



**Desactualizado,  
vea la versión  
mayo 2020**

Gobierno del Estado Plurinacional de  
**BOLIVIA**  
Ministerio de Salud

**PROTOCOLO PARA EL  
DIAGNÓSTICO DE  
LABORATORIO, EN EL  
MARCO DE LA  
EMERGENCIA  
SANITARIA POR  
COVID-19**



Serie: Documentos Técnico Normativos

La Paz - Bolivia  
2020

Desactualizado,  
vea la versión  
mayo 2020



**PROTOCOLO PARA EL  
DIAGNÓSTICO DE  
LABORATORIO, EN EL  
MARCO DE LA  
EMERGENCIA  
SANITARIA POR  
COVID-19**



Serie: Documentos Técnico Normativos

La Paz, Bolivia  
2020

Desactualizado,  
vea la versión  
mayo 2020

FICHA BIBLIOGRÁFICA



**PROTOCOLO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO, EN EL MARCO DE LA EMERGENCIA SANITARIA POR COVID-19**

Viceministerio de Salud y Promoción - Ministerio de Salud, Plaza del Estudiante s/n; Telf.- Fax 2492848. [www.minsalud.gob.bo](http://www.minsalud.gob.bo)

R.M. No. **xxxx**

**Elaboración:**

- **Ministerio de Salud** (Anexo Editorial)

**Revisión Técnica:**

- **Ministerio de Salud** (Anexo Editorial)
- **Servicios de Laboratorios de Diagnóstico e Investigación en Salud – UMSA** (Anexo Editorial)

La Paz: Viceministerio de Salud y Promoción – Ministerio de Salud. 2020

© Ministerio de Salud 2020

Esta publicación es propiedad del Ministerio de Salud del Gobierno del Estado Plurinacional de Bolivia, se autoriza su reproducción total o parcial, siempre que los fines no sean de lucro, a condición de citar la fuente y la propiedad.

*Impreso en Bolivia*

**MINISTERIO DE SALUD  
AUTORIDADES NACIONALES**

Dr. Marcelo Navajas Salinas  
**MINISTRO DE SALUD**

Dra. María Eidy Roca de Sanguenza  
**VICEMINISTRA DE SALUD Y PROMOCIÓN a.i.**

Dra. Graciela Enriqueta Minaya Ramos  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS DE SALUD**

Dr. Juan Carlos Araya Tejada  
**JEFE DE LA UNIDAD DE REDES DE SERVICIOS DE SALUD Y CALIDAD**

Dr. Américo Maldonado Alanoca  
**COORDINADOR NACIONAL DE LABORATORIOS a.i.**

## PRESENTACIÓN

El Ministerio de Salud en el marco de la Situación Sanitaria que atraviesa el país, ha trazado sus lineamientos estratégicos para poder garantizar acciones de preparación, contención y mitigación del COVID-19.

Uno de los grandes ejes estratégicos está constituido por el fortalecimiento de la red de laboratorio, el cual tiene la finalidad de garantizar la capacidad de diagnóstico del SARS-CoV-2 en todo el territorio nacional.

Cabe señalar que hoy en día existen muchos tipos de pruebas de laboratorio; sin embargo, la recomendada es la técnica de Biología Molecular (PCR-TR), por su capacidad diagnóstica, niveles de especificidad y sensibilidad.

Tomando en cuenta que hoy el país se encuentra cursando fase de transmisión comunitaria, las estrategias para diagnóstico y clasificación de población están siendo actualizadas, implementando las pruebas rápidas serológicas, para la realización de screening. Estas pruebas, si bien no son concluyentes, permitirían una estimación de la situación inmunológica del paciente.

A razón de todo lo anteriormente mencionado, es que se elaboró el **“PROTOCOLO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO, EN EL MARCO DE LA EMERGENCIA SANITARIA POR COVID-19”**.



