, de 349 a 470 aa, es una proteína fosforilada unida al ARN que facilita el plegamiento apropiado del ARN genómico en la nucleocápside⁵.

El SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario (RNA+) con envoltura. El análisis filogenético muestra que es un nuevo miembro de la familia Coronaviridae pero es distinto del SARS-CoV y el MERS-CoV. Las cuatro proteínas estructurales del SARS-CoV-2 incluyen la glicoproteína (S) de la superficie de la espiga, la proteína de envoltura pequeña (E), la proteína de la matriz (M) y la proteína de la nucleocápside (N). En los coronavirus, el gen S codifica la proteína de pico de unión al receptor que permite que el virus infecte las células^{18.4}

El SARS-CoV-2 usa el mismo receptor que el SARS-CoV, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2). La subunidad S1 de un coronavirus se divide además en dos dominios funcionales, un dominio N-terminal y un dominio C-terminal. Los análisis estructurales y bioquímicos identificaron una región de 211 aminoácidos (aminoácidos 319–529) en el dominio C-terminal S1 del SARS-CoV-2 como la proteína de unión. La unión de la proteína SARS-CoV-2 S a su receptor de superficie celular (ECA2), inicia la entrada viral en los neumocitos de tipo II en el pulmón humano. Como tal, la proteína S juega un papel central en la transmisión inicial y la infección en curso del SARS-CoV-2. ^{50.2}.

La ECA2 se distribuye principalmente en las células epiteliales del pulmón y el tracto gastrointestinal. Por tanto, puede producirse una infección grave en tejidos con altos niveles de expresión de ECA2, incluidos pulmón, intestino, riñón y vasos sanguíneos [25] .³

La principal fuente de contagio es la transmisión de aerosol de persona a persona, que se produce principalmente a través de gotitas, manos o superficies contaminadas. Las partículas de virus, que están presentes en las secreciones del sistema respiratorio de una persona infectada, infectan a otras a través del contacto directo con las membranas mucosas [10] con una mediana de período de incubación de entre 2 y 12 días (mediana de 5,1 días) [11].1

La transmisión es posible durante aproximadamente 8 días después de que aparecen los síntomas. Los pacientes pueden seguir mostrando una prueba positiva durante varias semanas después de la remisión de los síntomas; sin embargo, el virus viable no se puede detectar después de aproximadamente 8 días de enfermedad, lo que sugiere que la positividad prolongada de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) probablemente no se correlaciona con la transmisión clínica. [15]1

La alta transmisibilidad del SARS-CoV-2 puede atribuirse a las características virológicas únicas del SARS-CoV-2. La transmisión del SARS-CoV se produjo principalmente después del inicio de la enfermedad y alcanzó su punto máximo después de la gravedad de la enfermedad. Sin embargo, la carga viral del SARS-CoV-2 en las muestras del tracto respiratorio superior ya era más alta durante la primera semana de síntomas y, por lo tanto, el riesgo de diseminación del virus faríngeo era muy alto al comienzo de la infección⁹⁷. Se postuló que las infecciones indocumentadas podrían representar el 80% de los casos documentados debido a la alta transmisibilidad del virus durante la enfermedad leve o el período asintomático^{89.2}

El SARS-CoV-2 se ha detectado a partir de una variedad de fuentes respiratorias, que incluyen hisopos de garganta, saliva orofaríngea posterior, hisopos nasofaríngeos, esputo y líquido bronquial; la carga viral es mayor en las muestras del tracto respiratorio inferior y es mucho menor en hisopo recta o del tracto gastrointestinal^{96.2}

Las muestras nasofaríngeas (NP) son la opción preferida para las pruebas de SARS-CoV-2 basadas en hisopos, seguidas de las muestras orofaríngeas (OP).

