

García Martínez, Débora Magalí

Análisis epidemiológico en muestras derivadas a un centro de testeo de SARS-CoV-2 durante la pandemia de COVID-19

2021

Instituto: Ciencias de la Salud

Carrera: Bioquímica



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.
Atribución 4.0
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Documento descargado de RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital de la Universidad Nacional Arturo Jauretche

Cita recomendada:

García Martínez, D.M. (2021) *Análisis epidemiológico en muestras derivadas a un centro de testeo de SARS-CoV-2 durante la pandemia de COVID-19* [tesis de grado Universidad Nacional Arturo Jauretche] Disponible en RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital UNAJ <https://biblioteca.unaj.edu.ar/rid-unaj-repositorio-institucional-digital-unaj>

Análisis epidemiológico en muestras derivadas a un centro de testeo de SARS-CoV-2 durante la pandemia de COVID-19.



Alumno: García Martínez, Débora Magalí.

Director: Zubieta, Martín.

Codirectora: Rahhal, Marilina.

Mail: debbygcai@gmail.com

Lugar de trabajo: Centro de Excelencia en Medicina Traslacional del
Hospital de Alta complejidad en Red El Cruce Dr. Néstor C. Kirchner
SAMIC

Fecha de entrega: 05/04/2021

Instituto de Ciencias de la salud
Carrera: Bioquímica



Índice

• Agradecimientos.....	3
• Abreviaturas.....	4
• Resumen.....	6
• Introducción e importancia del tema	
1.Epidemiología.....	8
2.Características de SARS CoV 2.....	10
3.Ciclo de replicación viral.....	11
4.Patogenia.....	13
5.Enfermedad.....	15
6. Diagnóstico de laboratorio.....	19
• Objetivos.....	27
• Materiales y métodos.....	28
• Resultados.....	37
• Discusión.....	47
• Conclusión.....	50
• Bibliografía.....	52
• Anexos.....	56

Agradecimientos

Quiero agradecer a todas las personas que me dieron la oportunidad de cumplir el sueño de recibirme y ser la primera generación universitaria en mi familia.

Dar las gracias a la UNAJ que me abrió las puertas como segunda casa y además me permitió conocer gente realmente maravillosa. A la mayoría de los profesores, que se sumaron al desafío de formarnos como futuros profesionales y de los cuales no solo aprendí conceptos relacionados a la Bioquímica, sino también muchos valores.

A mis compañeros, en especial a Pilar, que siempre estuvo a mi lado para apoyarme. Horas y horas estudiando y compartiendo momentos en esta etapa.

A mi director, el Dr. Martín Zubieta, el cual desde un primer momento no dudó en brindarme su ayuda y conocimientos para que pueda lograr recibirme estando en una situación de pandemia. A mi codirectora la Dra. Marilina Rahhal y al Dr. Enrique Martins, los cuales me brindaron su sabiduría y su tiempo para enriquecer este trabajo.

Agradecer infinitamente a mi familia, a mi papá Juan Carlos y a mi mamá Sandra, los cuales siempre me apoyaron en el estudio y me dieron apoyo moral y económico para que pueda llevar a cabo mi deseo.

A mi novio, Matías, que siempre me acompañó y motivó para que siga estudiando a pesar de los obstáculos.

A mis mascotas, que algunas ya no están, pero me han acompañado tardes y noches estudiando.

A mis compañeros de trabajo, algunos de los cuales fueron parte de este trabajo y me dieron ánimo para lograrlo.

Por último, a mis abuelos, algunos me miran desde el cielo, pero sé que se sienten muy orgullosos de mí en este momento.

“Nada en la vida debe temerse, solo debe ser entendida. Ahora es el momento de comprender más, para que podamos temer menos.”

Marie Curie.

Abreviaturas

- ACE II:** Enzima Convertidora de Angiotensina II.
- AMBA:** Área Metropolitana de Buenos Aires.
- ARA II:** Antagonistas de los receptores de Angiotensina II.
- ARN:** Ácido ribonucleico.
- ASPO:** Aislamiento Social, Preventivo y Obligatorio.
- CSB II:** Cabina de seguridad biológica tipo II
- CEMET:** Centro de Excelencia en Medicina Traslacional.
- CID:** Coagulación Intravascular Diseminada.
- COVID-19:** Enfermedad por Coronavirus 19.
- Ct:** Cycle Threshold.
- ECA II:** Enzima Convertidora de Angiotensina 2.
- ELISA:** Enzyme Linked ImmunoSorbent Essay.
- ERGIC:** Compartimento Intermedio Retículo Endoplasmático-Golgi.
- EPOC:** Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
- FN:** Falsos Negativos.
- FP:** Falsos Positivos.
- GAPDH:** Gliceraldehido-3-Fosfato Deshidrogenasa.
- GCSF:** Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos.
- HEC:** Hospital de Alta complejidad en Red El Cruce Dr. Néstor C. Kirchner SAMIC.
- HGF:** Factor de Crecimiento de Hepatocitos.
- HTA:** Hipertensión arterial.
- IECA:** Inhibidor de la Enzima Convertidora de Angiotensina.
- IFN- γ :** Interferón gamma.
- IgG:** Inmunoglobulina G.
- IgM:** Inmunoglobulina M.
- I-L:** Interleuquina.
- LAMP:** Amplificación Isotérmica Mediada por Bucle.
- LR:** Likelihood Ratio.
- MERS CoV:** Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio.
- MSCF:** Factor Estimulante de Colonias de Macrófagos.
- OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- RIC:** Rango intercuartil

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa.

SAME: Sistema de Atención Médica de Emergencia.

SARS CoV 1: Síndrome Respiratorio Agudo Grave-1.

SARS CoV 2: Síndrome Respiratorio Agudo Grave-2.

SISA: Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino.

TNF: Factor de Necrosis Tumoral.

UPA: Unidad de Atención Primaria.

VN: Verdadero Negativo.

VP: Verdadero Positivo.

VPN: Valor Predictivo Negativo.

VPP: Valor Predictivo Positivo.

Resumen

La pandemia por el coronavirus de tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) responsable de la enfermedad COVID-19 es un tema preocupante a nivel mundial en diferentes aspectos tales como la salud, la economía, la política y la educación regional. El 11 de marzo del 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la situación de pandemia y en nuestro país a partir del 20 de marzo se instauró el Aislamiento Social, Preventivo y Obligatorio (ASPO). Este varió en fases de acuerdo a la frecuencia de contagios en las distintas regiones del país. El Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) está compuesta por barrios de la Ciudad de Buenos Aires y del Gran Buenos Aires, caracterizándose por ser la concentración urbana de mayor densidad del país y la zona más afectada en nuestro país ya que registra la mayor cantidad de casos y muertes. El sistema de salud pudo dar respuesta sin llegar al colapso sanitario como ocurrió en otras partes del mundo. En este trabajo epidemiológico, transversal y retrospectivo se analizaron epidemiológicamente los resultados obtenidos desde agosto a diciembre de 2020 de pacientes sospechosos de COVID 19. Se utilizó para el mismo, un método molecular sensible, específico y rápido en el diagnóstico de COVID-19 como es la amplificación isotérmica, y se evaluaron sus fortalezas y limitaciones.

El trabajo se realizó en el Centro de Excelencia en Medicina Traslacional (CEMET), perteneciente al Hospital de Alta complejidad en Red El Cruce Dr. Néstor C. Kirchner SAMIC (HEC). Se utilizó como población de análisis pacientes derivados de distintos centros de la región epidemiológica VI de la Provincia de Buenos Aires.

Se analizaron 10.175 muestras pertenecientes a hisopados combinados (orofaríngeo y nasofaríngeo), esputos y aspirados bronco alveolares, de las cuales el 29,84% resultaron positivas. El pico de casos positivos ocurrió en agosto y el centro con mayor positividad fue el UPA11. La distribución por sexo fue homogénea y el rango etario con más casos positivos fue el comprendido entre los 30 y 39 años.

Entre los síntomas más frecuentes se encontraron anosmia, disgeusia, fiebre y odinofagia. La presencia de varias comorbilidades incrementó la chance de fallecimiento de los contagiados, como también su edad avanzada y el desarrollo de neumonía.

Dentro de las fortalezas del método de amplificación isotérmica Atila utilizado se encuentran una entrega rápida de resultados confiables y poca experticia en el manejo del laboratorio de biología molecular al no requerir extracción del ARN viral. Una de las ventajas de no realizar

extracción manual es que se evitan las posibles contaminaciones en todos sus pasos. Sin embargo, dentro de las limitaciones del método se encuentra que es menos sensible que la RT-PCR (método de referencia). Cuando se evaluó este método en muestras de saliva no arrojó resultados favorables ya que es muy dependiente de un buen manejo de la etapa preanalítica, siendo clave, la correcta toma de las mismas.

A pesar de ser un método cualitativo, se pudo apreciar que las muestras de pacientes sintomáticos positivos para COVID-19 presentaron un menor Ct que aquellas muestras de pacientes positivos asintomáticos, estimando indirectamente que la carga viral para estos últimos fue menor.

Introducción e importancia del tema

1.Epidemiología

El 31 de diciembre de 2019, la Comisión Municipal de Salud y Sanidad de Wuhan (China) informó sobre un grupo de 27 casos de neumonía de etiología desconocida, con una exposición común a un mercado mayorista de mariscos, pescados y animales vivos en la ciudad de Wuhan, incluyendo siete casos graves. El inicio de los síntomas del primer caso fue el 8 de diciembre de 2019. El 7 de enero de 2020, las autoridades chinas identificaron como agente causante del brote un nuevo tipo de virus de la familia *Coronaviridae* que posteriormente ha sido denominado SARS-CoV-2, cuya secuencia genética fue compartida por las autoridades chinas el 12 de enero. Este virus es el responsable de la enfermedad COVID-19. El día 11 de marzo, la OMS declaró la pandemia mundial.



Imagen 1. Cronología de sucesos hasta la declaración de pandemia por parte de la OMS.

(Fuente:https://www.paho.org/arg/index.php?option=com_docman&view=download&alias=526-actualizacion-covid-19-10-agosto-2020&category_slug=actualizaciones &Itemid=624)

Desde ese momento hasta la fecha en la cual se culminó este trabajo se han registrado en el mundo 81.538.835 contagios y 1.815.764 fallecidos. En Argentina, 1.613.928 contagios y 43.163 muertes.¹

Situación regional

Distribución geográfica del brote de la enfermedad por el Coronavirus (COVID-19) en las Américas, 02-08-20



REGIONAL
Casos confirmados
 9.630.598
Muertes
 363.162
Países
 54

País	Casos	Muertes	Tasa cruda de letalidad
EEUU	4.582.276	153.757	3,4%
Brasil	2.707.877	93.563	3,5%
México	434.193	47.472	10,9%
Perú	422.183	19.408	4,6%
Chile	359.731	9.608	2,7%
Colombia	306.181	10.330	3,4%
Argentina	196.543	3.612	1,8%
Canadá	116.599	8.941	7,7%
Ecuador	86.232	5.736	6,7%
Bolivia	78.793	3.064	3,9%
R. Dominicana	72.243	1.178	1,6%

<https://www.paho.org/en/covid-19-global-and-regional-daily-update>

- La tasa cruda de letalidad en la región es del 4 %.
- EEUU aporta el 48% de los casos y el 42% de las muertes. Brasil representa el 28% de casos y el 26 % de muertes.
- 25 países reportan transmisión comunitaria.

Situación regional

Distribución geográfica del brote de la enfermedad por el Coronavirus (COVID-19) en las Américas, 10-01-21



Casos confirmados
 39.242.554
Muertes
 917.383

País	Casos	Muertes	Tasa cruda de letalidad
EEUU	22.009.275	369.304	2%
Brasil	8.075.998	202.631	3%
Colombia	1.771.363	45.784	3%
Argentina	1.714.409	44.417	3%
México	1.524.036	133.204	9%
Perú	1.032.275	38.213	4%
Canadá	652.473	16.833	3%
Chile	641.923	17.096	3%
Panamá	276.772	4.410	2%
Ecuador	221.070	14.177	6%
Rep. Dominicana	182.103	2.427	1%

<https://www.paho.org/en/covid-19-global-and-regional-daily-update>

- 34 países reportan transmisión comunitaria.

Imagen 2. Situación regional al comienzo y al final de este trabajo.

(Fuente:<https://covid19.who.int/>)

2. Características de SARS-CoV-2

Los coronavirus son una familia de virus que causan infección en los seres humanos y en una variedad de animales, incluyendo aves y mamíferos. Se trata de una enfermedad zoonótica, lo que significa que pueden transmitirse de los animales a los humanos.

Los tres coronavirus que afectan al humano y que tienen elevada patogenicidad son: Síndrome Respiratorio Agudo Grave-1 (SARS-CoV-1), Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y SARS-CoV-2.

Este último pertenece a la familia de los β -coronavirus, los cuales son virus constituidos por ácido ribonucleico (ARN) de cadena simple, polaridad positiva, envueltos, no segmentados, con genoma de 27 a 32 kb y tamaño de 80-160 nm. Son los virus de ARN más grandes hasta ahora descubiertos y pertenecen al grupo IV de la clasificación de Baltimore.²

La estructura de la partícula viral consiste en una nucleocápside formada por el genoma viral al que se encuentran unidas múltiples copias de la proteína N o proteína de nucleocápside. La nucleocápside adopta una estructura helicoidal y presenta forma de ovillo rodeado de la envoltura glicoproteica en la que se insertan las proteínas virales: S, E y M. A partir de esta molécula se sintetizan el total de proteínas necesarias para cumplir el ciclo de replicación completo. El genoma viral codifica al menos 27 proteínas, incluidas 16 proteínas no estructurales y 4 proteínas estructurales.³

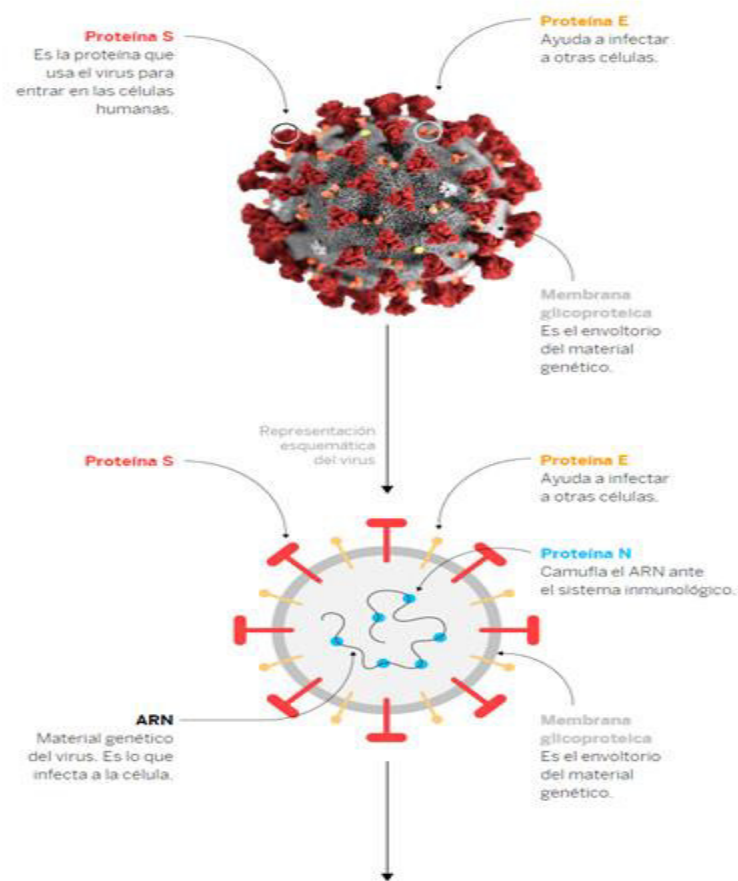


Imagen3. Estructura del SARS-CoV-2.