Dr. Marcelo Navajas Salinas

**MINISTRO DE SALUD**

## INTRODUCCIÓN

Los coronavirus constituyen un grupo de virus tipo ARN altamente diversos de la familia Coronaviridae, los cuales se dividen en 4 géneros: alfa, beta, gamma y delta, estos virus causan enfermedades en grados leves a graves en humanos y animales. Dentro de los Coronavirus que afectan a humanos se pueden señalar: el alfacoronavirus 229E y NL63 y los betacoronavirus OC43 y HKU1, los cuales pueden causar enfermedades de tipo influenza o neumonía. De igual manera se tiene dos coronavirus zoonóticos que causan enfermedades graves en humanos y han emergido en estos últimos años, nos referimos al coronavirus del Síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV), con brotes en los años 2002-2003 y el coronavirus del Síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV), el cual apareció por primera vez en el año 2012.

En enero de 2020, se detectó como agente etiológico responsable de un grupo de casos de neumonía grave suscitados en Wuhan - China, como un nuevo betacoronavirus, distinto del SARS-CoV y MERS-CoV mencionados anteriormente. El 11 de febrero de 2020, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) anunció la denominación del virus como coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2), mientras que, el mismo día, la OMS nombró la enfermedad como enfermedad por coronavirus COVID-19.

El marzo de 2020, la OMS actualizó su guía provisional sobre las pruebas de laboratorio para la enfermedad por coronavirus (COVID-19) en casos humanos sospechosos que incluye información sobre la toma y envío de muestras, pruebas de laboratorio, e informes de casos y resultados.

## INDICE

1. Antecedentes
2. Definiciones
3. Alcance
4. Objetivo
  - 4.1. Objetivo General
  - 4.2. Objetivos Específicos
5. Red de Laboratorios autorizados para Diagnóstico del COVID-19
6. Opciones de Diagnóstico
  - 6.1. Métodos Moleculares
    - 6.1.1. Ensayos basados en PCR
    - 6.1.2. Toma de muestras PCR/RT: COVID-19
    - 6.1.3. Preparación para toma de muestra
    - 6.1.4. Procedimiento para toma de muestra
    - 6.1.5. Conservación, embalaje y transporte
    - 6.1.6. Ventajas de la Técnica PCR
    - 6.1.7. Limitaciones de la técnica PCR
  - 6.2. Pruebas rápidas moleculares
  - 6.3. Métodos Inmunológicos
    - 6.3.1. Ventajas de los test serológicos en tira reactiva
    - 6.3.2. Limitaciones de los test serológicos en tira reactiva
    - 6.3.3. Pautas a seguir ante resultado positivo:
    - 6.3.4. Pautas a seguir ante resultado negativo:
  - 6.4. Propuesta Vigilancia Serológica.
  - 6.5. Recomendaciones.

Desactualizado,  
vea la versión  
mayo 2020

## 1. ANTECEDENTES

El Ministerio de Salud ha venido realizando el seguimiento del nuevo coronavirus (COVID-19) desde el 31 de diciembre de 2019, cuando la Organización Mundial de la Salud, informó el brote de casos de neumonía de causa desconocida en China, basados en ello, se trabajó en la Planificación Estratégica Nacional de preparación, contención y mitigación del COVID-19, implementando todas las medidas necesarias para enfrentar su llegada desde el pasado 10 de marzo del 2020, con la contención de casos y contactos. Como respuesta se tiene el fortalecimiento gradual de los procesos asociados a la prevención, diagnóstico y control del Virus.

## 2. DEFINICIONES

- **COVID-19:** La enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2 fue denominada como “COVID-19” el 11 de febrero de 2020.
- **SARS-CoV-2:** Versión acortada del nombre del nuevo coronavirus “Coronavirus 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Grave” (identificado por primera vez en Wuhan, China) asignado por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus, encargado de nombrar a los nuevos virus.
- **Prueba Diagnóstica por laboratorio:** Procedimiento de laboratorio que analiza una muestra de sangre, orina u otra sustancia del cuerpo, para apoyo a la determinación de un diagnóstico, planificación y control si el tratamiento es eficaz, o contribuyen a la vigilancia de la enfermedad a lo largo del tiempo.
- **Prueba confirmatoria por laboratorio para COVID-19:** Detección del ácido nucleico (ARN) del SARS-CoV-2 mediante ensayos moleculares con la técnica del PCR/TR, la cual tiene una alta sensibilidad y especificidad, siendo el Gold Standart para el Diagnóstico Molecular de COVID -19, recomendada por la OPS/OMS.
- **Pruebas rápidas:** Ensayo inmunocromatográfico cualitativo basado en la detección de anticuerpos IgG e IgM contra SARS-CoV-2 en muestras de Sangre, suero o plasma
- **Sensibilidad:** Capacidad de la prueba de ensayo para detectar a un sujeto enfermo, es decir expresa la presencia de la enfermedad.
- **Especificidad:** Capacidad que tiene la prueba para detectar a un caso negativo, es decir existe ausencia de la enfermedad.
- **Valor predictivo positivo:** Es la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba positiva tengan realmente la enfermedad.