Se han registrado cargas virales más altas en la nariz que en la garganta, con cargas virales similares observadas en pacientes asintomáticos y sintomáticos²⁴.4 Puede ser necesario realizar pruebas en tipos de muestras alternativos según el objetivo de la prueba, la variabilidad de la condición del paciente (es decir, intubación) o la necesidad de volver a realizar la prueba después de un resultado negativo.⁶

El ARNm de ECA2 está presente en casi todos los órganos humanos. La ECA2 está presente en las células endoteliales arteriales y venosas y en las células del músculo liso arterial de los pulmones, el estómago, el intestino delgado, el colon, la piel, los ganglios linfáticos, los conductos biliares del hígado, las células epiteliales parietales del riñón y el cerebro. También se expresa en la superficie de las células epiteliales alveolares del pulmón y los enterocitos del intestino delgado que les permite infectarse. Los tejidos del tracto respiratorio superior (es decir, la mucosa oral y nasal y la nasofaringe) no mostraron expresión superficial de ECA2 en las células epiteliales y, por lo tanto, es poco probable que sean el sitio primario de infección por SARS-CoV-2 ²².4

El tejido pulmonar es el principal afectado con cambios patológicos que incluyen hiperplasia de neumocitos tipo II, daño de las células epiteliales alveolares, formación de la membrana hialina y daño alveolar difuso [29]. La microangiopatía trombótica, la acumulación significativa de células mononucleares CD4 + alrededor de los vasos trombóticos pequeños y la hemorragia notable parecen ser causas importantes de muerte en estos individuos. Los megacariocitos locales activados en el pulmón, la agregación plaquetaria, el depósito de fibrina y la formación de coágulos están involucrados en el proceso mencionado [30] .3

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

La presentación clínica de COVID-19 comienza dentro de los 14 días posteriores a la exposición; sin embargo, en la mayoría de los casos, los síntomas se presentan después de aproximadamente 5 días y el inicio de los síntomas es dentro de los 11,5 días en el 97,5% de los individuos, generalmente en los

primeros días de la enfermedad suele presentarse principalmente replicación viral, mientras en días posteriores suele predominar la fase inflamatoria [11] .1

La evidencia actual indica que los principales factores de riesgo de resultados desfavorables incluyen la edad, la cardiopatía isquémica, la hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus, inmunodeprimidos, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad pulmonar intersticial, asma y cáncer de pulmón [42] 1.

Parece que todas las edades de la población son susceptibles a la infección por SARS-CoV-2, y la edad media de infección es de alrededor de 50 años 9,13,60,80,81. Sin embargo, las manifestaciones clínicas difieren con la edad. En general, los hombres mayores (> 60 años) con comorbilidades tienen más probabilidades de desarrollar una enfermedad respiratoria grave que requiera hospitalización.

Los síntomas más comunes son fiebre, fatiga y tos seca 13,60,80,81. Los síntomas menos comunes incluyen producción de dolor de cabeza, hemoptisis, diarrea, anorexia, dolor de garganta, dolor en el pecho, escalofríos y náuseas y vómitos en estudios de pacientes en China 13,60,80,81.2

Los hombres mayores de 60 años tenían un mayor riesgo de insuficiencia respiratoria, lesión cardíaca aguda e insuficiencia cardíaca que provocó la muerte, independientemente de los antecedentes de enfermedad cardiovascular⁸⁶. La mayoría de los pacientes se recuperaron lo suficiente como para ser dados de alta del hospital en 2 semanas 9,80.2

La tomografía computarizada de tórax de los pacientes infectados suele mostrar lesiones bilaterales de opacidad en vidrio deslustrado en los pulmones posterior y periférico que se informan como características de la neumonía por 2019-nCoV [28] .3 y consolidaciones de los pulmones (líquido o material sólido en tejido pulmonar compresible) 50,51.4.