(Fuente: <https://medicinaysaludpublica.com/asiinfecta-el-coronavirus/>)

3.Ciclo de replicación viral

Los coronavirus entran a la célula blanco por medio del contacto con receptores celulares específicos presentes en su superficie. La interacción entre la proteína S y un receptor ubicado en la membrana celular dispara el proceso de entrada al citoplasma celular. El receptor para el virus SARS-CoV es la enzima convertidora de angiotensina II (ACE II). Esta proteína, que se encuentra ubicada en la membrana celular, presenta actividad carboxipeptidasa y está involucrada en la regulación de la presión sanguínea arterial y la función cardíaca. La ACE II es una glicoproteína transmembrana tipo I que cliva la angiotensina I en Angiotensina II, molécula que produce vasoconstricción y aumento de la presión arterial. La Angiotensina II estimula en las glándulas suprarrenales la secreción de aldosterona, cuya función es la reabsorción del sodio y el agua y la eliminación del potasio, a nivel renal, produciendo el

aumento de la presión arterial. En humanos se expresa en células epiteliales de pulmón e intestino delgado los cuales son los blancos primarios de SARS-CoV.⁴

Se ha observado que los casos graves de COVID-19 presentan niveles de Angiotensina II muy elevados. Y el nivel de Angiotensina II se ha correlacionado con la carga viral de SARS-CoV-2 y el daño pulmonar. Este desequilibrio del sistema podría estar en relación con la inhibición de la ACE II por parte del virus.⁴

Luego del reconocimiento del receptor, los coronavirus ingresan al citoplasma por endocitosis y fusión con vesículas ácidas que permiten la liberación de la nucleocápside. Alternativamente, estos virus pueden fusionarse directamente con la membrana plasmática por un mecanismo dependiente de una proteasa celular quien cliva a la proteína S del virus y permite exponer su péptido fusión.

Una vez liberada la nucleocápside al citoplasma comienza la traducción y expresión del gen de replicasa viral. Por un mecanismo de desplazamiento de ribosomas celulares se traducen dos polipéptidos definidos pp1a (440–500 kDa) y pp1ab (740– 810 kDa) de diferente longitud. A partir de estos, y por un proceso autoproteolítico, se expresan las proteínas no estructurales (designadas nsp1 a nsp16) necesarias para formar el complejo replicasa transcriptasa (RTC) y completar un ciclo de infección exitoso. Cercano al gen de la replicasa se encuentran los genes estructurales S, M, E y N; que serán expresados a partir de mRNA subgenómico una vez que el RTC esté conformado y activo. Las maquinarias replicativas de los coronavirus provocan remodelamientos estructurales membranosos muy complejos en las células infectadas. Extensivas y morfológicamente diversas redes de vesículas, conectadas con el retículo endoplasmático (RE) permiten la compartimentalización del proceso de síntesis viral protegiéndolo de ribonucleasas y evitando el reconocimiento de la respuesta inmune innata. Las proteínas estructurales M, S y E son expresadas asociadas al RE desde donde serán transportadas hacia el sitio de ensamblado y junto con las nucleocápsides formarán las nuevas partículas virales. Los coronavirus se ensamblan a través del sistema ERGIC (compartimento intermedio retículo endoplasmático-Golgi) y luego las partículas maduras son exportadas hacia

la membrana plasmática en el interior de 9 vesículas, las cuales son secretadas por exocitosis.⁵

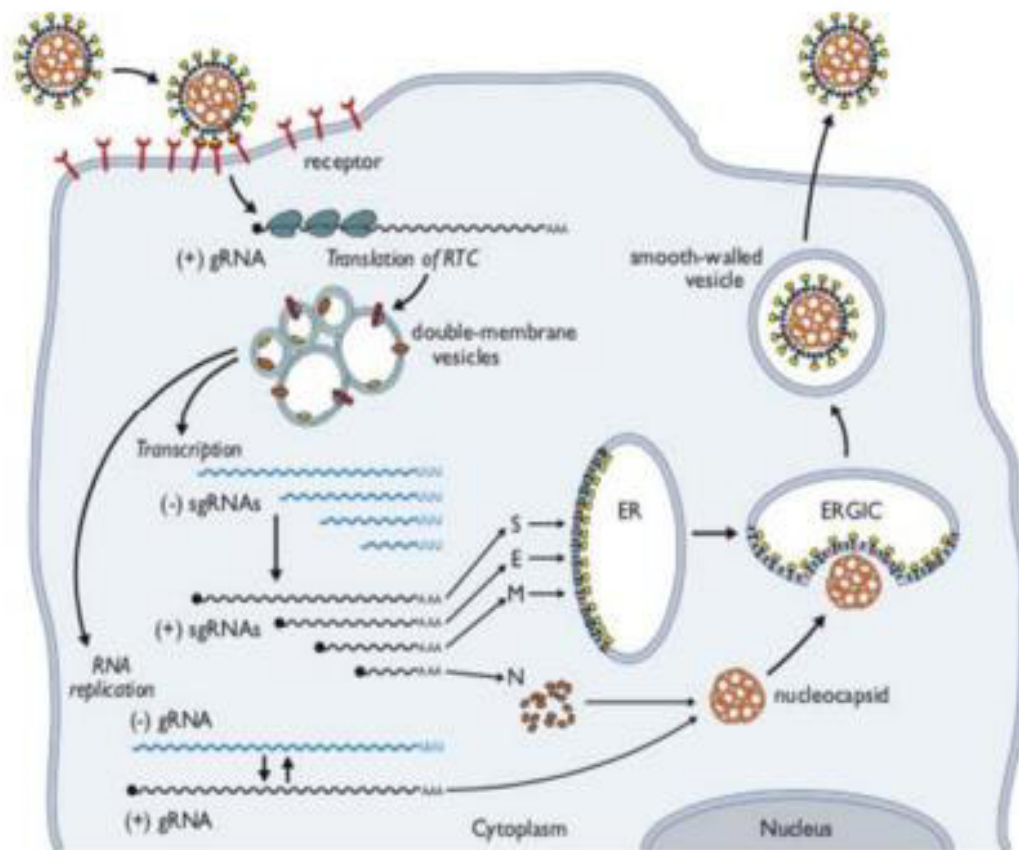


Imagen 4. Ciclo de replicación de los Coronavirus.

(Fuente: https://aam.org.ar/src/img_up/22032020.0.pdf)

4. Patogenia

La mayoría de los coronavirus se propagan a los hospedadores susceptibles por vías respiratoria o fecal-oral, y la replicación ocurre primero en las células epiteliales. Sin embargo, además de la infección local de las vías respiratorias o entéricas, varios coronavirus causan enfermedad respiratoria aguda grave. Como se mencionó anteriormente el SARS-CoV-2, se une con gran afinidad a la ACE II, que es utilizada como receptor de entrada para invadir las células. Este mecanismo permite explicar la eficiente propagación viral en los humanos. Sin embargo, en comparación con el SARS-CoV (10% de mortalidad) y el MERS-CoV (35% de mortalidad), el SARS-CoV-2 parece ser menos virulento en este punto, con la excepción de los ancianos y aquellos con afecciones de salud subyacentes.⁶

Las células en la vía aérea superior se infectan inicialmente, lo que resulta en desprendimiento celular, pero relativamente poco daño. Sin embargo, el virus se propaga rápidamente a los

alvéolos causando daño alveolar difuso. Esto se caracteriza por descamación de neumocitos, edema alveolar, infiltración celular inflamatoria y formación de membrana hialina. También se detectan virus o productos virales en otros órganos, como el riñón, el hígado, cerebro, intestino delgado y heces. Aunque el pulmón es reconocido como el órgano más gravemente afectado por el SARS-CoV-2, el mecanismo exacto de la lesión pulmonar es controvertido. Las observaciones histopatológicas de las lesiones pulmonares no solo muestran respuestas inflamatorias inespecíficas como edema e infiltrado de células inflamatorias, sino que también una exfoliación severa de las células epiteliales alveolares, ensanchamiento y daño del tabique alveolar, e infiltración del espacio alveolar. Patológicamente, la inflamación incluye degeneración (necrosis), infiltración e hiperplasia. El daño a las paredes arteriolas intersticiales pulmonares indica que la respuesta inflamatoria juega un papel importante a lo largo del curso de la enfermedad. Durante la infección, el huésped desencadena una respuesta inmune contra el virus. La inmunopatogénesis se asocia con una respuesta inmune fuera de control, lo que puede provocar daños en el tejido pulmonar, deterioro funcional y capacidad pulmonar reducida. Efectivamente, la respuesta inmunitaria tanto innata como adaptativa son necesarias para la eliminación viral, pero siempre bajo una regulación muy estricta. Es de destacar que en pacientes con COVID19 se observó un ascenso plasmático del nivel de citoquinas y quimioquinas, incluidas IL-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF), factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), IFN- γ y TNF- α . Esta liberación exacerbada de inmunomediadores, a su vez, recluta linfocitos, macrófagos y leucocitos al sitio de la infección, pudiendo explicar en parte el daño histológico observado en los pacientes con COVID19 de condiciones más críticas.⁶

La activación excesiva del sistema inmune innato que causa tormentas de citoquinas ocasiona daño del sistema microvascular y activa el sistema de coagulación e inhibición de la fibrinólisis. La coagulación intravascular diseminada (CID) conduce a trastornos generalizados de la microcirculación que contribuyen a la situación de fallo multiorgánico. Se ha observado que los niveles de antitrombina son menores en casos de COVID-19, y los niveles de dímero D y fibrinógeno son mayores que en población general. Además, la progresión de la gravedad de la enfermedad va ligada a un aumento gradual del dímero D. Estos hallazgos apoyan la teoría del desarrollo de una coagulopatía de consumo en infecciones por SARS-CoV-2, y que cuando estas ocurren empeora el pronóstico.⁷

La IL-6 desempeña un papel importante en la red de mediadores inflamatorios y puede causar trastornos de la coagulación a través de diversas vías, como la estimulación hepática para la síntesis de trombotocina y fibrinógeno, aumento de la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular, expresión de los factores tisulares de los monocitos y la activación del sistema de coagulación extrínseco. La trombina generada a su vez puede inducir al endotelio vascular a producir más IL-6 y otras citoquinas. Las tormentas de citoquinas y los trastornos de la coagulación de este modo se retroalimentan. Se ha observado también la alteración de las plaquetas por varias vías: daño indirecto mediante invasión de las células madre hematopoyéticas de la médula ósea o daño directo mediante la activación del complemento. Además, la inflamación producida en el pulmón junto con la hipoxia de los casos con neumonía, causa la agregación plaquetaria y la trombosis, con un aumento de consumo de las plaquetas. Todos estos factores contribuyen a desencadenar el estado de hipercoagulabilidad que se observa en los casos de COVID-19.

5. Enfermedad

El SARS-CoV-2 se transmite principalmente de persona a persona por medio del contacto directo, indirecto o estrecho con personas infectadas, y a través de secreciones infectantes, por ejemplo, saliva y secreciones respiratorias, o por medio de gotículas respiratorias, que se expulsan cuando una persona infectante tose, estornuda, habla o canta. Además, las gotículas respiratorias provenientes de personas infectadas pueden contaminar objetos, lo que produce fómites (superficies contaminadas).⁸

Se cree que el contagio es posible incluso por parte de los pacientes asintomáticos.⁹

El período de incubación, es decir el tiempo que transcurre desde que una persona se infecta por el virus hasta que presenta síntomas, oscila en general entre los 4 y los 7 días. Sin embargo, los síntomas pueden aparecer entre 2-14 días luego de la exposición al virus.¹⁰

El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la recuperación es de 2 semanas cuando la enfermedad ha sido leve y 3-6 semanas cuando ha sido grave o crítica. El tiempo entre el inicio de síntomas hasta la instauración de síntomas graves como la hipoxemia es de 1 semana, y de 2-8 semanas hasta que se produce el fallecimiento.¹⁰ Hay un porcentaje de personas que describen síntomas prolongados y recurrentes, durante meses.

Los síntomas iniciales de la infección pueden consistir en fiebre, tos, estornudos, dolor de garganta u odinofagia, diarrea, vómitos y manifestaciones generales como dolor articular, por lo que el cuadro sería similar al de la gripe. La disgeusia y anosmia son síntomas característicos de esta enfermedad. Muchas personas con COVID-19 presentan sólo síntomas leves. Es posible

contagiarse de alguien que solamente tenga una tos leve y no se sienta enfermo. Dentro de los síntomas que pueden presentar los pacientes contagiados, se describen, fiebre (88,7%), tos (67,8 %), astenia (38,1 %), esputo (33,4%), disnea (18,6 %), odinofagia (13,9 %), cefalea (13,6%), diarrea (3,8 %) y emesis (5 %). Cabe señalar que entre el 40 a 50 % de los contagiados, presentan manifestaciones clínicas.¹¹

Como medidas preventivas, se han recomendado por la OMS: lavarse frecuentemente las manos con agua y jabón, o con un desinfectante de manos a base de alcohol; al toser o estornudar, cubrirse la boca y la nariz el pliegue del codo; mantener al menos 1 metro de distancia entre personas; evitar tocarse los ojos, la nariz y la boca. Además, es muy importante el correcto uso de tapabocas o barbijos en espacios cerrados y abiertos.¹²

Factores de riesgo

Son más propensos a presentar complicaciones graves los varones de más de 60 años, sobre todo los que presentan enfermedades previas como diabetes, hipertensión arterial y obesidad.¹³

Autoridades sanitarias indicaron que la tasa de letalidad de COVID-19 en Argentina se mantiene en 1,9%. Esta aumenta significativamente con la edad llegando a 10.5% en los mayores de 60 años y con enfermedades preexistentes. El Ministerio de Salud de la Nación, el día 3 de agosto de 2020 comunicó que del total de los 206.743 casos confirmados de COVID-19, el 14,3 % correspondía a personas mayores de 60 años. Sin embargo, de los 3.813 fallecidos notificados en esa fecha, el 81,9 % eran adultos mayores.¹⁴

Las personas con enfermedades cardiovasculares e hipertensión (HTA) constituyen un grupo de mayor riesgo para desarrollar síntomas graves por COVID-19. Los niveles de ACE II pueden estar aumentados en personas con enfermedad cardiovascular. Se ha observado que los tratamientos con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y antagonistas de la Angiotensina II (ARA II) utilizados para el tratamiento de la hipertensión arterial (HTA) y la insuficiencia cardiaca, aumentan la expresión y actividad de la ECA II.¹⁵

Por otra parte, la reducción de los receptores ACE II y los altos niveles de Angiotensina II se relacionan con la insuficiencia respiratoria y el distrés respiratorio agudo. En los casos graves de COVID-19, se han observado mayores niveles de Angiotensina II, lo que puede estar en relación con la inhibición por parte del virus de la ACE II.¹⁶

El motivo por el cual la diabetes supone un factor de riesgo para desarrollar enfermedad grave por COVID-19 no está bien establecido, pero también se sugiere que la sobreexpresión de ACE II en pacientes diabéticos puede estar implicada en el proceso. La sobreexpresión de la ACE II en diabéticos parece un mecanismo compensatorio para frenar el deterioro de la

microvasculatura renal implicada en la nefropatía diabética a largo plazo, así como para limitar el daño cardiovascular a largo plazo en pacientes diabéticos mediante la activación del eje ACE II/Ang-(1-7) /MasR .¹⁷

Hay varios factores que podrían influir en el mayor riesgo de infección y complicaciones por COVID-19 en los pacientes con obesidad, el primero de los cuales sería la asociación de la obesidad con otras comorbilidades y con una mayor predisposición a los fenómenos tromboembólicos que la población general, factores que ya se han asociado con una peor evolución de COVID-19. Por otro lado, se ha observado que la expresión de ECA II en las células adiposas podría ser importante, lo cual pondría a las personas obesas en un mayor riesgo de contraer la infección grave.¹⁸

Además, se encuentran dentro del grupo de riesgo personas con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, cáncer e inmunosuprimidos.

Caso sospechoso y criterios de alta

La definición de caso sospechoso desde el comienzo de la pandemia fue variando de acuerdo a la situación epidemiológica.

Ante todo caso sospechoso, se debe indicar el aislamiento inmediato del paciente y comenzar las acciones de rastreo y cuarentena de sus contactos estrechos, sin esperar los resultados de laboratorio.

Todo caso sospechoso o confirmado deberá contar con evaluación clínica periódica para identificar signos de alarma y evaluar posibles diagnósticos diferenciales.

Se define como caso sospechoso de COVID-19 al 11 de septiembre del 2020 por el Ministerio de Salud de la Nación según dos criterios. En el primero de ellos, toda persona que presente 2 o más de los siguientes síntomas: fiebre mayor a 37,5°C, tos, odinofagia, dificultad respiratoria, cefalea, mialgias, diarreas/vómitos y pérdida de olfato y gusto repentinos sin otra etiología que explique completamente la presentación clínica. En el segundo criterio, toda persona que sea trabajador de salud, resida o trabaje en instituciones cerradas o de internación prolongada, sea personal esencial, resida en barrios populares o pueblos originarios o sea contacto estrecho de caso confirmado de COVID-19, que dentro de los 14 días posteriores al contacto presente 1 o más síntomas de los anteriormente mencionados.

Se define como caso confirmado por laboratorio COVID-19 al 11 de septiembre de 2020 a todo caso sospechoso con resultado detectable para: detección de genoma viral de SARS CoV-2 por técnicas directas.

También se confirman los casos por criterios clínicos/epidemiológicos a aquellos que en los

últimos 14 días haya sido contacto estrecho con un caso confirmado o forme parte de un conglomerado de casos, con al menos un caso confirmado por laboratorio, sin otro diagnóstico definido, y que presente dos o más de los síntomas mencionados.