- **Valor predictivo negativo:** Es la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba negativa NO tengan realmente la enfermedad
- **Validación de pruebas de laboratorio:** Es el proceso que establece mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño de la prueba, cumplen con los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas.
- **Características de desempeño de una prueba:** se refiere a los parámetros y medidas que tiene una prueba con el fin de evaluar su desempeño, entre los cuales están: sensibilidad, especificidad, exactitud, precisión, límite de detección entre otros.
- **Tamizaje:** se refiere a las pruebas realizadas de forma estandarizada a un determinado grupo poblacional con el fin de conocer el estado en el que se encuentra, en torno a una situación médica a una enfermedad o a un estado de inmunidad.

### **3. ALCANCE**

El presente documento se aplicará en toda la red de laboratorios autorizados para la detección del COVID-19.

### **4. OBJETIVO**

#### **4.1. Objetivo General**

- Definir los lineamientos para el diagnóstico laboratorial del COVID-19 en el Sistema Nacional de Salud.

#### **4.2. Objetivos Específicos**

- Definir los establecimientos que forman parte de la red de laboratorios autorizados para el diagnóstico del COVID-19.
- Determinar la secuencia de procesos para el diagnóstico del COVID-19, implementados en el territorio nacional.
- Establecer los métodos diagnósticos para el COVID-19.
- Determinar las diferentes conductas a seguir acorde a resultados obtenidos.

### **5. RED DE LABORATORIOS AUTORIZADOS PARA DIAGNÓSTICO DEL COVID-19 (PCR/TR)**

Dentro de la Estrategia Nacional de Salud, Bolivia cuenta con los siguientes laboratorios autorizados para diagnóstico del COVID-19.

**Cuadro N°1.** Distribución y estado de laboratorios Públicos a nivel nacional, por el método (PCR-TR) para diagnóstico de COVID-19.

N°	DEPARTAMENTO	LABORATORIO/HOSPITAL	ESTADO ACTUAL
1	Chuquisaca	SEDES/Hospital Pedro Claver	Implementado.
2	Tarija	Laboratorio de Referencia Departamental – (SEDES)	Implementado.
3	Cochabamba	Laboratorio de Referencia Departamental – (SEDES)	Implementado.
4	La Paz	Laboratorio de Referencia Nacional - INLASA	Implementado.
5	Potosí	HOSPITAL BRACAMONTE	Implementación en julio 2020
6	Oruro	HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS	Implementación en junio 2020
7	Santa Cruz	LRN - CENETROP	Implementado
		C.S. DM-5 “REMANZO”	Implementación finales de mayo 2020
8	Beni	Laboratorio de Referencia Departamental – (SEDES)	Implementado

Fuente: Coordinación Nacional de Laboratorio – URSSyC – Ministerio de Salud.

Es preciso señalar que mediante Resolución Ministerial N°0168/2020, se autoriza de manera excepcional a los Laboratorios de los Subsistemas Público, Seguridad Social a corto Plazo y Privado de Salud, Universidades y Policía Boliviana para realizar el diagnóstico molecular para casos sospechosos de COVID-19 identificados en el país.

## 6. MÉTODOS DIAGNÓSTICO

La Organización Mundial de la Salud recomienda el uso de ensayos moleculares basados en la reacción en cadena de la polimerasa, como herramienta “Gold Standart” para el diagnóstico del COVID-19.