Bernheim y col. observaron hallazgos de TC normales más frecuentes (56%) en las primeras etapas de la enfermedad (0 a 2 días) 50 con un máximo de

compromiso pulmonar que alcanzó su punto máximo alrededor de 10 días después del inicio de los síntomas.^{51, 4}

Con base en estas características de imagen, varios estudios retrospectivos han demostrado que las tomografías computarizadas tienen una mayor sensibilidad (86-98%) y mejores tasas de falsos negativos en comparación con la RT-PCR.^{3,25,53,54} La principal advertencia de usar la TC para COVID -19 es que la especificidad es baja (25%) porque las características de imagen se superponen con otras neumonías de origen viral.

Dentro del diagnóstico complementario también se integran los síntomas, antecedentes epidemiológicos y tomografía computarizada de tórax, dadas las preocupaciones sobre la sensibilidad y disponibilidad de la prueba de ácido nucleico. Este procedimiento diagnóstico, que no implica evidencia virológica directa, es una medida provisional eficaz que puede utilizarse para identificar casos potenciales en el menor tiempo posible en una zona con una alta concentración de casos. Sin embargo, esta metodología conducirá inevitablemente a un diagnóstico erróneo.

DIAGNÓSTICO

Cultivo viral

El cultivo viral de SARS-CoV-2 debe realizarse en un entorno de bioseguridad Instalación de nivel 3. El cultivo celular es muy útil para el aislamiento y caracterización de virus; pero básicamente no se recomienda el aislamiento en cultivo celular para virus con fines de diagnóstico.¹⁴

Pruebas moleculares

Las técnicas moleculares son más adecuadas que las pruebas sindrómicas y tomografías computarizadas para diagnósticos precisos porque pueden apuntar e identificar patógenos específicos. Se obtiene mejor diagnóstico mediante técnicas moleculares, una técnica rápida y de utilidad para detectar coronavirus en muestras nasofaríngeas incluyen la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y los ensayos de detección de antígenos por inmunofluorescencia (31)(32).

La RT-PCR implica la transcripción inversa del ARN del SARS-CoV-2 en cadenas de ADN complementario (ADNc), seguida de la amplificación de regiones específicas del ADNc.^{33,34} El proceso de diseño generalmente implica dos pasos principales: (1) alineación de secuencia y diseño de cebadores y (2) optimización y pruebas de ensayos.⁴

La RT-PCR se puede realizar en un ensayo de un paso o de dos pasos. En un ensayo de un solo paso, la transcripción inversa y la amplificación por PCR se consolidan en una reacción. Este formato de ensayo puede proporcionar resultados rápidos y reproducibles para análisis de alto rendimiento. El desafío es la dificultad de optimizar los pasos de transcripción inversa y amplificación cuando ocurren simultáneamente, lo que conduce a una menor generación de amplicones objetivo. En el ensayo de dos pasos, la reacción se realiza secuencialmente en tubos separados³⁶. Este formato de ensayo es más sensible que el ensayo de un paso, pero consume más tiempo y requiere optimizar parámetros adicionales^{36,37}.⁴

Entre los genomas virales relacionados con el SARS, descubrieron tres regiones que

tenía secuencias conservadas: (1) el gen RdRP (gen de la ARN polimerasa dependiente de ARN) en el marco de lectura abierto región ORF1ab, (2) el gen E (gen de la proteína de la envoltura) y (3) el gen N (gen de la proteína de la nucleocápside). Tanto los genes RdRP como E tenían una alta sensibilidad analítica para la detección (límite técnico de detección de 3,6 y 3,9 copias por reacción), mientras que el gen N proporcionaba una sensibilidad analítica más pobre (8,3 copias por reacción).