Se procurará el diagnóstico etiológico por laboratorio a los casos confirmados por criterio clínico epidemiológico que formen parte de los siguientes grupos: pacientes que presenten criterios clínicos de internación, personas con factores de riesgo, personas gestantes, trabajadores de salud, personas fallecidas, sin etiología definida.

Los contactos estrechos de casos confirmados (cualquier persona que haya permanecido a una distancia menor a 2 metros con un caso confirmado mientras el caso presentaba síntomas, o durante las 48 horas previas al inicio de síntomas durante al menos 15 minutos), que con no presenten síntomas, no son considerados casos de COVID-19, pero deben realizar cuarentena por 14 días.

No se considerará personal de salud expuesto a SARS-CoV-2 a quienes hayan empleado correctamente el equipo de protección personal apropiado en todo momento. ¹⁹



Imagen 5. Criterios de alta en pacientes que contrajeron COVID-19.

(Fuente:<https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus-COVID-19/alta>)

6. Diagnóstico de laboratorio

Las pruebas de laboratorio para el COVID-19 y el virus asociado SARS-CoV-2 incluyen los métodos que detectan la presencia del virus y aquellos que detectan los anticuerpos producidos en respuesta a la infección.

Las técnicas diagnósticas para confirmación de casos positivos son RT-PCR, LAMP y detección de antígenos.

Técnicas moleculares

Christian Drosten es director del Instituto de Virología del prestigioso Hospital Charité de Berlín. Y es reconocido como uno de los tres científicos que descubrió el virus del SARS, otro tipo de coronavirus que en 2002-2003 infectó a unas 8.000 personas en cerca de 30 países y causó cerca de 800 muertes.²⁰

El científico alemán también tuvo un papel central en la lucha contra otra epidemia causada por un coronavirus, el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS, por sus siglas en inglés), que ha causado más de 800 muertes desde 2012 según la OMS.

En 2017 el experto comenzó a trabajar en el Hospital Charité. En enero de 2020, poco después de que investigadores en China divulgaran el primer genoma del virus del COVID-19, su laboratorio en Berlín fue el primero en producir un test de diagnóstico. Este primer estudio estaba basado en la detección del genoma de los SARS-CoV y otros coronavirus relacionados con SARS. Ese mismo mes la OMS divulgó el protocolo del test en su sitio en internet permitiendo a otros países producir sus propias pruebas para diagnosticar la enfermedad.²¹

La prueba más utilizada en los centros de referencia para el diagnóstico de COVID-19 ha sido la prueba RT-PCR. Se realiza utilizando hisopado combinado (nasofaríngeo más orofaríngeo) o, más recientemente, saliva e hisopado nasal. Los aspirados traqueales o lavado broncoalveolar también se realizan en pacientes internados, con enfermedades respiratorias más graves.

Diferentes laboratorios desarrollan una variedad de dianas genéticas de ARN, con la mayoría de las pruebas dirigidas a 1 o más de los genes: envoltura (ENV), nucleocápside (N), espiga (S), RNA polimerasa RNA-dependiente (RdRp) y ORF1.

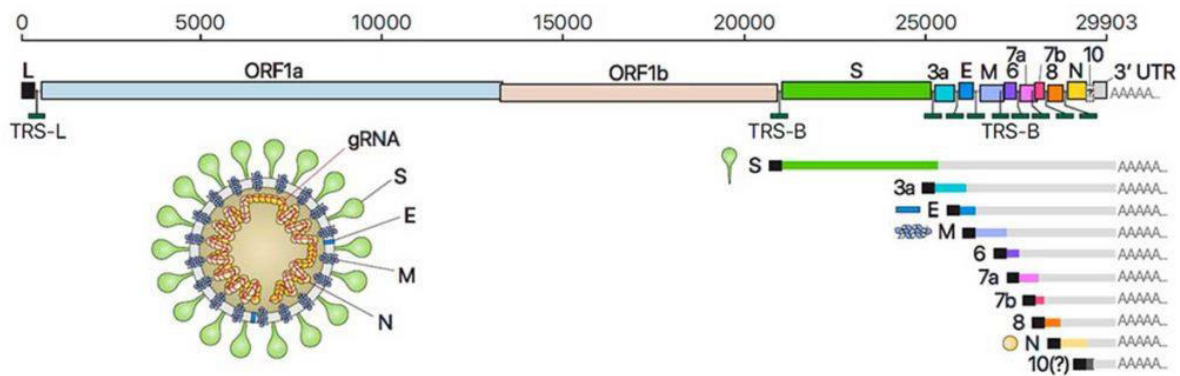


Imagen 6. Mapa genético de SARS-CoV-2.

(Fuente: <https://biotechmagazineandnews.com/nuevo-mapa-genetico-del-sars-cov-2/>)

El Ct (ciclo umbral) es el número de ciclos de replicación necesarios para producir una señal fluorescente, valores de Ct más bajos representan mayores cargas de ARN viral. La imagen 7 corresponde a una curva de amplificación representativa a partir de la cual es posible determinar el punto en el cual la fluorescencia de la reacción sobrepasa la fluorescencia basal (umbral o “threshold”), y se considera como el punto en el cual la reacción de amplificación da comienzo. El Ct es un valor definido de forma arbitraria por el usuario, aunque es posible definirlo de forma matemática. Obteniendo la segunda derivada de la curva de amplificación, es posible definir el Ct como el ciclo que corresponde al valor máximo de la segunda derivada, adicionalmente, se puede definir el Ct como el punto de despegue (“takeoff point”) que es el equivalente al 20% de ese máximo, ambos parámetros permiten encontrar de forma matemática el ciclo en el cual la fluorescencia aumenta significativamente con respecto a la fluorescencia basal.²²

Esta carga viral comienza a disminuir en la semana 3 y posteriormente se vuelve indetectable. Sin embargo, los valores de Ct obtenidos en pacientes hospitalizados graves son inferiores a los valores Ct de los casos leves, y la positividad de la PCR puede persistir más allá de las 3 semanas después del inicio de la enfermedad, cuando la mayoría de los casos leves producirán un resultado negativo. Sin embargo, un resultado de PCR "positivo" refleja únicamente la detección de ARN viral y no indica necesariamente la presencia de virus viables.

En algunos casos, el ARN viral ha sido detectado por RT-PCR incluso más allá de la semana 6 después de la primera prueba positiva. También se han reportado positivos después de 2 pruebas de PCR negativas consecutivas realizadas con 24 horas de diferencia.²³

La cronología de la positividad de la PCR es diferente en muestras distintas del hisopado nasofaríngeo. La positividad de la PCR disminuye más lentamente en el esputo y todavía

puede ser positiva después de que las muestras nasofaríngeas son negativas.²⁴

Los resultados falsos negativos se producen principalmente debido al momento inapropiado de la recolección de muestras en relación con el inicio de la enfermedad y la deficiencia en la técnica de muestreo, especialmente de hisopados nasofaríngeos.²⁵

La especificidad de la mayoría de las pruebas RT-PCR es muy alta porque el diseño de los primers es específico de la secuencia del genoma del SARS-CoV-2. Pueden producirse resultados falsos positivos ocasionales debido a errores técnicos y contaminación de reactivos.²⁵

Por su alto grado de certeza, es el método recomendado por la OMS para diagnosticar la infección por COVID-19.²⁵

Es importante destacar que un único resultado negativo en una prueba para la detección del virus SARS-CoV-2, especialmente si se ha realizado a partir de una muestra de las vías respiratorias superiores, no excluye la posibilidad de una infección. Se recomienda repetir el muestreo y la prueba con una nueva muestra en un caso ambulatorio o una muestra de las vías respiratorias inferiores en caso de enfermedad grave o progresiva. Del mismo modo, un resultado positivo por un patógeno alternativo no excluye necesariamente la posibilidad de una coinfección.²⁶

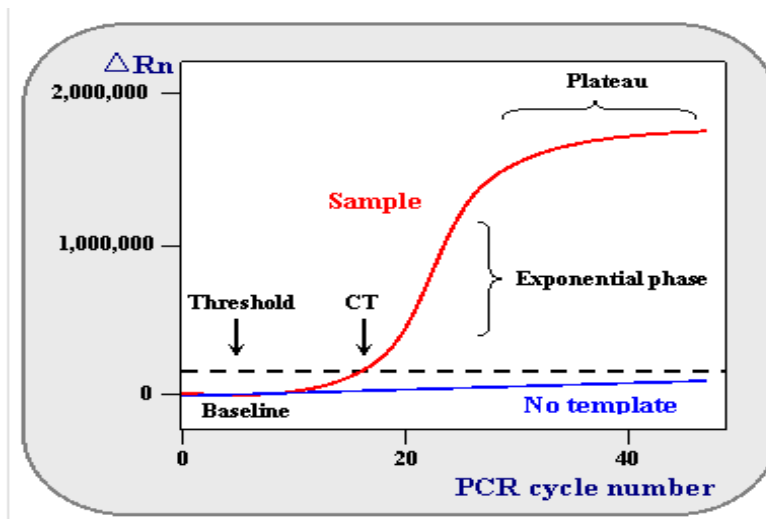


Imagen 7. Curva de amplificación representativa.

(Fuente: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techqpcr/>)

En este trabajo final, la metodología diagnóstica utilizada es la Amplificación Isotérmica Mediada por Horquillas (LAMP, por sus siglas en inglés), la cual es una variante de las PCR isotérmicas que ha generado mayor interés debido a su fácil manejo y bajo requerimiento técnico. Se caracteriza por realizar una mayor amplificación de ADN que

un PCR convencional (hasta 109 copias) en un menor tiempo debido a su diseño.

El desarrollo de nuevos métodos de biología molecular basados en LAMP permiten que las cadenas de ADN recién copiadas formen estructuras en bucle que pueden amplificarse mucho más rápidamente que en la RT-PCR, requiriendo solo una hora de amplificación. Estos nuevos métodos han logrado aceptables niveles de sensibilidad y especificidad en comparación con el método de referencia.²⁷

Otro aspecto comparativo a tener en cuenta es que las LAMP requieren instrumental más sencillo para su ejecución y pueden realizarse en laboratorios de menor complejidad y esto permite realizar un mayor número de determinaciones al mismo tiempo.

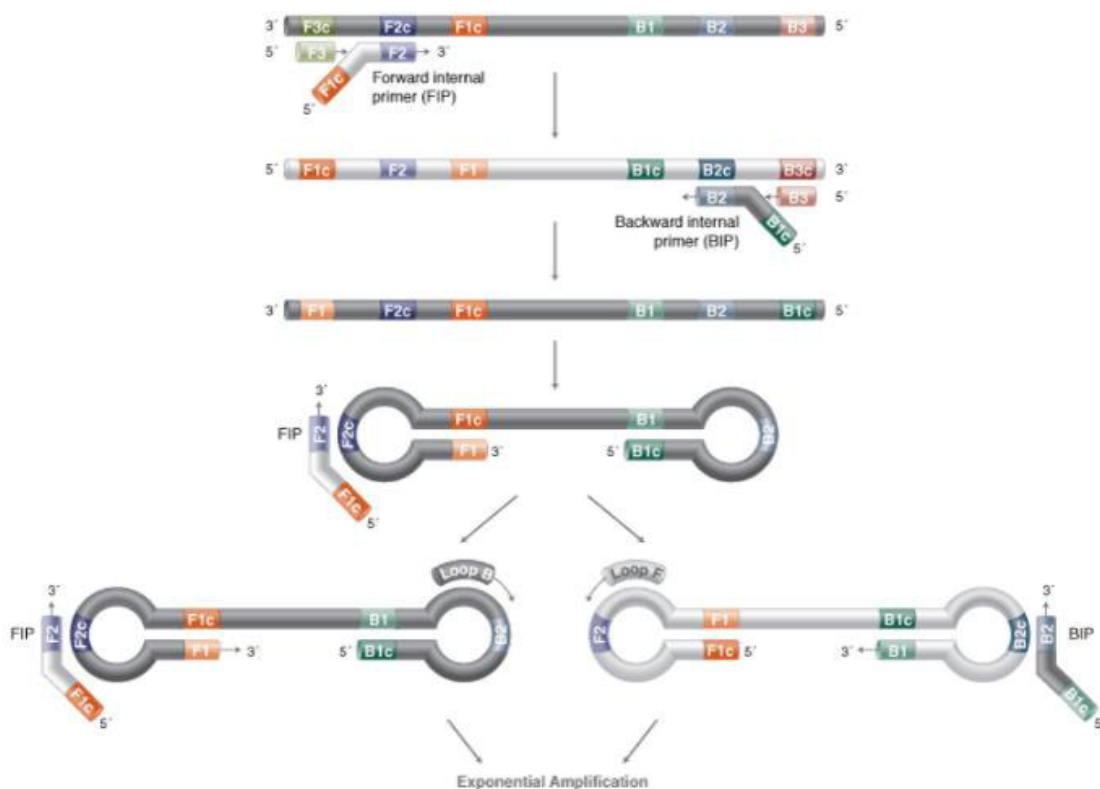


Imagen 8. Mecanismo LAMP.

(Fuente: <https://www.neb.com/applications/dna-amplification-pcr-and-qpcr/isothermal-amplification/loop-mediated-isothermal-amplification-lamp>)

LAMP utiliza 4-6 cebadores que reconocen 6-8 regiones distintas de ADN diana para una reacción de amplificación altamente específica. Una ADN polimerasa que desplaza la hebra inicia la síntesis y 2 cebadores especialmente diseñados forman estructuras de "bucle" para facilitar rondas posteriores de amplificación mediante la extensión en los bucles y el apareamiento adicional de los cebadores. Los productos de ADN son muy largos (> 20 kb) y se forman a partir de numerosas repeticiones de la secuencia diana corta (80–250 pb),

conectadas con regiones de bucle monocatenario en concatámeros largos. Estos productos no suelen ser apropiados para la manipulación posterior, pero la amplificación del objetivo es tan amplia que son posibles numerosos modos de detección. La detección de fluorescencia en tiempo real mediante intercaladores o sondas, el flujo lateral y la detección en gel de agarosa son directamente compatibles con las reacciones LAMP. La instrumentación para LAMP generalmente requiere un calentamiento constante hasta la temperatura de reacción deseada y, cuando sea necesario, fluorescencia en tiempo real para las mediciones cuantitativas.²⁸

Las diferencias de sensibilidad y especificidad en relación con la RT-PCR en tiempo real, la presencia o ausencia de control interno, el nivel de detección y algunos aspectos adicionales requieren de ajustes para lograr una máxima correlación con el método de referencia, sin embargo, ofrecen una alternativa razonable para su utilización en áreas de alta prevalencia y con fines de tamizaje. La posibilidad de tener el diagnóstico en menos tiempo permite la toma de decisiones en determinadas situaciones que requieren medidas urgentes.²⁹

Pruebas serológicas

La detección de anticuerpos (serología) puede ser utilizada también para propósitos clínicos y para la vigilancia de la población.

Las pruebas serológicas detectan anticuerpos específicos antiproteínas del SARS-CoV-2, fundamentalmente las proteínas S y N, que son las más inmunogénicas. En términos de aplicación clínica-diagnóstica, las pruebas serológicas no reemplazan a los métodos directos y no tienen utilidad para guiar la interrupción o finalización de las medidas de aislamiento y/o prevención y control de infecciones. Su muy baja sensibilidad durante la primera semana luego del inicio de los síntomas, los vuelve una opción poco apropiada para su uso en el diagnóstico de personas con sospecha de infección activa por SARS-CoV-2.³⁰

La detección de anticuerpos sólo indica el contacto previo con el virus, pero no permite definir el momento en que ocurrió el contacto. Sin embargo, si pueden ser de suma utilidad para estimar la proporción de una población determinada que estuvo expuesta al virus.