Hasta el momento no existen pruebas rápidas (inmunocromatográfica o detección con oro coloidal) que hayan sido autorizadas por autoridades reguladoras competentes y/o formalmente validadas. En general, este tipo de ensayos tienen una sensibilidad baja. Por eso, su valor predictivo positivo es bueno (pueden ser usadas para confirmar) pero su valor predictivo negativo es bajo (no deben ser usadas para descartar un caso).

Existen varios ensayos (tanto pruebas rápidas como ELISA) disponibles en el mercado para la detección de anticuerpos IgM/IgG que se comercializan para la detección de las infecciones por el virus COVID-19. Sin embargo, estas pruebas no están recomendadas para su uso al día de hoy. Este tipo de pruebas puede estar limitado debido a la reactividad cruzada con otros coronavirus que normalmente están presentes en la comunidad y que hacen difícil la interpretación de los resultados. Además, en la actualidad la dinámica de la respuesta y producción de anticuerpos durante las diferentes fases de la infección no está completamente establecida, lo cual limita aún más el uso de estas pruebas. Algunos estudios han demostrado que durante los primeros 7 días desde el inicio de síntomas, menos de un 40% de pacientes presentan anticuerpos detectables. Así, estos ensayos no deben ser usados para descartar un caso durante los primeros días de enfermedad. Asimismo, la detección de anticuerpos después del día 7 solo indica contacto previo con el virus, pero no dice nada respecto a la presencia y excreción del virus. Los anticuerpos así detectados podrían resultar de una infección previa y no de la infección aguda para la cual se está requiriendo el diagnóstico.

## **6.1. MÉTODOS MOLECULARES**

### **6.1.1. REACCIÓN DE LA CADENA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (PCR/TR)**

Hasta ahora, los ensayos basados en PCR son el método universal para el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2, ya que el PCR también es el método más utilizado y confiable en la detección de otros agentes infecciosos, se lo considera de mayor confiabilidad. Actualmente, la PCR en tiempo real es el método más sensible para detectar y cuantificar los ácidos nucleicos. Aun teniendo una cantidad muy pequeña de templado, el sistema garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia. Una de sus aplicaciones más usadas es para cuantificar cambios muy pequeños en la expresión génica mediante la detección de los niveles del ARNm procedente de células o tejidos. Este método tiene como grandes ventajas la rapidez con la que se pueden diseñar protocolos de diagnóstico a partir de la identificación del agente infeccioso y su alta precisión en la detección de patógenos. El protocolo para SARS-CoV-2 se basa en la detección de dos marcadores en el genoma del virus: el gen E, utilizado como tamizaje, seguido de la confirmación de los positivos al gen E a través de la detección del gen RdRP.

Aunque la recomendación para la confirmación de casos en el laboratorio es detectar dos marcadores genéticos diferentes (gen E seguido por gen RdRP, como se describe anteriormente para el protocolo Charité), una vez que se establece y se extiende la circulación del virus COVID-19 en un área / país dado, ya no es necesario ejecutar la PCR para ambos genes. Por lo tanto, se

puede implementar la confirmación mediante la detección de un solo marcador genético, por lo que se pueden usar los genes E o RdRP para el diagnóstico; sin embargo, la PCR-RT del gen E ha demostrado una sensibilidad ligeramente mayor, por lo que se recomienda priorizar el gen E como el marcador seleccionado.

### **6.1.2. Toma de Muestras RT-PCR**

El personal encargado de la toma de muestra debe cumplir los protocolos de bioseguridad y cuidados básicos para este procedimiento.

### **6.1.3. Pasos para toma de muestra**

Antes del procedimiento de toma de la muestra el profesional debe tener listo y a mano todo el material necesario.

#### **a) Debe utilizar:**

- Bata de laboratorio desechable.
- Protector respiratorio (N95).
- Guantes de nitrilo (en caso de no tener los de nitrilo, puede usar doble guante de látex).
- Gafas protectoras con cubierta lateral superior e inferior (antes y después de uso, estas deben ser desinfectadas con alcohol al 70%).