Dada la variabilidad en las cargas virales, un resultado negativo de la prueba de las muestras respiratorias no descarta la enfermedad. Estos negativos podrían resultar de técnicas de muestreo inadecuadas, baja carga viral en el área muestreada o mutaciones en el genoma viral.^{3,43.4}

Pruebas serológicas

Los cambios en la carga viral durante el curso de la infección pueden dificultar la detección de proteínas virales. Por el contrario, los anticuerpos generados en respuesta a las proteínas virales pueden proporcionar una ventana de tiempo más amplia para detectar indirectamente el SARS-CoV-2. Las pruebas de anticuerpos pueden ser particularmente útiles para la vigilancia de COVID-19. Un desafío potencial con el desarrollo de pruebas serológicas precisas incluye la posible reactividad cruzada de los anticuerpos del SARS-CoV-2 con los anticuerpos generados contra otros coronavirus.

Actualmente, las pruebas serológicas (es decir, análisis de sangre para anticuerpos) están en desarrollo. Se ha detectado con inmunoglobulina G y M (IgG e IgM) de suero humano de pacientes con COVID-19 que usan un inmunoabsorbente ligado a enzimas ensayo (ELISA).⁷⁵

Pruebas de detección de antígeno

Se han realizado grandes esfuerzos para desarrollar pruebas para la detección rápida de antígenos del SARS-CoV-2. Las pruebas de detección de antígenos están diseñadas para detectar directamente partículas virales en muestras biológicas como secreciones nasofaríngeas. Se han propuesto varias pruebas rápidas de antígenos, sin embargo, las principales preocupaciones son la tasa de falsos negativos debido a una carga viral baja o variable, y la variabilidad en el muestreo, esta última tiene el potencial de agravar aún más el problema en casos con títulos virales bajos, aumentando así la tasa de falsos negativos (Tang YW et al., 2020).¹¹

Pruebas de detección rápida de antígenos del SARS CoV-2, que son principalmente ensayos gráficos inmunocromáticos de flujo lateral basados en la presencia de una almohadilla conjugada de oro coloidal y una tira de membrana pre-revestida con anticuerpos específicos contra los antígenos del SARS-CoV-2 en una línea de prueba. Si hay antígenos del SARS-CoV-2 presentes en la muestra extraída de un hisopo nasofaríngeo, aparece una banda visible en la línea de prueba como conjugado de formas complejas oro anticuerpo-antígeno-anticuerpo. Sin embargo, la evaluación de estas pruebas de diagnóstico ha sido limitada.¹¹

Aunque varias autoridades sanitarias están registrando pruebas de antígenos directos, la sensibilidad de estas pruebas es menor que la de la RT-PCR. A pesar de estas limitaciones, las principales ventajas de las pruebas de antígenos, incluida su rapidez (10 a 30 minutos en comparación con las horas de las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos), la facilidad de interpretación y las habilidades técnicas e infraestructura limitadas necesarias en comparación con las pruebas basadas en ácidos nucleicos, lo por lo que puede conferir cierta importancia el realizarlas y estudiarlas. ¹¹

Por lo tanto, las pruebas rápidas de antígeno pueden disminuir la carga de trabajo en hospitales y laboratorios de diagnóstico y mejorar el tiempo de respuesta. Sin embargo, en la actualidad no están recomendadas para el diagnóstico clínico y la OMS recomienda la evaluación de las mismas¹⁴. ⁴