La evidencia actualmente disponible muestra que la mayoría de los individuos inmunocompetentes desarrollará anticuerpos detectables entre los 7 a 21 días posteriores al inicio de los síntomas. En las curvas de la cinética de seroconversión se observa que a diferencia de lo que ocurre en otras patologías infecciosas y con los métodos diagnósticos actualmente disponibles, la IgG se vuelve detectable prácticamente en simultáneo con la IgM.²⁹

Detección de antígenos

Durante los primeros días tras el inicio de los síntomas (de 1 a 5 días aproximadamente), se generan proteínas virales (antígenos) que pueden ser detectadas mediante diferentes ensayos (ELISA, inmunofluorescencia, o incluso pruebas rápidas). Sin embargo, no se ha caracterizado totalmente la dinámica de producción y excreción de estas proteínas. En general, la detección de antígenos presenta una especificidad aceptable (dependiendo del ensayo), por lo cual su detección puede ser usada como criterio de confirmación (en conjunto con la definición de caso, la historia clínica y los antecedentes epidemiológicos) y para tomar decisiones en el ámbito de la salud pública (p. ej., aislamiento). Sin embargo, un resultado negativo (en cualquier estadio de la infección) no debe ser usado como criterio para descartar un caso, y por lo tanto se recomiendan pruebas adicionales con ensayos moleculares.³¹

Recomendaciones sobre el uso de pruebas diagnósticas para COVID-19

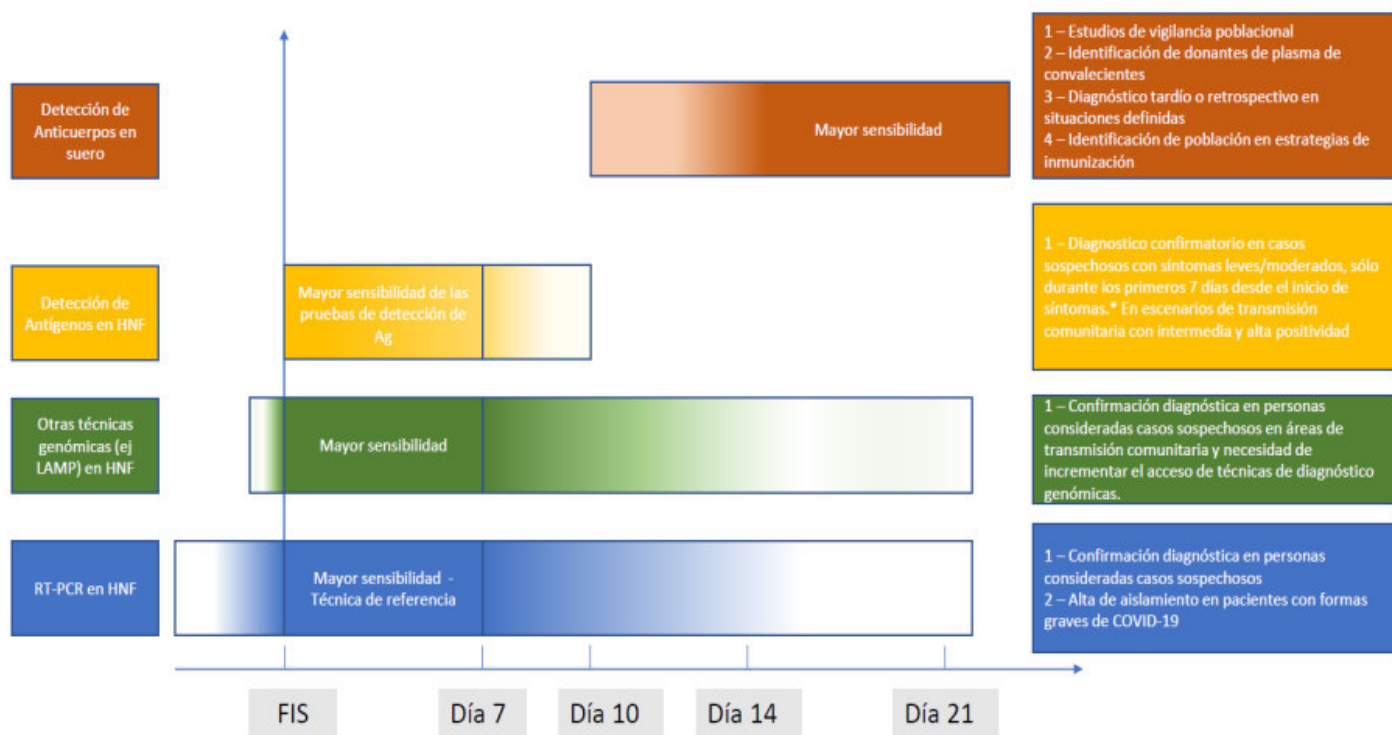


Imagen 9. Recomendaciones sobre el uso de pruebas diagnósticas para COVID-19.

(Fuente: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-09/covid-19-consenso-sobre-uso-de-pruebas-diagnosticas-para-sars-cov-2.pdf>)

Etapa Preanalítica

Todas las muestras deben enviarse al laboratorio refrigeradas (no congeladas) y en envase de bioseguridad apropiado para muestras biológicas (triple envase).

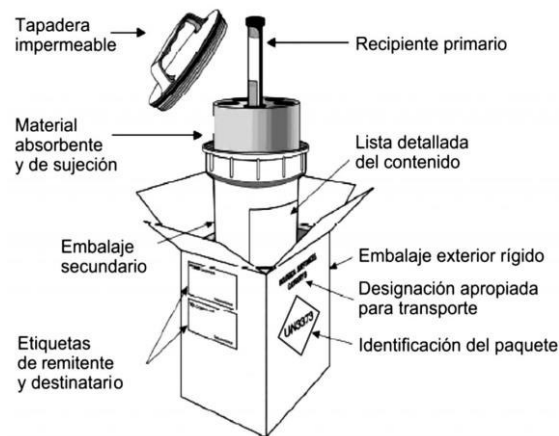


Imagen 10. Modelo triple empaque obligatorio.

(Fuente: Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019. PAHO. 28 de enero de 2020)

Deben usarse los contenedores correctos para evitar derrames, con el medio de transporte adecuado y el volumen exacto de solución fisiológica para evitar diluciones excesivas. No deben contener mucosidad, sangre o turbidez que pueden interferir con la reacción de amplificación. La adecuada toma de muestra resulta fundamental para minimizar la posibilidad de falsos negativos.

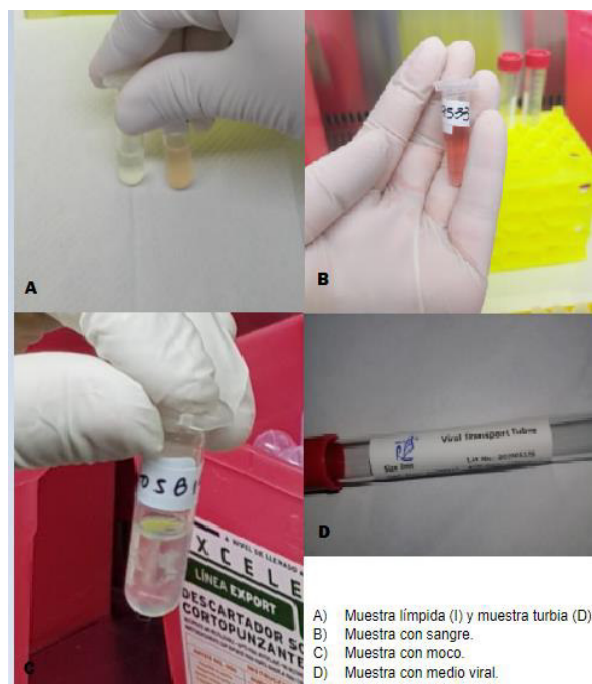


Imagen 11. Posibles interferentes.

Debe ser identificada como muestras para detección de nuevo coronavirus, SARS-CoV-2 o COVID19. No deberán venir acompañadas con muestras para otras patologías.

Las muestras deberán estar acompañadas por una copia de la ficha epidemiológica correspondiente a caso sospechoso, completa en su totalidad.

Cada paciente debe ser cargado en el Sistema de Vigilancia Epidemiológica (SISA). Además, cada laboratorio debe tener un propio registro de los pacientes.

La toma de muestra requiere de personal entrenado y el procesamiento inicial de la misma exige disponer de una cabina de flujo de bioseguridad nivel II o infraestructura equivalente con cabinas de bioseguridad o cabinas de contención primaria para el procesamiento.

Etapas postanalíticas

En nuestro país, desde el punto de vista normativo, la identificación de casos sospechosos de COVID-19 constituye un evento de notificación obligatoria en el marco de la Ley 15.465. La vigilancia del nuevo COVID-19 se inscribe en la vigilancia de las infecciones respiratorias agudas, en la que el país tiene una importante experiencia y la que cuenta actualmente con una estructura que incluye los servicios de atención de los distintos subsectores, las áreas de epidemiología locales, provinciales y nacionales, la red nacional de laboratorios de influenza y otros virus respiratorios, laboratorios privados con capacidad para el diagnóstico, los laboratorios nacionales dependientes de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS), entre otros. Todos ellos participan de manera activa del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud, que permite la comunicación en tiempo real entre los actores intervinientes con responsabilidad sanitaria de manera simultánea y desde cualquier lugar del territorio argentino, contando con un sistema de alertas inmediatas ante la notificación de casos y el reporte de resultados de laboratorio, todo bajo estrictas medidas de seguridad informática y protección de la confidencialidad de los datos.³²

Las muestras deben ser almacenadas a -21°C para su conservación en freezer.

Una vez finalizado el procesamiento de muestras, descontaminar las superficies de trabajo y el equipo utilizado con los desinfectantes apropiados (alcohol al 70% o hipoclorito de sodio al 5%). La lavandina debe ser preparada diariamente para asegurar la correcta concentración y conservarla en un recipiente tapado. El descarte del material se realizará según los procedimientos recomendados para eliminación de residuos patológicos.³³

Objetivos

Objetivo general

- Analizar epidemiológicamente a la población en estudio según sexo, edad, localidad, centro asistencial, factores predisponentes y sintomatología proveniente de los municipios de Florencio Varela, Almirante Brown, Berazategui y Quilmes.

Objetivos específicos

- Analizar los posibles inconvenientes en la etapa preanalítica para el procesamiento por la metodología Atila utilizada.
- Evaluar el método de amplificación isotérmica para el diagnóstico de coronavirus en un determinado número de muestras.
- Comparar el porcentaje de positividad que surge por amplificación isotérmica Atila sin extracción versus el obtenido por RT-PCR de Roche con extracción por columnas en el mismo período de tiempo y zona.
- Determinar si existe correlación entre la sintomatología y los Ct obtenidos.

Materiales y métodos

El trabajo final se realizó en el Centro de Excelencia en Medicina Traslacional (CEMET) del Hospital de Alta Complejidad en Red El Cruce, Dr. Néstor Carlos Kirchner (HEC) con pacientes derivados de instituciones públicas pertenecientes a las localidades de Florencio Varela, Berazategui, Quilmes y Almirante Brown. Todas estas localidades pertenecen a la Región Sanitaria VI de la Provincia de Buenos Aires.

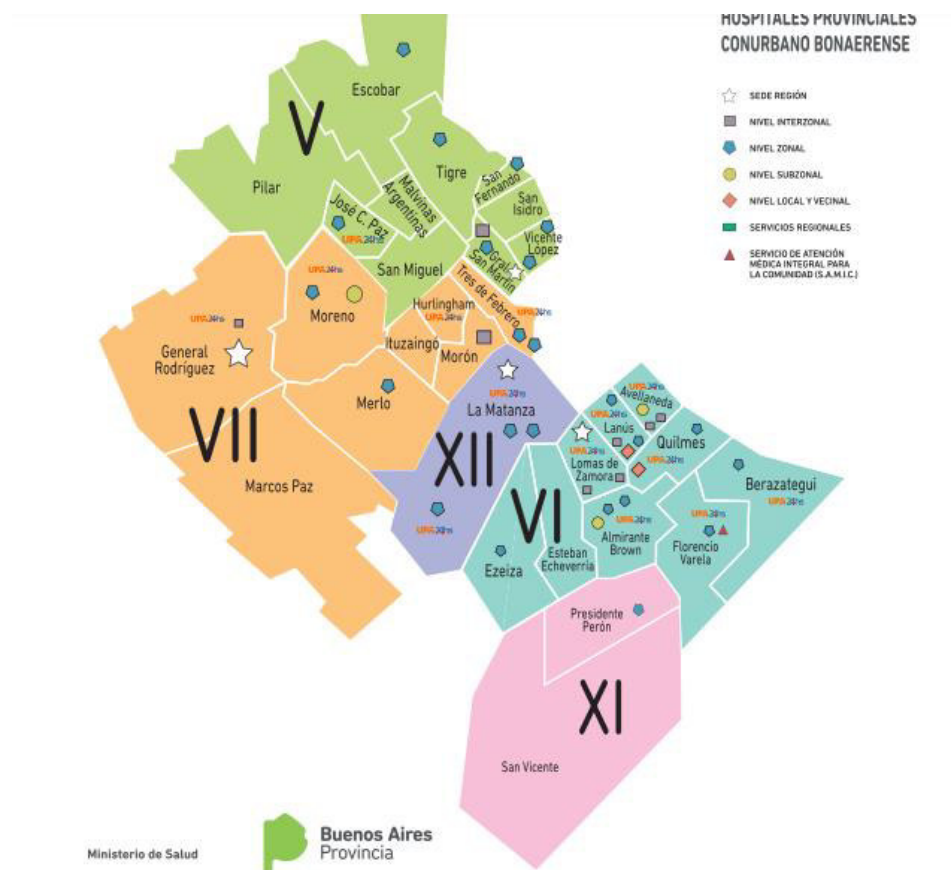


Imagen 12. Regiones sanitarias de la Provincia de Buenos Aires.

(Fuente: https://www.gba.gob.ar/saludprovincia/regiones_sanitarias)

El tipo de estudio es cuantitativo, descriptivo, transversal y retrospectivo.

Los materiales biológicos utilizados fueron hisopados orofaríngeos y nasofaríngeos, esputo y aspirados broncoalveolares con sospecha clínica de casos COVID-19 positivos provenientes del plan nacional DETECTAR, Hospital Zonal General de Agudos Dr. Isidoro Iriarte, Hospital Zonal General de Agudos “Mi Pueblo”, Hospital Zonal General de Agudos Descentralizado

“Evita Pueblo”, Unidad de Pronto Atención (UPA) 11 de Florencio Varela, SAME Florencio Varela y SAME Almirante Brown. Las muestras de saliva se obtuvieron de la UPA 11.

Este trabajo abarca 3 etapas:

1. Procesamiento de muestras por un método de amplificación isotérmica.
2. Evaluación del método contra su método de referencia y su utilidad en muestras de saliva. Además, se obtuvieron los datos de positividad del laboratorio del Hospital El Cruce.
3. Recolección de resultados y análisis de los mismos

1. El procesamiento de muestras se realizó mediante la técnica de Amplificación Isotérmica Mediada por Horquillas (LAMP, por sus siglas en inglés). Es una variante de las amplificaciones isotérmicas que ha generado mayor interés debido a su fácil manejo y bajo requerimiento técnico. Se caracteriza por realizar una mayor amplificación de ADN que un PCR convencional (hasta 10⁹ copias) en un menor tiempo debido a su diseño.

Se utilizó el kit de detección iAMP COVID-19 de ATILA, que es una prueba de amplificación isotérmica de transcripción inversa en tiempo real. La prueba se basa en una tecnología patentada de amplificación isotérmica denominada amplificación OMEGA. Los juegos de cebadores OMEGA están diseñados para detectar específicamente ARN y ADNc posterior de los genes N y ORF-1ab del virus SARS-CoV-2 en hisopados nasales, nasofaríngeos y / u orofaríngeos de pacientes con signos y síntomas de infección sospechosos de COVID-19. 1. Ambos genes son detectados en el canal FAM, sin ser diferenciados. Como control interno se utiliza la detección de la enzima constitutiva GAPDH (gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa), en el canal HEX. Tanto la retrotranscripción como la amplificación tienen lugar a 61 ° C.

El ensayo permite la detección de RNA de SARS Cov-2 directamente desde las muestras, sin procesos previos de extracción de RNA.

Los resultados obtenidos son cualitativos.

Los componentes del kit incluyen:

- Buffer A y buffer B, los cuales mezclados en cierta proporción son utilizados como buffer de lisis.
- Buffer Mix y Primer Mix (contiene a la transcriptasa reversa), ambos mezclados en la misma proporción conforman la Master Mix
- Control negativo
- Control positivo

Cada kit contiene los reactivos necesarios para 100 determinaciones.



Imagen 13. Componentes de kit utilizado.

Procedimiento

Para poder realizar el procesamiento de las muestras se contó 3 zonas de trabajo:

Zona 1 o zona sucia: Allí ingresan las muestras contenidas en triple envase. Se destapan dentro de una cabina de bioseguridad biológica tipo II (protege al operador, a la muestra y al ambiente) que debe estar validada. Luego, se acondicionan y ocurre la lisis. Por último, en esta zona se dispensa la Master Mix necesaria para la reacción. En esta zona es muy importante que los operadores cuenten con equipo de protección personal (EPP), el cual consiste en camisolín hidropelente, cofia, barbijo N95, gafas, guantes y botitas para cubrir calzado.

Zona 2 o zona limpia: En esta zona ocurre la manipulación y preparación de reactivos libres de RNAsas. Se prepara y dispensa el buffer de lisis y se prepara la Master Mix para ser utilizada en la Zona 1.