El laboratorio debe contar la siguiente información:

#### **b) Datos del paciente**

- Nombre el paciente.
- Sexo.
- Dirección.
- Nombre del establecimiento de salud que remitió la muestra.
- Número de habitación.
- Nombre del médico tratante.
- Datos de contacto.

#### **c) Información de la toma de muestra**

- Fecha y hora de recolección de muestras.

- Sitio anatómico y ubicación de la colección de muestras.
- Pruebas solicitadas.
- Síntomas clínicos y antecedentes relevantes del paciente. (Incluyendo vacunación, tratamientos anteriores, información epidemiológica, y factores de riesgo).

#### **d) Toma de muestra**

Las muestras requeridas para el diagnóstico de SARS-CoV-2 son:

- Muestras recolectadas del tracto respiratorio inferior, incluidas el esputo, el lavado bronco alveolar.
- Aspirado traqueal (cuando sea posible según los criterios médicos).
- Sin embargo, cuando la toma de una muestra del tracto respiratorio inferior no es posible, las muestras del tracto respiratorio superior también son útiles.

#### **Conservación de la muestra**

- Lavado broncoalveolar y aspirado traqueal: Recoja 2-3ml., en un recipiente estéril.
- Refrigere la muestra a 2-8°C hasta enviar al laboratorio.
- Esputo: Haga que el paciente se enjuague la boca con agua y luego expectore directamente en un recipiente estéril. Refrigere la muestra a 2-8°C hasta enviar al laboratorio.

El profesional que realice la toma de muestras debe portar todos los elementos de protección personal descritos. Verificar de tener a mano todos los insumos necesarios para la recolección de las muestras (hisopos de dacron, es importante no utilizar hisopos con mango de madera o cabeza de algodón ya que pueden interferir en las pruebas de PCR) medio de transporte viral, material para identificar las muestras).

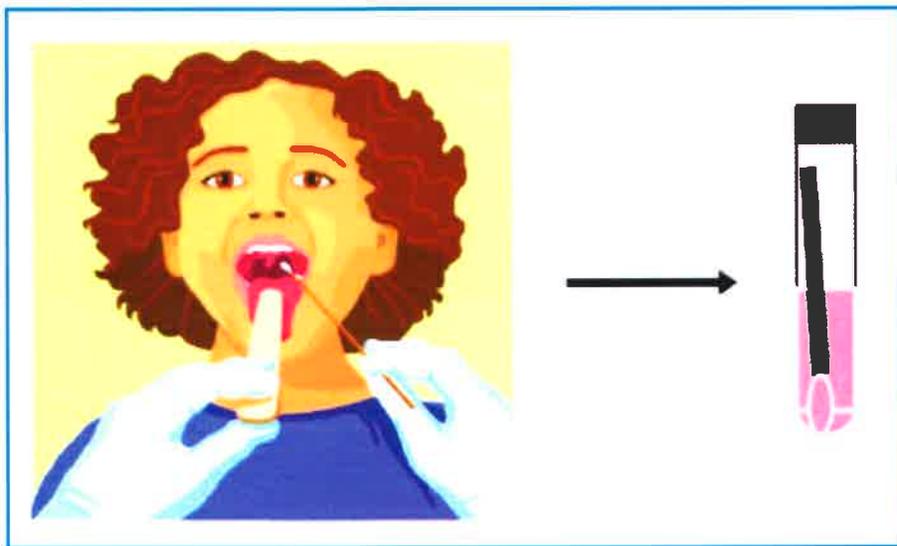
#### **6.1.4. Procedimiento para toma de muestra.**

- Registre el tubo o los tubos con el nombre del paciente.
- Lávese las manos antes de colocar los elementos de protección personal.
- Realice la prueba de ajuste al protector respiratorio.
- Solicite al paciente que abra la boca.
- Sujete la lengua del paciente con depresor de lengua.
- Introduzca el hisopo con firmeza hasta la pared posterior de la garganta (orofaringe) frote con movimientos circulares para obtener células infectadas, evite tocar la úvula para no

provocar vomito al paciente.