El diagnóstico oportuno mediante la amplificación del ácido nucleico en muestras del tracto respiratorio continúa siendo, ante la ausencia de medicamentos o vacunas específicas para la nueva enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), la medida más efectiva terapéutica para reducir el riesgo de transmisión de SARS-CoV-2, debido a que permite facilitar el uso apropiado de equipos de protección personal y el aislamiento del paciente.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El papel de la transmisión nosocomial del SARS-CoV-2 es reconocida actualmente y representa del 12 al 29% de los casos en algunos informes (Wang et al., 2020), En México, un análisis reciente de datos recopilados por el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica en la Ciudad de México, para 5 de julio de 2020, informó que 35,095 TS fueron examinados para SARS-CoV-2, de los cuales 11,226 (31.9%) fueron positivos y la letalidad ocurrió en 226 (2.01 %) casos (13), otros autores han reportado una mayor gravedad y letalidad de la transmisión nosocomial. Para el INER, la protección de los trabajadores de la salud frente a la adquisición de COVID-19 ha sido primordial y el 1 de marzo de 2020 el INER implementó políticas enfocadas a la atención de trabajadores, dentro de las cuales se incluyó la toma de muestras para trabajadores sintomáticos y contactos. Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) aboga por la realización de pruebas generalizadas para el SARS-CoV-2. Desde inicio de la pandemia se reconoce el papel crucial del diagnóstico oportuno para cortar la cadena de transmisión del SARS-CoV-2 y para el manejo clínico de COVID-19. La RT-qPCR es el método de laboratorio recomendado actualmente para diagnosticar la infección aguda por SARS-CoV-2, varios factores, como preparación de soluciones de trabajo, extracción y transferencia del ácido nucleico al dispositivo de amplificación, y tener personal capacitado, limitan el uso de estos métodos que consumen mucho tiempo. Adicional a esto la propagación mundial del virus también provocó importantes complicaciones para los laboratorios de diagnóstico, en parte por un acceso insuficiente a los reactivos e incluso a los plásticos proporcionados por las empresas de diagnóstico durante el 2020. La pandemia de SARS-CoV-2 ha sido y sigue siendo un desafío para el mundo, situaciones que motivaron a la creación y comercialización de pruebas rápidas, las cuales ha demostrado un rendimiento variable.

3. JUSTIFICACIÓN

Con la finalidad de estar alineado a la recomendación de la OMS sobre el uso generalizado de las pruebas debido a la importancia de la detección de casos sintomático y asintomático, en el INER fue implementado un módulo para la toma de pruebas al personal de la salud del INER. Si bien, el RT-PCR para SARS-CoV-2 es la única prueba diagnóstica de laboratorio autorizada y recomendada para confirmar el diagnóstico; sin embargo, para realizar esta técnica, son necesarios numerosos pasos de trabajo manual, lo que demora 6 a 8 horas la obtención de un resultado, motivo por los cuales se han desarrollado pruebas rápidas que detectan antígenos, por la facilidad para la obtención de un resultado. Posterior a la aprobación por instancias nacionales e internacionales, se ha generalizado el uso, sin embargo, la tasa de positividad reportada es de 50 a 90% y al momento de implementar el uso en el INER, no existía evidencia para la detección de casos asintomáticos.

RT-PCR	Abbott Panbio™ COVID-19 Ag	
Tipo de muestras	Nasal, nasofaríngeo, saliva, aspirado bronquial, LBA.	Nasal, nasofaríngeo.
Tiempo	4 horas	5 minutos
Infraestructura	Extracción de RNA (equipo y reactivos) Amplificación de cebadores, sondas y plásmidos en un termociclador 7500 Real Time PCR. Sistema de detección.	No es necesario equipo para el procesamiento. Prueba realizada en el sitio de atención.
Fundamento	Prueba para la detección cualitativa de ácidos nucleicos del virus SARS-CoV-2.	Ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral. Detecta de manera cualitativa el antígeno SARS-CoV-2. La prueba contiene una almohadilla conjugada de oro coloidal y

		una tira de membrana recubierta previamente con anticuerpos específicos para el antígeno SARS-CoV-2 en las líneas de prueba (T)
Limité de detección	1000 cp/ml	NA
Genes detectados	Amplificación de el Gen E y RdRp	Detección de antígenos específicos SARS-CoV-2
Tipo de resultado	Cualitativa	Cuantitativa
Precios	\$1050	\$500

4. HIPÓTESIS

La sensibilidad de la prueba ABBOTT PANBIO™ COVID-19 Ag para la detección de SARS-CoV-2 será mayor del 80% en el personal de salud del INER.

5. OBJETIVOS

- GENERAL

- Comparar el rendimiento de la prueba ABBOTT PANBIO™ COVID-19 Ag con el de la reacción en cadena de polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR).