Zona 3: Es donde se encuentra el Termociclador CFX96 de Bio-Rad. y en esta zona, ocurre la reacción de amplificación.

Dentro de la cabina de seguridad biológica tipo II, luego de rotular los tubos con 3 ml de solución fisiológica e hisopo/s, se mezclan mediante vórtex durante 10 segundos.

Luego, se trasvasa 1 ml de muestra a tubos Eppendorf de 1,5 ml previamente rotulados. Se deja decantar las muestras durante 20 minutos. Como modificación del inserto original del fabricante, pueden centrifugarse a 5000 RPM durante 10 segundos.

En la zona de manipulación de reactivos, se prepara el buffer de lisis y se dispensa según cantidad de muestras en placas de PCR (12 ul en cada pocillo).

Posteriormente, la placa de PCR se coloca en la cabina de seguridad biológica y se transfieren de la superficie del Eppendorf 3 ul de muestras. Se resuspende de 5 a 10 veces. Se incuba durante media hora.

Para la reacción de amplificación, se prepara en la zona limpia, la Master Mix y luego en mesada de la zona sucia se dispensan 10 ul en cada pocillo de la placa mezclando con la pipeta automática, subiendo y bajando el volumen de 5 a 10 veces. Al final de la placa, como controles de calidad del proceso, se agregan los ml mencionados de Master Mix ,15 ul de control negativo y 15 ul de control positivo en los últimos 2 pocillos de la placa. Además, se coloca en un pocillo al azar un blanco con 3 ul de H2O libre de RNAsas, 12 ul de buffer de lisis y 10 ul de Master Mix. Se sella la placa con un film autoadhesivo transparente.

Por último, se coloca en el termociclador Bio-Rad CFX96TM previamente configurado a 61°C durante 51 minutos.

La lectura de resultados se realiza de la siguiente manera:

Muestras:

FAM (ORF 1ab y/o N)	VIC (control interno)	Resultado	Acción
-	-	Inválido	Repetir el test. Si repite un resultado inválido, solicitar nueva muestra
-	+	SARS CoV2 No Detectado	Reportar resultados
+	+/-	SARS CoV2 Detectable	Reportar resultados

Nota: en caso de tener un resultado inválido, repetir la corrida utilizando 1 ul de muestra y 14 ul de buffer de muestra 1x.

Imagen 14. Lectura de resultados kit Atila.

(Fuente: <https://www.fda.gov/media/136870/download>)

Además, de cada curva se puede obtener un valor de Ct, el cual fue otorgado por el software Bio-Rad CFX96TM.

Todas las superficies de trabajo deben ser descontaminadas con hipoclorito al 5% y en la cabina de bioseguridad tipo II se debe prender la luz UV al menos 15 minutos antes y después de finalizado el procesamiento de muestras. Los desechos deben descartarse en bolsa roja.

**INFORMATION FROM WWW.FINDDX.ORG/COVID-19/SARSCOV2-EVAL-MOLECULAR/MOLECULAR-EVAL-RESULTS/
LAST UPDATED: 15 MAY 2020**

Company	Gene target	Verified LOD (copies / reaction)	Avg Ct (lowest dilution 10/10)	Clinical sensitivity (50 positives)	Clinical specificity* (100 negatives)	Product No.	Product name	Lot No.	PCR platform	Supplier recommended Ct cut-off
Altona Diagnostics	E	1-10	35.45	92% (95%CI: 81, 97)	100% (95%CI: 96, 100)	821003/821005	RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0	023567	BioRad CFX96 deep well	None; any signal can be considered positive
	S	1-10	35.99	92% (95%CI: 81, 97)	100% (95%CI: 96, 100)					
Atia BioSystems Inc.	ORF1ab	50-100	N/A	100% (95%CI: 93, 100)	99%* (95%CI: 95, 100)	IAMP-COVID-100-RUO	Atia IAMP COVID-19 Detection (isothermal detection)	COVID20200320	BioRad CFX96 deep well	Any signal is considered positive (isothermal)
	N	1-10	N/A	100% (95%CI: 93, 100)	100% (95%CI: 96, 100)					

Imagen 15. Sensibilidad y especificidad declarada por el fabricante.

(Fuente: <https://www.finddx.org/covid-19-old/sarscov2-eval-molecular/molecular-eval-results/>)

La sensibilidad descrita por el fabricante es del 93 al 100% para ambos genes (50-100 copias para ORF1ab y 1-10 COPIAS para el gen N) y la especificidad del 99% para el ORF1ab y 100% para el gen N.

2. Se tomaron 15 muestras con resultado positivo y 15 con resultado negativo por el método de amplificación isotérmica. Las mismas fueron procesadas por el laboratorio del HEC por el método RT-PCR (método de referencia). Se calcularon sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN).

El procesamiento de la RT-PCR se realizó con el kit LightMix Modular SARS-CoV (COVID19) E-gene y N-gene Tibmolbiol de ROCHE. Se amplificaron 2 genes target: el gen E y el gen N y se utilizó como control interno el gen de la miostatina (MSTN). Se utilizó termociclador Cobas z480 de ROCHE. La sensibilidad declarada por el fabricante es de 10 copias por reacción y la especificidad del 100%.

Se debe programar el termociclador para que realice los siguientes 4 pasos:

1. Transcripción reversa del RNA viral (55°C, 5 minutos)
2. Desnaturalización y activación de la enzima (95°C, 5 minutos)
3. Amplificación por PCR 45 ciclos (95°C 5 segundos, 60°C 15 segundos y 72°C 15 segundos)
4. Enfriamiento del instrumento (40°C, 30 segundos)

Las muestras de hisopados pueden venir en medio viral o en solución fisiológica. Debe extraerse el ARN viral previamente siguiendo los pasos en una CSB II en la **zona sucia**:

-Lisis viral con buffer de lisis comercial.

- Precipitación de ARN con etanol anhidro frío, y pegado específico a las columnas de sílica.
- Centrifugación y posterior descarte del sobrenadante.
- Lavados con buffer de lavado. Centrifugación entre ambos y se deja secar la columna.
- Elución con agua destilada libre de RNAasas. Centrifugación y se recoge el eluato.

Preparación de la Mix de reacción en **zona limpia**:

Para 5 ul de eluato se preparan en placa de 96 pocillos 15 ul de Mix de reacción:

10,4 ul de agua libre de RNAasas

0,5 ul de mezcla de reacción que contiene los primers y sonda

4 ul de Reactivo Roche Master

0,1 ul Enzima RT

En zona sucia se colocan los 5 ul de eluato en cada pocillo con 15 ul de Mix de reacción, se homogeneiza 2 o 3 veces. Se agregan en 2 pocillos diferentes 5 ul del control positivo y 5 ul del control negativo. Se sella la placa y se coloca en el termociclador una hora y diez minutos. Finalmente, se realiza la lectura de resultados y Ct.

Un adecuado método de diagnóstico es aquel que ofrezca resultados positivos en enfermos y resultados negativos en personas sanas, por eso la importancia de definir dos parámetros analíticos.

Sensibilidad: es la capacidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un paciente enfermo la prueba realizada logre un resultado positivo. La prueba ideal debe ser 100 % sensible, es decir, no debe tener resultados falsos negativos. Este parámetro posee una ecuación que relaciona los VP y FN.

$$S = \frac{VP}{VP + FN}$$

Especificidad: Es la capacidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un paciente sano la prueba logre un resultado negativo. La prueba ideal debe ser 100 % específica, es decir, no debe tener resultados falsos positivos. La ecuación de la especificidad relaciona los VN y FP.

$$E = \frac{VN}{VN + FP}$$

De estos dos parámetros derivan otros indicadores como:

Valor predictivo positivo: es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en la prueba. Puede estimarse a partir de la proporción de pacientes con un resultado positivo, que finalmente resultaron estar enfermos.

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP}$$

Valor predictivo negativo: es la probabilidad de no padecer la enfermedad si se obtiene un resultado negativo en la prueba y puede estimarse a partir de la proporción de pacientes con un resultado negativo que finalmente resultaron sanos.

$$VPN = VN / (VN + FN)$$

Resultados falsos positivos: es el resultado que indica que una persona padece una enfermedad cuando en realidad no la padece, y se relaciona con la especificidad de la prueba.

Resultados falsos negativos: resultado de una prueba que indica que una persona no padece una determinada enfermedad, sin embargo, la padece. Los FN se relacionan con la sensibilidad de la prueba.

Para este trabajo, se asume que el paciente tiene la enfermedad cuando el test diagnóstico RT-PCR es positivo.

Se utilizó Likelihood ratios (razón de verosimilitud) como prueba estadística para comparar la técnica de amplificación isotérmica ATILA contra el método de referencia.

Likelihood ratio + se define como probabilidad de que el test (LAMP) de positivo cuando el paciente tiene la enfermedad, dividida la probabilidad de que el test de positivo cuando el paciente no tiene la enfermedad.

Likelihood ratio – se define como probabilidad de que el test (LAMP) de negativo cuando el paciente tiene la enfermedad, dividida la probabilidad de que el test de negativo cuando el paciente no tiene la enfermedad.

Tabla II. Interpretación clínica de la razón de verosimilitud (*likelihood ratio*)

LR+ > 10: Aumento grande: Test excelente
LR+ entre 5 y 10: Aumento moderado: Test bueno
LR+ entre 2 y 5: Aumento pequeño: Test malo
LR+ < 2: Aumento insignificante: Test inútil

LR=1: Sin cambios

LR- entre 0,5 y 1: Descenso insignificante: Test inútil
LR- entre 0,2 y 0,5: Descenso pequeño: Test malo
LR- entre 0,1 y 0,2: Descenso moderado: Test bueno
LR- < 0,1: Descenso grande: Test excelente

Imagen 16. Interpretación clínica de la razón de verosimilitud.

(Fuente: <http://informaticabiomedicaenmedicina.blogspot.com/2014/11/likelihood-ratios-lr.html>)

Para verificar si el método arrojaba resultados confiables en muestras de saliva, se nos proporcionaron 22 muestras de saliva con 22 muestras de hisopados de los mismos pacientes. Se procesaron ambas de la misma forma.

Como test estadístico se utilizó el coeficiente de acuerdo kappa, el cual proporciona una medida del grado de acuerdo existente entre dos observadores o jueces al evaluar una serie de sujetos u objetos. No es una medida de asociación, sino una medida de concordancia entre evaluadores (o métodos cualitativos).

Tabla 3. Valoración del coeficiente kappa (Landis y Koch, 1977)⁴

Coeficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Pobre (<i>Poor</i>)
0,01 - 0,20	Leve (<i>Slight</i>)
0,21 - 0,40	Aceptable (<i>Fair</i>)
0,41 - 0,60	Moderada (<i>Moderate</i>)
0,61 - 0,80	Considerable (<i>Substantial</i>)
0,81 - 1,00	Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>)

Imagen 17. Interpretación del coeficiente Kappa según Landis y Koch.

(Fuente: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062008000100008)

Los datos de la positividad por mes del laboratorio del HEC fueron cedidos por el sector de biología molecular. Estos fueron extraídos del SISA. En ambos centros, al realizar la comparación de positividad, no se analizaron los casos positivos por contacto estrecho y asintomáticos ya que no se encuentran cargados en este sistema como casos sospechosos.

Para comparar las proporciones de positivos de ambos laboratorios en muestras provenientes de la misma zona y en el mismo tiempo, se utilizó test Z de comparación de proporciones.

Para comparar la asociación entre Ct y sintomatología, se calcularon las medias de Ct del grupo de pacientes positivos asintomáticos contra la del grupo de pacientes sintomáticos. Luego, se analizó si hubo diferencias significativas con el Test de Mann-Whitney.

3. Se evaluaron los resultados obtenidos de los pacientes según sexo, edad, localidad, centro asistencial, factores predisponentes, sintomatología y tipo de muestra. Los datos llegaron en fichas epidemiológicas provenientes de los distintos centros derivantes. Todos los datos fueron volcados a planillas de Excel.

A cada paciente se le asignó una numeración interna para que al cargar los resultados del día puedan ser colocados los resultados correspondientes y consultado por los jefes de servicio a través de una plataforma de Google Drive.

También, se analizaron variantes preanalíticas que pudieran interferir en el método de amplificación isotérmica. Entre las cuales se destacan la presencia en muestras de sangre, moco, turbidez, contenido inadecuado del medio de transporte, volumen incorrecto de medio de transporte, hisopo seco o ausencia de hisopo.

Todas las pruebas estadísticas se hicieron con el software STATA 13. $P < 0,05$ arrojaron resultados con diferencias significativas.

Además del SISA se obtuvieron la cantidad de enfermos de COVID-19 que fallecieron a raíz de la enfermedad.

Resultados

Se procesaron 10.175 muestras por la técnica de amplificación isotérmica durante los meses de agosto-diciembre del año 2020. Todas ellas provenientes de las localidades de Florencio Varela, Berazategui, Quilmes y Almirante Brown. Todas las localidades pertenecen a la Región Sanitaria VI de la Provincia de Buenos Aires.

Se distribuyeron de la siguiente manera: 1558 del SAME de Almirante Brown (15,31%), 966 del SAME de Florencio Varela (9,49%), 601 del DETECTAR (5,91%), 1447 del Hospital “Evita Pueblo” (14,22%), 987 del Hospital “Dr. Isidoro Iriarte” (9,70%), 1819 del UPA 11 (17,88%), 968 del Hospital “Mi Pueblo” (9,51%) y 1829 de la Unidad Sanitaria “Dr. Javier Sabatto (17,98%).

En cuanto a la distribución por sexo, 4819 pacientes fueron masculinos (47,36%) y 5356 femeninos (52,64%).

Del total, los resultados positivos fueron 3036 (29,84%), los negativos 6956 (68,36%) y 183 (1,8%) correspondientes a remitir nueva muestra. Estos se visualizan en el **Gráfico 1** y su distribución por centro de salud en el **Gráfico 2**. El UPA 11 tuvo la mayor cantidad de casos positivos mientras que el DETECTAR tuvo la menor cantidad.

Sin tener en cuenta las muestras provenientes del plan DETECTAR, la positividad es del 31,43%.



Gráfico 1. Casos positivos, negativos y remitir nueva muestra.

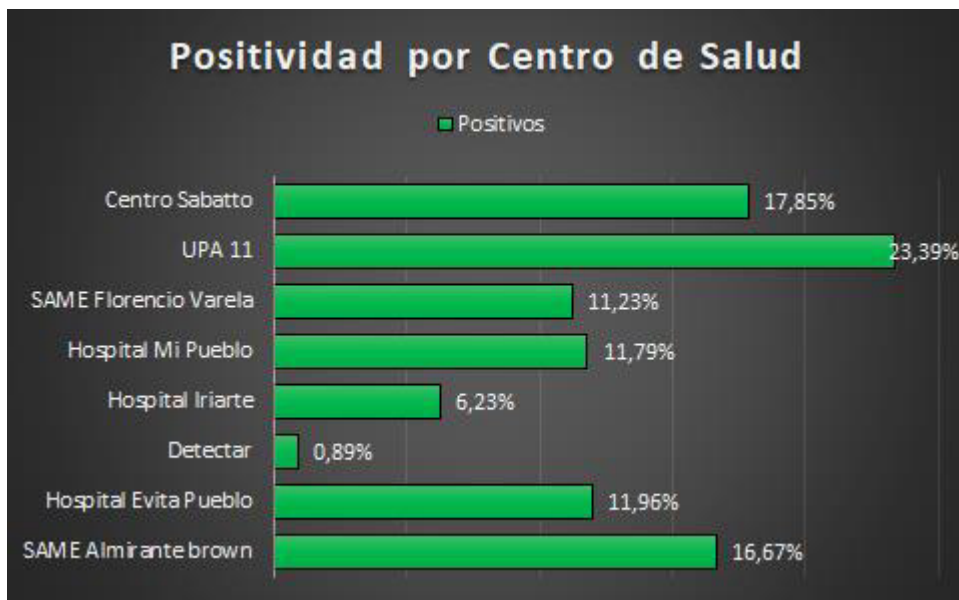


Gráfico 2. Distribución de casos positivos por centro de salud.

Respecto a la positividad por mes (**Gráfico 3**) empezando por agosto hasta diciembre los resultados fueron: 1194(39,33%),820(27,01%),547(18,02%),293(9,65%) y 182(5,99%).



Gráfico 3. Cantidad y porcentaje de casos positivos distribuidos por mes.

Respecto a la positividad por sexo (**Gráfico 4**) se aprecia que es ligeramente mayor en el caso del sexo femenino con un 51,25% en comparación con un 48,75% del sexo masculino. En el **Gráfico 5** se nota la distribución por sexo en los distintos centros derivantes.