- Una vez recolectada la muestra Introduzca el hisopo en el tubo que contiene el medio de transporte viral.
- Cerrar el tubo perfectamente y mantenerlo de 2 a 8°C hasta su recepción en el laboratorio.
- Lávese las manos antes de retirarse del área donde se tomó la muestra
- Lávese las manos antes de retirar todos los elementos utilizados en la toma de muestras.

**Figura N°1.** Toma de muestra de exudado faríngeo



Fuente: Guía para el manejo del COVID-19 – Ministerio de Salud Bolivia.

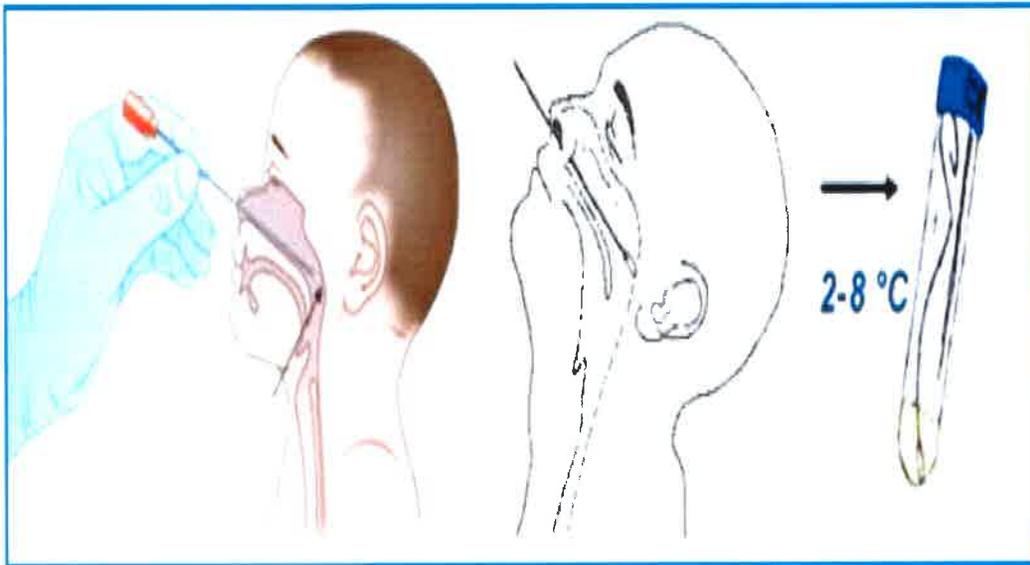
### **Exudado nasofaríngeo**

La forma adecuada para tomarlo y obtener una buena muestra es la siguiente:

- Registre el tubo o los tubos con el nombre del paciente.
- Higienizar las manos antes de colocar los elementos de protección personal.
- Realice la prueba de ajuste al protector respiratorio.
- Recostar al paciente y elevar un poco su cabeza.
- Introducir por una fosa nasal, suavemente el hisopo, paralelo al paladar, casi en su totalidad hasta llegar a la nasofaringe (aproximadamente 2.5 cm en adultos y un poco menos en niños).
- Rotar el hisopo suavemente para frotar la pared de la nasofaringe (al frotar se obtienen células infectadas por el virus).
- Retirar cuidadosamente sin dejar de rotar.

- Introducir el hisopo en el tubo que contiene el medio de transporte viral.
- Cerrar el tubo perfectamente y mantenerlo de 2 a 8°C.

**Figura N° 2. Toma de muestra de exudado nasofaríngeo**



Fuente: Clinical Microbiology Department, Ramon y Cajal Hospital, Madrid.

#### **6.1.5. Conservación, embalaje y transporte**

Las muestras deben mantenerse refrigeradas (4-8°C) y enviarse al laboratorio donde se procesarán dentro de las 24-72 horas de la toma. Si no se pueden enviar muestras dentro de este período, se recomienda congelarlas a -70°C (o menos) hasta que se envíen (asegurando que se mantenga la cadena de frío).

El transporte de las muestras debe realizarse con geles o pilas congeladas, temperaturas superiores a 8°C degradan la partícula viral, obteniéndose falsos negativos. Muestras que lleguen al laboratorio con temperaturas superiores a 8°C, no serán procesadas.