- ESPECIFICOS

- Conocer la sensibilidad y especificidad de la prueba Ag ABBOTT PANBIO™ COVID-19.
- Conocer la utilidad de las pruebas de detección de antígenos en el diagnóstico de del personal de salud sintomatico del INER.

6. MATERIAL Y METODOS:

a) Estudio observacional, longitudinal y prospectivo.

b) Lugar del estudio. Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias, Departamento de Microbiología Clínica.

c) Descripción de la población de estudio. Se incluyeron a todos los trabajadores de la salud sintomáticos del INER, que han acudido al módulo de pruebas y a los cuales se les realizó una prueba rápida Ag ABBOTT PANBIO™ y un RT-PCR, en el periodo comprendido de septiembre 2020 a octubre del 2020.

d)

e) Procedimiento del estudio.

Se revisará y obtendrán los resultados de las pruebas rápidas de detección de antígeno (RAD). Y de la RT-qPCR realizadas al personal de la salud. Con la información obtenida se realizará una base de datos para posteriormente realizar el análisis estadístico.

Técnica de RT-qPCR convencional

Extracción de RNA. Se extraerá RNA a partir de 200 µl del medio de transporte universal de las muestras de exudado orofaríngeo/nasofaríngeo, la extracción se hará de forma automatizada en el equipo BIONEER Exiprep 96, empleando el kit de extracción ExipPrep 96 Viral DNA/RNA de la marca BIONEER (Ref. K-4614), siguiendo las especificaciones del fabricante.

RT-PCR. Para el ensayo de amplificación de RNA viral, se empleará el kit de PCR en tiempo real GeneFinder™ COVID-19 Plus RealAmp, marca GeneFinder (Ref. IFMR-45), el cual amplifica el RNA de los genes RdRP, N y E. Mca. GeneFinder. Para este proceso se seguirán las especificaciones del fabricante, la mezcla de reacción se realizará partiendo de 10 µL del tubo de mezcla de reacción

y 5 µL del tubo con la mezcla de sondas, finalmente se adicionará 5 µL del extracto de ácidos nucleicos por cada muestra, para tener un volumen final de 20 µL. La RT-qPCR se ejecutará en un termociclador Quant Studio 5 (Applied Biosystems) bajo las siguientes condiciones de amplificación: 50°C/20 min, 95°C/5min, seguido de 45 ciclos de 95°C/15 seg y 58°C/60 seg.

ABBOT PANBIO™ COVID-19 Ag.

La prueba será realizada con base a las especificaciones del fabricante.

f) Número necesario de sujetos de investigación.

Para el cálculo de tamaño de muestra se realizó con la fórmula para comparar la sensibilidad entre dos pruebas diagnósticas:

$$n = \frac{\left[Z_{\frac{\alpha}{2}} \sqrt{2 \times \bar{P}(1 - \bar{P})} + Z_{\beta} \sqrt{P_1(1 - P_1) + P_2(1 - P_2)} \right]^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

El tamaño de la muestra necesitaría tener un 95% de confianza y un 80% de potencia para detectar una diferencia del 10% fue de 293.

g) Criterios de estudio

Criterios de inclusión:

- Se incluyeron a las personas, trabajadores del INER, que cuenten con un resultado de prueba rápida y PCR para detección de SARS-CoV-2.

Criterios de exclusión:

- Se excluyeron a los pacientes que no cuenten con las dos pruebas realizadas el mismo día.

h) Procesamiento, presentación y análisis estadístico

- Se calculó la sensibilidad y especificidad comparando los resultados positivos y negativos por ambos métodos.
- Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SPSS 27.

7. IMPLICACIONES ÉTICAS

El estudio no interfiere con el abordaje diagnóstico, ni terapéutico de los pacientes con diagnóstico de Infección por COVID-19. El estudio fue sometido para su evaluación y aprobado por el comité de bioética e investigación clínica del INER.