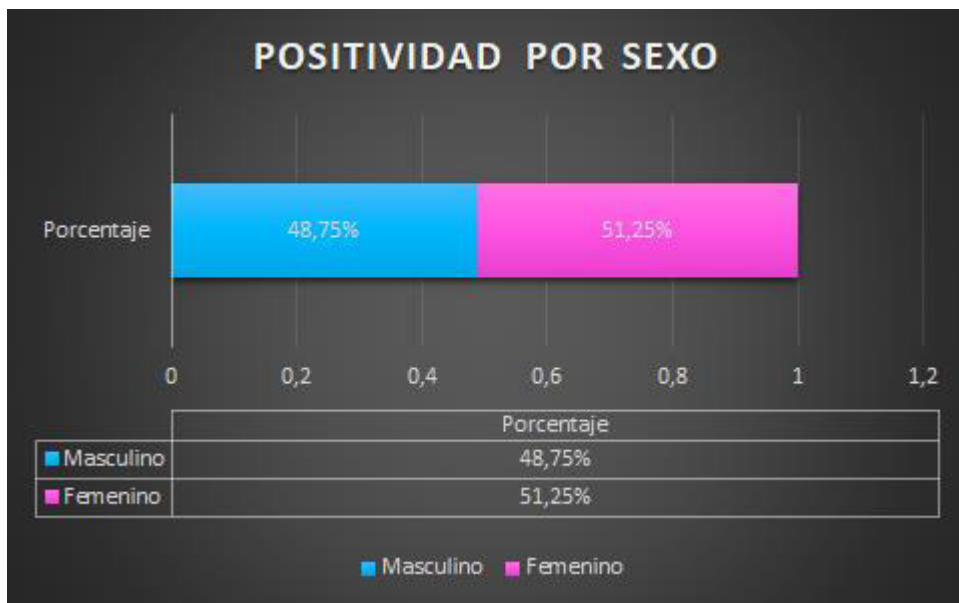


Gráfico 4. Positividad por sexo.

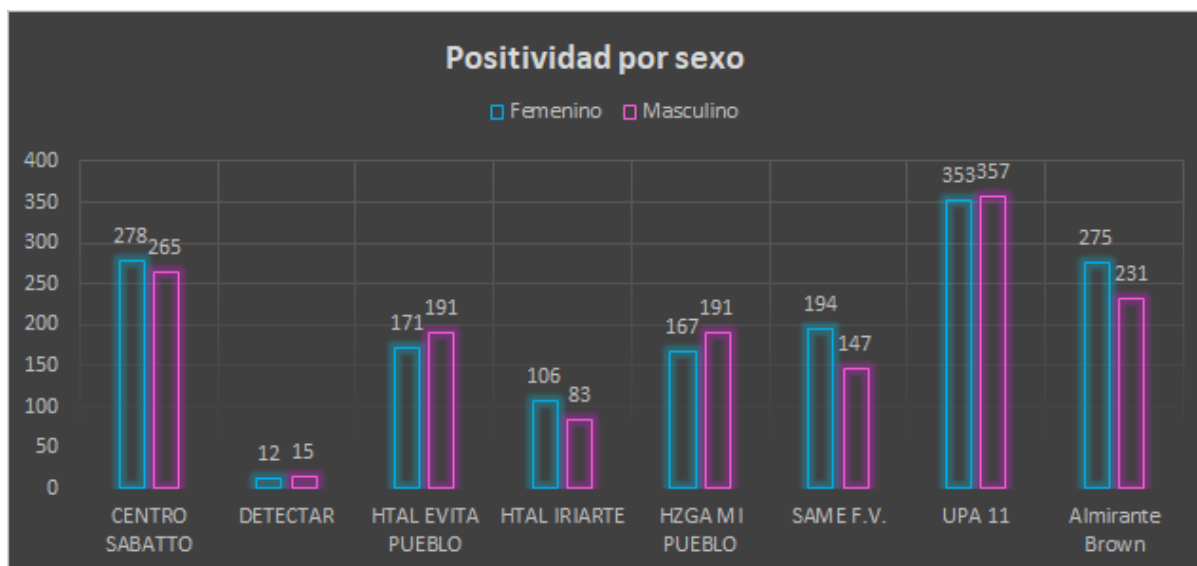


Gráfico 5. Positividad por sexo en cada uno de los centros.

De acuerdo al **Gráfico 6** se observa que, en relación a la positividad por edad, en la franja etaria de 0 a 19 años se registraron el 3,55 % de los positivos. De 20 a 59 años, el 74,77 % y de 60 a 99 años, el 15,68%. En la primera franja etaria hay un leve predominio del sexo masculino; en la segunda y tercera se observa, por el contrario, una leve superioridad del sexo femenino.

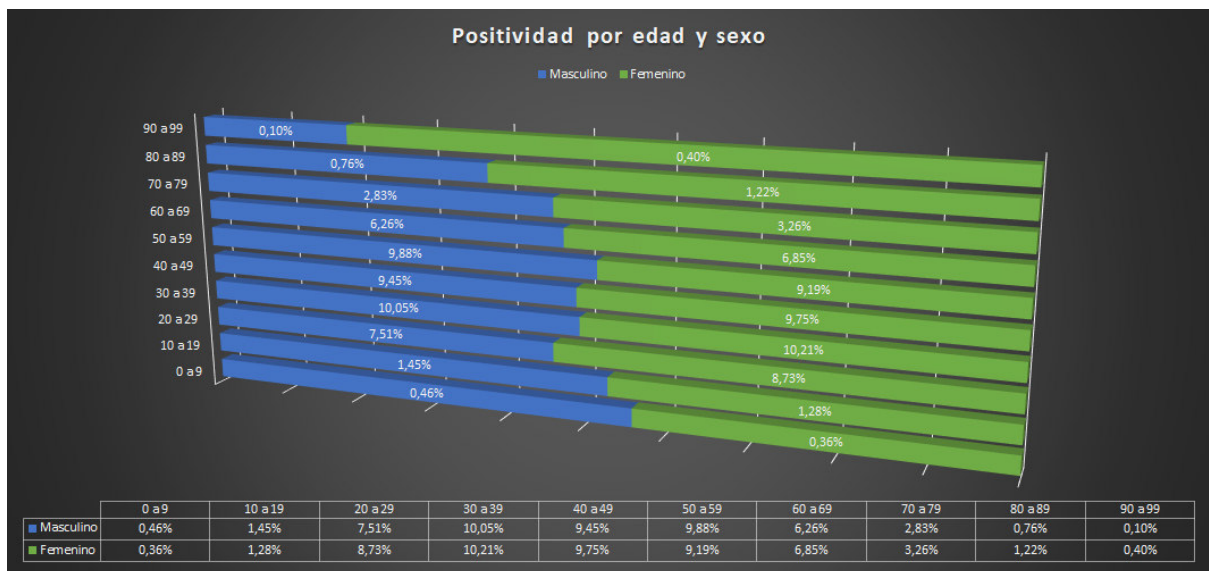


Gráfico 6. Positividad respecto a edad y sexo.

En el caso del personal de salud, fueron testeados 1269 personas. Resultaron positivas 331 (26,08%)

En el **Gráfico 7** se exponen los síntomas más frecuentes. Los pacientes que declararon fiebre fueron 1916. De estos, sólo resultaron positivos 685(35,75%). Para el caso de la anosmia 901 de 1620 (55,62%); con disgeusia 590 de 1050 (56,19%); con odinofagia 1173 de 3560 (32,95%); y por último con tos 1575 de 4548 (13,71%).

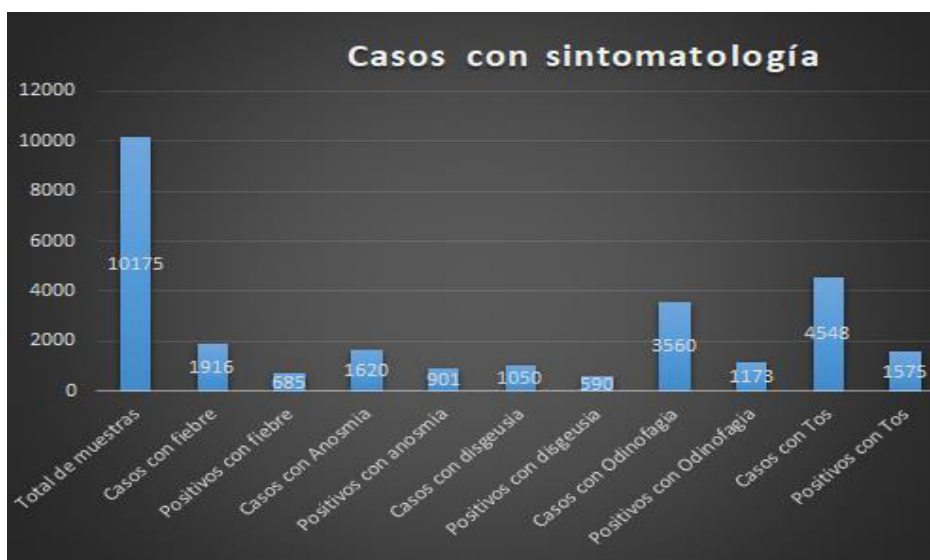


Gráfico 7. Frecuencia de síntomas prevalecientes en casos positivos.

En el caso de pacientes declarados en las planillas epidemiológicas como asintomáticos, el 8,31% fueron positivos.

Del total de 828 casos con contacto estrecho, 325 resultaron positivos (39,25 %)

En el **Gráfico 8**, se contempla que, de 981 personas testeadas con hipertensión, fueron positivas para COVID-19 365 (37,20%). En el caso de pacientes diabéticos de 573 testeados, 230 resultaron positivos (40,13%). En último lugar, 57 pacientes de 175 declarados obesos fueron positivos (32,57%).

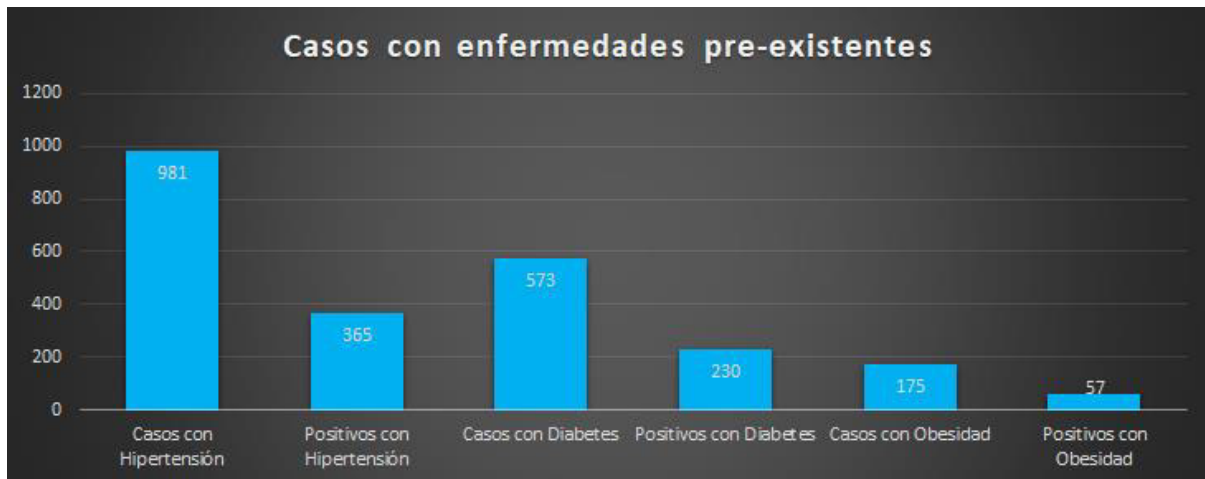


Gráfico 8. Casos positivos con enfermedades previas.

En el **Gráfico 9** se aprecian la cantidad de fallecidos positivos que presentaban alguna comorbilidad. En el caso de la hipertensión fueron el 7,67%; con obesidad, el 14,3%; con diabetes, el 8,26%. Por último, el 28,57% de los pacientes positivos que presentaban más de una comorbilidad fallecieron.



Gráfico 9. Mortalidad de casos positivos con hipertensión, obesidad, diabetes o más de una comorbilidad.

Se recibieron 31 muestras de óbitos, de las cuales 6 fueron positivas para COVID-19(19,35%). En el caso de pacientes que presentaron neumonía, el 34,25% fueron COVID-19 positivos. En la **Tabla 1**, se distinguen la cantidad de casos y fallecimientos que cursaban COVID-19 con neumonía de acuerdo a si su edad es menor o mayor a 60 años.

Casos positivos con neumonía		
Sexo	Mayores a 60 años	Fallecidos Mayores a 60 años
Femenino	14	6
Masculino	12	6

Casos positivos con neumonía		
Sexo	Menores a 60 años	Fallecidos Menores a 60 años
Femenino	21	5
Masculino	31	6

Tabla 1. Mortalidad según sexo y edad en casos positivos que cursaban neumonía.

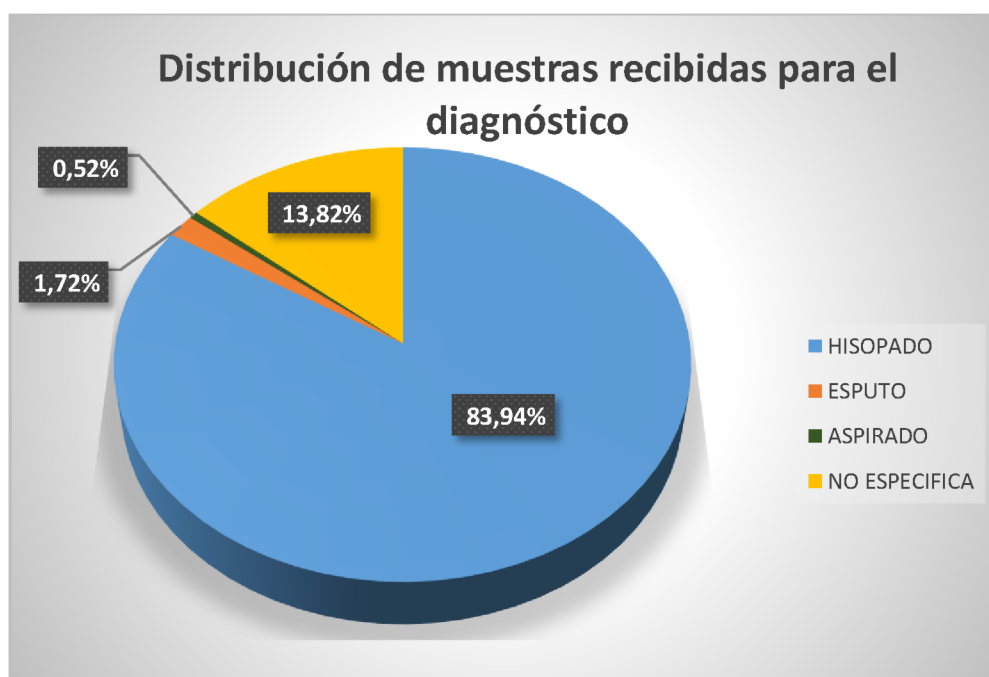


Gráfico 10. Porcentaje de tipo de muestra recibidos.

En el **Gráfico 10** se observa que el mayor porcentaje de muestras recibidas fueron hisopados (83,94%). Existieron casos en donde en la planilla epidemiológica no se especificó el tipo de muestra (13,82%). Esputo (1,72%) y aspirado (0,52%) fueron muestras que llegaron en menor cantidad. El porcentaje de RMN para los distintos tipos de muestras fueron los indicados en el **Gráfico 11**.

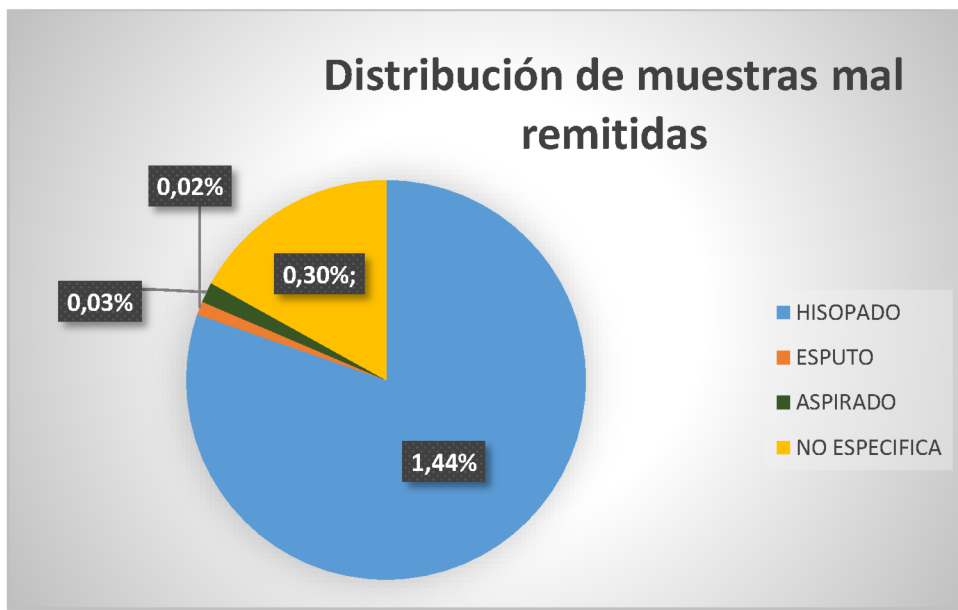


Gráfico 11. Porcentaje de RNM por tipo de muestra.

En el **Gráfico 12** se describen los casos totales de remitir nueva muestra de acuerdo al interferente que presentaron. Entre ellos se encuentran: muestras con poca o mucha solución fisiológica, sangre, turbidez, presencia de mucosidad. Las muestras con hisopo seco no poseían solución fisiológica, y las muestras sin hisopo en planillas epidemiológicas se presentaron en su mayoría como aspirados. Los tubos con medio de transporte viral no arrojan resultado.



Gráfico 12. Interferentes preanalíticos en los casos de remitir nueva muestra.

En la **Tabla 2** se distinguen los resultados obtenidos de los mismos pacientes en 2 muestras diferentes: hisopado combinado y saliva. El coeficiente kappa tiene como valor 0,4359, con un grado de acuerdo del 63,64%.

	Resultado hisopado	Resultado saliva
Negativo	12	11
Positivo	10	4
Remitir nueva muestra	0	7

Tabla 2. Comparación de resultados obtenidos mediante amplificación isotérmica en muestras de saliva e hisopado combinado.

En la **Tabla 3**, se consideran los resultados conseguidos cuando se compararon las muestras de los mismos pacientes por LAMP y por el método de referencia. La sensibilidad hallada fue del 94% y la especificidad del 100%. Por otro lado, el VPN fue del 93% y el VPP del 100%. (LR+:>10 y LR-:0,0625).

	Resultado amplificación isotérmica	Resultado RT-PCR
Negativo	15	14
Positivo	15	16
Remitir nueva muestra	0	0

Tabla 3. Comparación de resultados obtenidos por amplificación isotérmica y RT-PCR.

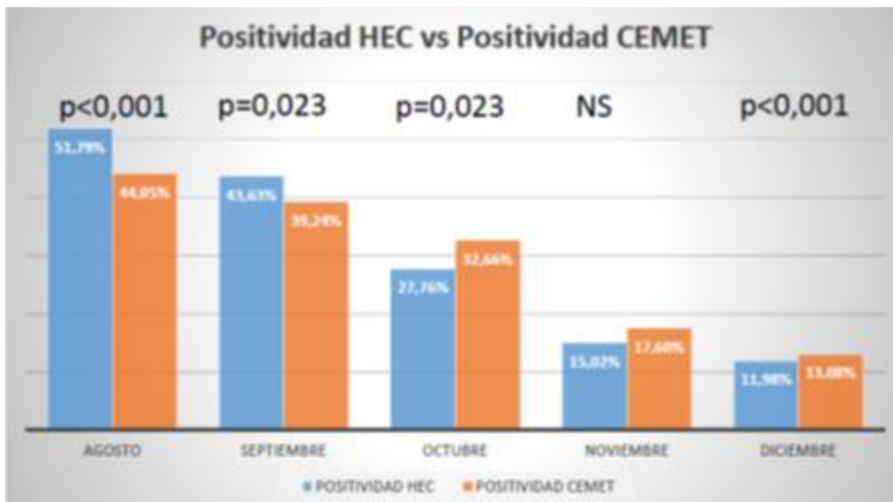


Gráfico 13. Comparación de proporciones de positividad entre el laboratorio central del HEC y CEMET en el mismo periodo de tiempo.

En el **Gráfico 14**, se separan los Ct obtenidos en los casos positivos en 3 rangos: menor a 10, entre 10 y 20 y mayor que 20. Al primer grupo pertenecieron 160 pacientes, al segundo 2048 y al tercero 828.

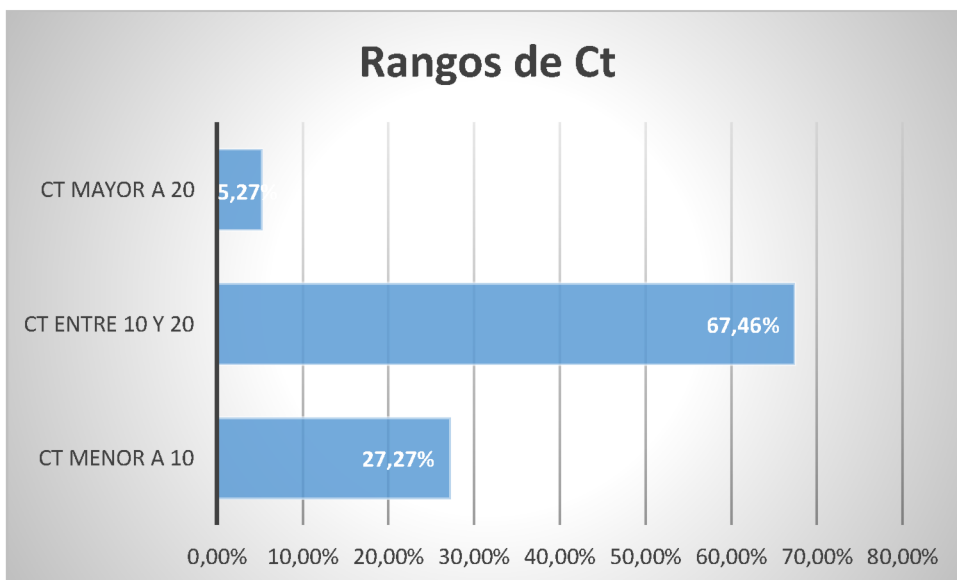


Gráfico 14. Porcentaje de rangos de Ct obtenidos.

La mediana de Ct obtenida en asintomáticos fue 15, mientras que, en sintomáticos fue de 13. Se compararon medianas de Ct entre los dos grupos con test de Mann-Whitney debido a que la distribución de la variable no se pudo asumir como normal.

Sintomatología	Mediana	RIC	p valor
SI	13	9,5-15	<0,001
NO	15	14-18	<0,001

Tabla 4. Valores para la interpretación del test Mann-Whitney.

Discusión

El Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires asigna el pico de casos positivos en la semana epidemiológica 35 (correspondiente a la última semana de agosto de 2020).²⁷ Esto coincide con el pico hallado en el mes de agosto en nuestro trabajo.

Las edades de los casos sospechosos se encuentran comprendidas entre los 0 y los 98 años con una mediana de 40 años y una moda de 32 años. En los casos positivos, son 45 y 32 los valores hallados respectivamente. En la semana epidemiológica 53 (última semana de diciembre de 2020) la mediana acumulada desde el inicio de la pandemia fue 38 años. Según este informe, la mayor cantidad de casos confirmados se dio en el grupo etario de 30 a 39 años al igual que en nuestro análisis. Además, coinciden en que la distribución por sexo es homogénea.²⁷

El programa DETECTAR produce una baja en la positividad (29,84%) ya que las muestras que se recibieron corresponden a pacientes asintomáticos y/o que necesitaban un hisopado con resultado negativo para trasladarse entre provincias.

En un estudio del Hospital Durand de la Ciudad de Buenos Aires, de 417 pacientes, 243 (58,3%) tenían neumonía. La mediana de edad fue de 43 años.³⁴ En nuestro caso, de los 78 pacientes positivos que desarrollaron neumonía la mediana de edad fue de 41 años y el 55,13% de sexo masculino. Aunque los porcentajes de pacientes positivos con neumonía fueran mayores en menores de 60 años, los porcentajes de mortalidad fueron más elevados en el grupo de mayores de 60 años.

En concordancia con el trabajo descriptivo del Hospital de Clínicas de la Ciudad de Buenos Aires³⁵, las manifestaciones clínicas más comunes fueron fiebre, tos y odinofagia. En relación a las comorbilidades, la obesidad fue la más frecuente y la hipertensión arterial la más prevalente en los pacientes con neumonía. En este trabajo, los síntomas que más prevalecieron fueron en orden decreciente: disgeusia, anosmia, fiebre, odinofagia y por último tos. La fiebre se presentó en casos sospechosos con hisopado negativo, y muchos casos positivos no presentaron fiebre. Esto nos indica que la fiebre no es un predictor específico de la enfermedad. Por lo tanto, tomar la fiebre en los ingresos a establecimientos es una buena medida, pero no suficiente.

En cuanto a las comorbilidades, la obesidad fue la menos frecuente entre los positivos (32,57%). Diabetes (40,13%) e hipertensión arterial (37,20%) fueron las más usuales.

En relación a los pacientes asintomáticos positivos (8,31%), no fueron una gran proporción, pero entre las características de este grupo se destacaron que la distribución en cuanto a sexo fue homogénea y el grupo etario que predominó fue el de 18 a 59 años.

A partir del 11 de septiembre de 2020, se agregó el criterio clínico como confirmación de caso sospechoso. Un paciente con anosmia y/o disgeusia era considerado caso confirmado por profesionales médicos, sin pruebas de laboratorio. Se pudo observar que, a pesar de ser los síntomas que más se manifestaron en enfermos de COVID-19, muchas personas no estaban infectadas con el virus y presentaban esa sintomatología.

Se pudo observar que, de los 1269 trabajadores de la salud testeados en este centro, y a pesar de los esfuerzos realizados utilizando el EPP, el 26,08% resultaron positivos. Esto significó una disminución en la disponibilidad del personal de primera línea en la lucha contra esta pandemia. Sin embargo, una de las fortalezas de este método fue que el 73,92% restante pudo reintegrarse a su puesto rápidamente y con un resultado negativo confiable.

Analizando la relevancia del contacto estrecho como forma de contagio, se pudo observar que la frecuencia de contagio es significativa respecto a aquellos que no lo fueron ya que el 39,25% resultó positivo luego de estar en contacto con un caso positivo.

Es notable destacar ciertas particularidades del método de amplificación isotérmica utilizado. La preanalítica, al igual que en la mayoría de los procedimientos de laboratorio, es una etapa crítica ya que conlleva a la mayor cantidad de errores. Es muy importante una correcta identificación del paciente, particularmente que coincidan los datos de la planilla epidemiológica con el rótulo de la muestra. En varias ocasiones, no pudo ser posible esta identificación, lo cual significó que un paciente deba ser rehisopado y se demoró la entrega de resultados.

Se pudo notar que la metodología es dependiente de una correcta toma de muestra. Éstas deben tener la menor cantidad de interferentes posibles ya que al ser un método sin extracción, no se asegura que la lisis sea adecuada en estos casos. De acuerdo a los resultados obtenidos es fundamental que las muestras no tengan una turbidez considerable ni menos volumen de solución fisiológica que lo recomendado. La muestra de elección es el hisopado combinado. Aunque, sin ser muestras recomendables por el fabricante, los aspirados y esputos también arrojaron resultados válidos (por control interno).

Además, es muy importante no utilizar tubos con medio de transporte viral ya que la reacción se ve inhibida por alguno de sus componentes y se invalida la corrida por inhibición del control interno. Este medio viral, no se congela a -21°C y, por lo tanto, en reiteradas ocasiones que no levantaba el control interno, confirmábamos su uso por esta particularidad física, en cuyo caso solicitábamos nueva muestra.

Se evaluó el método LAMP Atila versus RT-PCR de Roche. De las 30 muestras que se compararon con el método de referencia se podría manifestar que es lo suficientemente sensible

y específico. Basándonos en los resultados de LR+ y LR-, el test se considera excelente. Sin embargo, no podemos afirmar esto último ya que una de las limitaciones es la poca cantidad de muestras que se compararon, lo cual se justifica en que son métodos muy costosos y las determinaciones en la situación de pandemia fueron reservadas para los pacientes.

Para la utilización de saliva como muestra, a pesar de que el grado de acuerdo sea mayor al acuerdo esperado y el resultado del coeficiente de acuerdo Kappa según la interpretación de Landis y Koch arroje una moderada fuerza de concordancia entre muestra de hisopado y saliva, se sugiere que la metodología Atila no puede ser utilizada en saliva. Si fuera una comparación de métodos sería aceptable. Sin embargo, cuando se trata de comparación de distintos tipos de muestras debería dar resultados con un grado de acuerdo cercanos al 100%. Esto concuerda ya que la mayoría de las muestras fueron discordantes o no arrojaron un resultado válido. Las muestras negativas mostraron concordancia, pero en el caso de las positivas, no fue así. Por lo tanto, se estarían informando muchos falsos negativos. Una de las razones de esta discrepancia podría ser que se necesita un protocolo más estricto para garantizar la correcta toma de saliva. En agosto, septiembre y octubre la proporción de casos positivos fue mayor en HEC que en CEMET. En noviembre no se puede demostrar diferencia. En diciembre la proporción de casos positivos fue mayor en CEMET que en el HEC. Todos estos resultados se obtuvieron con el test z de comparación de proporciones. Éstos pudieron deberse a que en los primeros meses en el CEMET llegaron muestras de pacientes que no cumplían con el criterio de caso sospechoso de COVID19, mientras que al laboratorio central del HEC la mayoría de los pacientes hasta octubre provenían del triage del Hospital.

En este trabajo final, surgió la necesidad de verificar si existía una asociación entre la sintomatología y los Ct obtenidos. Se pudo contemplar que la mediana de Ct del grupo sintomático fue significativamente menor que la mediana de Ct del grupo asintomático. Esto podría deberse a que se esperaría que la carga viral sea mayor en pacientes con síntomas respecto a los que no los presentaban. De hecho, la mayoría de los pacientes que presentaban más de 4 síntomas obtuvieron resultados de Ct menores que aquellos que sólo presentaban 1 o 2 síntomas. A pesar que no se dispone de un kit para la cuantificación de la carga viral, esta es inversamente proporcional al Ct y, por lo tanto, se infiere que los pacientes con más síntomas tienen mayor carga viral.

Por último, las planillas epidemiológicas son declaración jurada y por lo tanto se aceptan sus datos con la veracidad que esto significa.

Conclusión

A partir de los resultados obtenidos se evidencia que la positividad cayó progresivamente desde agosto a diciembre del año 2020. La distribución por rangos etarios y género coincide con los datos oficiales a nivel provincial. El centro derivante con mayor positividad a lo largo de los meses fue UPA 11(Florencio Varela), donde al funcionar como un hospital modular, se encuentran internados pacientes graves. El plan DETECTAR se basó en este caso en encontrar pacientes asintomáticos en su mayoría y reflejó ser el que menor cantidad de casos positivos tuvo.

Anosmia y disgeusia fueron los síntomas predominantes, aunque no todos los pacientes que manifestaron su presencia fueron positivos. Muchos pacientes con COVID-19 resultaron ser afebriles.

La obesidad fue la comorbilidad que más fallecidos produjo. Sin embargo, el porcentaje de fallecidos aumentó al presentar más de una comorbilidad.

De las muestras donde no se identificó el control interno de presencia de muestra, indica que el método es muy dependiente de la etapa preanalítica. Se debe utilizar el contenedor correcto con el volumen adecuado de solución fisiológica, sin medio viral y, es importante la adecuada toma de muestra. En este marco, la muestra de elección para la metodología fue el hisopado naso y orofaríngeo. Entre las principales causas de pedir una nueva muestra se encontraron la turbidez y el poco volumen de solución fisiológica, seguido por la presencia de sangre. Sin embargo, pudo ser compensado en la mayoría de los casos con el agregado de solución fisiológica hasta completar los 3 ml.

Por el contrario, la saliva no es la muestra adecuada para este método ya que se produjeron falsos negativos y en varios pacientes COVID-19 positivos no arrojó resultados. Por lo que se esperaría la confección de un riguroso instructivo para tal fin y así evitar falsos negativos.

Ante un falso negativo obtenido por amplificación isotérmica respecto al RT-PCR se podría pensar que no es tan sensible como lo declara el fabricante. Sin embargo, no podemos confirmarlo ya que el número de muestras fue muy reducido y no es el objetivo principal de este trabajo.

En comparación a los resultados obtenidos por el método de referencia en tiempo y lugares geográficos equivalentes se infiere que en agosto, septiembre y octubre la positividad fue mayor en el laboratorio del HEC, mientras que en diciembre la mayor cantidad de casos positivos se produjeron en el CEMET. En noviembre no hubo diferencias significativas.