8. RESULTADOS

Se incluyeron 225 trabajadores a los cuales se les realizó toma de muestra y fueron procesadas para PCR-RT y prueba de detección de antígenos rápida para SARS-CoV-2.

La edad promedio fue de 41 ± 10.59 años. Se observó un mayor número de casos en hombres, 66% de la población del estudio fueron hombres y 34% mujeres.

Entre las 225 muestras, 14 muestras correspondiente a un 5.6% fueron positivas por PCR-RT y el resto fueron negativas para SARS-CoV-2 usando la prueba Ag ABBOT PANBIO COVID-19 para SARS-CoV-2.

Para la detección de SARS-CoV-2 la sensibilidad por medio de la prueba de detección de antígenos rápida fue del 56% y la especificidad encontrada fue del 100% (Tabla 1).

Tabla 1.

Resultado de PANBIO	Resultado manual de PCR en tiempo real		Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP ^a (%)	VPN ^a (%)
	No. positivo	No. negativo				
No. positivo	14	0	56	100	100	95
No. negativo	11	230				

9. DISCUSIÓN

Las limitaciones del estudio son que no se tiene un control exacto de la temporalidad de exposición a contacto con COVID-19, además, de que las muestras realizadas por personal de la salud se tomaron en base a instrucciones de la prueba sin embargo eso convierte en el proceso en operador dependiente en su toma y preparación de dicha muestra.

10. CONCLUSIONES

En un entorno clínico, no es recomendable la aplicación preferente de tales pruebas por sí solas sobre un método molecular. Se debe considerar el equilibrio entre el costo, el tiempo de respuesta, la facilidad de ejecución y la sensibilidad al utilizar una prueba basada en antígenos en conjunto con las características clínicas de los pacientes.

11.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **UTILIZAR LAS HOJAS NECESARIAS**

1. V.M. Corman, O. Landt, M. Kaiser, R. Molenkamp, A. Meijer, D.K. Chu, *et al.* **Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR** Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = Eur. Commun. Dis. Bull. (2020), p. 25
2. T.G. Ksiazek, D. Erdman, C.S. Goldsmith, S.R. Zaki, T. Peret, S. Emery, *et al.* **A novel coronavirus associated with severe acute respiratory síndrome.** N. Engl. J. Med., 348 (2003), pp. 1953-1966
3. W.J. Wiersinga, A. Rhodes, A.C. Cheng, S.J. Peacock, H.C. Prescott **Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review** JAMA, 324 (2020), pp. 782-793
4. [Chunqin Long](#), [Huaxiang Xu](#), [Qinglin Shen](#), [Xianghai Zhang](#), [Bing Fan](#), [Chuanhong Wang](#), [Bingliang Zeng](#), [Zicong Li](#), [Xiaofen Li](#), and [Honglu Li](#). **Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT?**. [Eur J Radiol](#). 2020 Mar 25
5. Lee TH, Lin RJ, Lin RTP, Barkham T, Rao P, Leo YS, Lye DC, Young B . 19 April 2020. Testing for SARS-CoV-2: can we stop at two? Clin Infect Dis doi:10.1093/cid/ciaa459
6. Gandhi RT, Lynch JB, Del Rio C. 24 April 2020. Mild or moderate COVID. N Eng Med.
7. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-diagnostics/>
8. Hendrik Gremmelsa,1 , Beatrice M.F. Winkela,1 , Rob Schuurmana , Andert Rosinghb , Nicolette A.M. Rigterc , Olga Rodriguezd , Johan Ubijaanb , Annemarie M.J. Wensinga , Marc J.M. Bontena , L.Marije Hofstra. **Real-life validation of the Panbio™ COVID-19 antigen rapid test (Abbott) in community-dwelling subjects with symptoms of potential SARS-CoV-2 infection.** [EClinicalMedicine](#) [Volume 31](#), January 2021, 100677