Se concluye que la mediana de Ct obtenido por la técnica de amplificación isotérmica es menor en sintomáticos que en asintomáticos, lo cual podría indicar una mayor carga viral en los primeros.

La introducción de la técnica de amplificación isotérmica es muy útil para poder rápidamente y con una gran seguridad diferenciar los casos positivos de los negativos en los pabellones de los centros de salud en donde se encuentran los casos sospechosos de Covid-19. Nos permite entonces, en menos de 3hs, descartar pacientes sanos para que no estén en contacto con aquellos pacientes enfermos e identificar aquellos pacientes positivos para su rápido aislamiento y posterior clasificación para su adecuado tratamiento. Además, posibilita la desocupación de camas más rápidamente para que puedan ser ocupadas por nuevos enfermos y no exista la saturación del sistema sanitario.

En el caso de personal de salud, es sumamente importante contar con una técnica como esta para poder obtener resultados confiables en pocas horas ya que permite aislar a quienes hayan contraído el virus rápido y también, poder reincorporar a aquellos que tengan un hisopado negativo para así poder continuar su rol en esta pandemia.

Para concluir, por todo lo mencionado, la técnica de amplificación isotérmica Atila fue una gran implementación para la región en uno de los momentos más críticos de la pandemia donde los centros de diagnóstico estaban desbordados con el procesamiento de muestras de casos sospechosos de COVID-19. El método fue una herramienta fundamental por su rapidez, por no necesitar un paso tedioso como es el de extracción del RNA viral con columnas y por, sobre todo, por la simpleza que posee que le confiere la ventaja de no contar con personal altamente capacitado para su uso. Todo indica que la segunda ola está por venir y todos los datos aportados por este trabajo son de gran utilidad para contribuir con el estudio de la epidemiología de nuestra región y la técnica por la cual fueron obtenidos.

Bibliografía

1. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Reporte diario. Recuperado en: <https://www.argentina.gob.ar/coronavirus/informes-diarios/reportes/diciembre2020>
2. Aguilar GNE, Hernández SAA, Ibanes GC. (2020) Características del SARS-CoV-2 y sus mecanismos de transmisión. Recuperado en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/infectologia/lip-2020/lip203g.pdf>
3. David M. Knipe, Peter M. Howley. (2013) Fields Virología (6ta edición). Philadelphia, USA. Capítulo 28.
4. Li F (2008) Structural analysis of major species barriers between humans and palm civets for severe acute respiratory syndrome coronavirus infections. Recuperado en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18448527/>
5. De Haan CA, Rottier PJ (2005). Molecular interactions in the assembly of coronaviruses. Recuperado en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7112327/>
6. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, Tan KS, Wang DY, Yan Y. (2020) The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. Recuperado en: <https://mmrjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40779-020-00240-0>
7. Piera Carbonell, A., Frías Vargas, M., García Vallejo, O., García Lerín, A., Cabrera Ferriols, M. A., Peiró Morant, J., Carrasco Carrasco, E., & en nombre del Grupo de trabajo de Vasculopatías de SEMERGEN (2020). COVID-19 y tromboprolifaxis: recomendaciones para nuestra práctica clínica en Atención Primaria. Recuperado en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7500906/>
8. OMS (2020) Transmisión del SARS-CoV-2: repercusiones sobre las precauciones en materia de prevención de infecciones. Recuperado en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333390/WHO-2019-nCoV-Sci_Brief-Transmission_modes-2020.3-spa.pdf
9. Lee S, Kim T, Lee E (2020) Clinical Course and Molecular Viral Shedding Among Asymptomatic and Symptomatic Patients with SARS-CoV-2 Infection in a Community Treatment Center in the Republic of Korea. Recuperado en: <https://www.cebm.net/study/clinical-course-and-viralshedding-among-patients-with-sars-cov-2/>
10. CDC (2020) Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Recuperado en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>

11. Carvajal Guzmán M., Fonseca Escobar D., Parada Fernandez F., Sepúlveda Verdugo C. Comparación de la muestra salival y de nasofaringe en la detección de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR. Editorial Scielo (2020). Recuperado en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-381X2020000400540&script=sci_arttext
12. OMS (2020) Brote de enfermedad por coronavirus (COVID-19): orientaciones para el público. Recuperado en: <https://www.who.int/es/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>
13. Fei Zhou, Guohui Fan, Ronghui Du, Ting Yu, Ying Liu, Zhibo Liv (2020) Clinical course and risk factors for mortality of adults in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. Recuperado en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30566-3/fulltext#%20](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30566-3/fulltext#%20)
14. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. (2020) En Argentina la tasa de letalidad de COVID-19 en las personas mayores de 60 años es de 10,5%. Recuperado en: <https://www.argentina.gob.ar/noticias/en-argentina-la-tasa-de-letalidad-de-covid-19-en-las-personas-mayores-de-60-anos-es-de-105#:~:text=Autoridades%20sanitarias%20indicaron%20durante%20el,presencia%20de%20otras%20enfermedades%20preexistentes>
15. Ferrario Carlos M., Jessup Jewell, Chappell Mark C., Averill David B., Brosnihan K. Bridget, Tallant E. Annl. (2005) Effect of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition and Angiotensin II Receptor Blockers on Cardiac Angiotensin-Converting Enzyme 2. Recuperado en: <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.510461>
16. Liu Y, Yang Y, Zhang C, Huang F, Wang F, Yuan J. (2020) Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. Recuperado en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32048163/>
17. Patel VB, Parajuli N, Oudit GY. (2014) Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in diabetic cardiovascular complications. Recuperado en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24329564/>
18. Jia X, Yin C, Lu S, Chen Y, Liu Q, Bai J. (2020) Two Things about COVID-19 Might Need Attention. Recuperado en: <https://www.preprints.org/manuscript/202002.0315/v1>
19. Ministerio de Salud de la Nación Argentina (2020) Definición de caso. Recuperado en: <https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus-COVID-19/definicion-de-caso>
20. Martins, Alejandra. (2020) Coronavirus en Alemania: Christian Drosten, el científico asesor de Angela Merkel que bate récords de popularidad. Recuperado en:

<https://www.bbc.com/mundo/noticias-internacional-52666420>

21. Gestoso-Pecellín, L., García-Flores, Y., González-Quintana, P., & Marrero-Arencibia, J. L. (2021). 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/>

22. Alba Aguayo, David R., & Rueda, Angélica. (2013). Problema bioquímico: Determinación del ciclo umbral y la eficiencia para la PCR cuantitativa en tiempo real. Recuperado en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952013000100006

23. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. (2020) Vigilancia Epidemiológica y Manejo del Aislamiento Preventivo. Recuperado en: <https://www.mspbs.gov.py/dependencias/portal/adjunto/c1c79a-ProtocoloVigilanciaEpidemiologica.pdf>

24. Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W. (2020) Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Recuperado en: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2196-x>

25. Interpretación de pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2(2020). Recuperado en: <https://asistenciasanitaria.com.ar/2020/09/30/interpretacion-de-pruebas-diagnosticas-para-sars-cov-2/>

26. OMS. (2000) Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks. Recuperado en: https://www.who.int/ihr/publications/WHO_CDS_CSR_EDC_2000_4/en/

27. Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires (2020) Actualización de uso de las técnicas de diagnóstico disponibles. Recuperado en: <http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/media/files/2020/10/Actualizaci%C3%B3n-de-uso-de-las-t%C3%A9cnicas-de-diagn%C3%B3stico-disponibles.pdf>

28. New England Biolabs. Loop-Mediated Isothermal Amplification. Recuperado en: <https://www.neb.com/applications/dna-amplification-pcr-and-qpcr/isothermal-amplification/loop-mediated-isothermal-amplification-lamp>

29. Ministerio de Salud de la Nación Argentina (2020). Consenso sobre el uso de pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2. Recuperado en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-09/covid-19-consenso-sobre-uso-de-pruebas-diagnosticas-para-sars-cov-2.pdf>

30. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S. (2020) Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. Recuperado en: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD013652/full>
31. OPS (2020) Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19. Recuperado en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52471/OPSIMSPHECOVID-19200038_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
32. Ministerio de Salud de la Nación Argentina (2020). Vigilancia. Recuperado en: <https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus-COVID-19/vigilancia>
33. SATI (2020) Recomendaciones para toma, transporte, envío, procesamiento y descarte de muestras de pacientes sospechosos y/o confirmados de COVID-19. Recuperado en: https://www.sati.org.ar/images/Recomendaciones_COVID_ultimo_2632020.pdf
34. Melendi, S., Pérez M., Salas, C., Haedo, M., Franco, J., Saltos Navarrete, J., Leis Rocío. (2020) Recuperado en: <https://www.medicinabuenosaires.com/indices-de-2020/volumen-80-ano-2020-s-6-indice/covid/>
35. Ludueña, M., Labato, M., Chiaraida, V., Yamuni, J., Finocchietto, P., Pisaresvsky, Ana (2020). Análisis de los primeros 100 pacientes internados por COVID-19 en el Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires. Recuperado en: https://www.medicinabuenosaires.com/indices-de-2020/volumen-80-ano-2020-s-6-indice/analisis_100/

Anexos

Ficha epidemiológica COVID-19



Ministerio de Salud
Argentina

CASO SOSPECHO DE NUEVO CORONAVIRUS (2019-nCoV) FICHA DE NOTIFICACIÓN, INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA Y SOLICITUD DE ESTUDIOS DE LABORATORIO

DEFINICIONES DE CASO

Sospechoso:

1. Pacientes con infección respiratoria aguda grave (IRAG) (fiebre, tos y requerimiento de internación) sin otra etiología que explique completamente la presentación clínica, y
 - a. que tenga un historial de viaje o que haya estado en la ciudad de Wuhan provincia de Hubei, China, u otra zona con circulación viral activa de 2019-nCoV[*], en los 14 días anteriores al inicio de los síntomas, ó
 - b. que sea un trabajador de la salud en un entorno que haya asistido casos sospechosos, probables o confirmados.
2. Un paciente con enfermedad respiratoria aguda con cualquier nivel de gravedad que dentro de los 14 días previos al inicio de la enfermedad tuvo:
 - a. contacto físico cercano con un caso probable o confirmado de infección por 2019-nCoV, ó
 - b. exposición en un centro de salud que ha asistido casos confirmados por 2019-nCoV ó
 - c. Visitado o trabajado en un mercado de animales vivos en cualquier ciudad de China, dentro de los 14 días previos al inicio de los síntomas
 - d. que tenga un historial de viaje o residencia en la ciudad de Wuhan provincia de Hubei, China, una zona con circulación viral activa de 2019-nCoV[*], en los 14 días anteriores al inicio de los síntomas.

*Las zonas que se consideran con circulación viral activa se actualizarán según información oficial de la Organización Mundial de la Salud. Al 28-01-2020 se considera circulación sostenida únicamente la ciudad Wuhan

Probable: Caso sospechoso en el que se haya descartado Influenza por PCR2 y que presente una prueba positiva para pancoronavirus y negativa para los coronavirus MERS-CoV, 229E, OC43, HKU1 y NL63.

Confirmado: Todo caso probable que presenta una secuencia genómica homóloga al 2019-nCoV.

**Los casos deberán notificarse de forma inmediata a través del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS2.0)¹
Solo se procesarán muestras de casos que cumplan con la definición de caso sospechoso.**

IDENTIFICACIÓN DE LA INSTITUCIÓN

Establecimiento notificador

Localidad Provincia Fecha de notificación / /

Datos del médico

Tel. celular Correo electrónico

IDENTIFICACIÓN DEL CASO / ID CASO / EVENTO EN EL SNVS

Apellido y Nombre Tipo y N° de documento

Lugar de residencia: Provincia Departamento Localidad

Calle N° Piso Depto. Cód. Postal

Teléfono Fecha de nacimiento / / Edad Sexo

INFORMACIÓN CLÍNICA

Fecha de Inicio de 1° síntomas (FIS): / / Semana epidemiológica de FIS

Fecha de 1ª consulta / / Establecimiento de 1ª consulta

Ambulatorio Internado

Fecha de Internación / / Establecimiento internación

Terapia Intensiva: SI NO Fecha internación UTI / / Requerimiento de ARM SI NO

1. Si tiene dudas sobre el procedimiento para la notificación puede consultar en:
<https://www.argentina.gob.ar/salud/epidemiologia> o por correo electrónico a notifica@msal.gov.ar



CASO SOSPECHO DE NUEVO CORONAVIRUS (2019-nCoV)
FICHA DE NOTIFICACIÓN, INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA
Y SOLICITUD DE ESTUDIOS DE LABORATORIO

SIGNOS Y SÍNTOMAS

Fiebre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$)	Tos	Dolor de garganta	Odinofagia
Taquipnea/Disnea	Tiraje	Insuficiencia respiratoria	Dolor torácico
Diarrea	Vómitos	Dolor abdominal	Rechazo del alimento
Artralgias	Mialgias	Cefalea	Irritabilidad/confusión
Malestar general	Evidencia radiológica de neumonía	Inyección conjuntival	Convulsiones
Coma	Otros (especificar):		

ENFERMEDADES PREVIAS /COMORBILIDADES

Presenta No Presenta

Inmunosupresión congénita o adquirida	Enfermedad neurológica	Bronquiolitis previa
Diabetes	Enfermedad hepática	N.A.C. previa
Obesidad	Enfermedad Renal Crónica	EPOC
Embarazo	Hipertensión arterial	Asma
Puerperio	Insuficiencia cardíaca	Tuberculosis
Prematuridad (..... semanas)	Enfermedad oncológica	Ninguna de las anteriores
Bajo Peso al nacer (..... gr)	Otros (especificar):	

Tratamientos:

Antibiótico: fecha de inicio / /

Antiviral: fecha de inicio / /

Resultado: En curso Terminado

Resultado: En curso Terminado

Estado al momento del reporte:

Recuperado No recuperado Fallecido Fecha: / /

Diagnóstico:

Sme gripal Bronquitis Neumonía Otros (especificar):
.....

ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS

Ocupaciones:

Trabajador de atención de la salud Trabajador de laboratorio Trabaja con animales

Antecedentes de vacunación:

Antigripal Fechas: / / / /

Viajes y otras exposiciones riesgo:

• ¿Ha viajado o residido en una zona de riesgo conocida fuera del país en los últimos 14 días previos al inicio de síntomas?

NO SI ¿Dónde?..... Desde / / Hasta / /
(País y ciudad)

Viajó en avión Barco Omnibus

Fecha de ingreso al país: / / Compañía:

• ¿Ha viajado o residido en una zona dentro del país (distinto del domicilio) en los últimos 14 días previos al inicio de síntomas?

NO SI ¿Dónde?..... Desde / / Hasta / /
(Domicilio)



ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS

• ¿Ha concurrido a un centro de salud que ha asistido casos confirmados por 2019-nCoV dentro de los 14 días previos al inicio de los síntomas?

NO SI Nombre del centro: Ciudad:
Fecha: / /

• ¿Estuvo en contacto con animales dentro de los 14 días previos al inicio de los síntomas?

Cerdos Aves Camélidos Mercado de animales vivos

Otros (especificar):

• ¿Tuvo contacto cercano² con personas con infección respiratoria aguda dentro de los 14 días previos al inicio de síntomas?

NO SI En entorno asistencial En entorno familiar En entorno laboral

Otros (especificar):

• ¿Tuvo contacto estrecho con casos probables o confirmados dentro de los 14 días previos al inicio de síntomas?

NO SI Apellido y nombre del caso: DNI o DE:

País y área en la que tuvo la exposición:

LABORATORIO

Tipo de muestra tomada:

Aspirado Hisopado Espudo Lavado broncoalveolar Otra (especificar):

Fecha de toma de muestra: / / Fecha de derivación al LNR: / /

DATOS DE PERSONAS CON LAS QUE EL CASO ESTUVO EN CONTACTO ESTRECHO DURANTE EL PERÍODO SINTOMÁTICO

APELLIDO Y NOMBRE	DNI	TELÉFONO	DOMICILIO	FECHA ÚLTIMO CONTACTO	TIPO

COMENTARIOS:

Datos del personal que notifica:

Nombre y Apellido:

Firma y sello:

2. Se define contacto estrecho como:

- Toda personas y personal de salud que haya proporcionado cuidados a un caso sospechoso probable ó confirmado mientras el caso presentaba síntomas y que no hayan utilizado las medidas de protección adecuadas.
- Cualquier persona que haya permanecido a una distancia < 2 metros, (ej. convivientes, visitas) con un caso probable o confirmado mientras el caso presentaba síntomas.
- Se considera contacto estrecho en un avión a los pasajeros situados en un radio de dos asientos alrededor de casos sintomáticos durante el vuelo y a la tripulación que haya tenido contacto con dichos casos.