Para el transporte de muestras debe usarse el sistema básico de Triple Empaque. De acuerdo a las normativas vigentes para el transporte seguro de sustancias infecciosas.

El embalaje debe constar de tres componentes:

- a) Recipiente principal o primario hermético: es el que contiene la muestra
- b) Embalaje secundario/contenedor secundario hermético: debe ser resistente y anti fugas.
- c) Embalaje exterior rígido adecuado: cuenta con una superficie de una dimensión de al menos 10 cm x 10 cm.

**Figura N° 3. Alternativas de triple empaque**



Fuente: Recomendaciones para el embalaje y envío apropiado por vía terrestre, de muestras potencialmente infecciosas con agente altamente patógenos. OPS /OMS

El envío de la muestra debe coordinarse con la Unidad de Epidemiología de los SEDES.  
Todas las muestras deben enviarse con una copia de la Ficha Epidemiológica.

#### 6.1.6. Ventajas de la Técnica PCR

- Técnica bien establecida, comercializada por multitud de compañías.
- Fácilmente adaptable a tantas secuencias diana como sea necesario en un tiempo relativamente corto, una vez se conoce la secuencia genómica a detectar.
- Producción fácilmente escalable a millares de kits de detección (cócteles de reactivos conteniendo las ondas de reconocimiento).
- Elevada especificidad, debido a la elección precisa de zonas del genoma exclusivas de la diana a detectar.
- Elevada sensibilidad debido al proceso inherente de amplificación exponencial.

#### 6.1.7. Limitaciones de la Técnica PCR

- Requiere de personal altamente especializado para minimizar uno de sus principales

problemas: la contaminación inherente. Una purificación y aislamiento no adecuado del material genómico puede conducir a resultados erróneos (tanto falso positivos como negativos) debido a amplificaciones de secuencias ajenas que alteran la interpretación de resultados. También requiere de instrumentación especializada por lo que limita su uso a laboratorios especializados.

- La técnica conlleva problemas de reproducibilidad y fiabilidad, lo que dificulta su estandarización para llevar a cabo por personal no especializado.
- Tiempo de resultado (time-to-result) relativamente largo (requiere de 2 a 5 h para la obtención de resultados). Esto se convierte en un factor limitante cuando hay que procesar y analizar un gran número de muestras como en la situación actual.
- Técnica relativamente costosa, sin considerar la instrumentación necesaria.

**Es importante señalar que esta prueba de laboratorio es la más recomendada para el diagnóstico del COVID-19.**

## **6.2. PRUEBAS RÁPIDAS MOLECULARES**

El GeneXpert es un equipo automatizado e íntegro el cual realiza la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en muestras simples y complejas usando técnicas de reacción en cadena de polimerasa (PCR) en tiempo real. El sistema es adecuado para aplicaciones de diagnóstico *in vitro* que requieren procesamiento automático de muestras de pacientes y proporciona datos resumidos y detallados de los resultados de las pruebas en formatos tabular y gráfico. Es el único sistema que combina preparación de la muestra on-board con amplificación real-time PCR y RNA automatizado. Este sistema purifica, concentra, detecta e identifica secuencias específicas de ácidos nucleicos, proporcionando resultados directamente de muestras sin preparar, el Sistema modular le permite procesar diferentes muestras de forma independiente.

El GeneXpert tiene una plataforma que consiste en un sistema cerrado de biología molecular que utiliza cartuchos desechables de un solo uso que son independientes para el procesamiento de la prueba. Con ello, se reduce al mínimo el riesgo de contaminación cruzada entre las muestras y permite realizar un examen de biología molecular con bajos requerimientos de bioseguridad e infraestructura.

El cartucho del GeneXpert funciona como un mini laboratorio de biología molecular, en

cuyo interior se realizan todos los pasos para realizar la PCR en tiempo real: la liberación del ARN, la combinación con los reactivos, la amplificación y la detección a través de fluorescencia liberada por sondas específicas. Para ello, el cuerpo del cartucho se encuentra segmentado en distintas cámaras, las que contienen todas las soluciones y reactivos necesarios para la realización de la técnica.

Entre sus ventajas y desventajas de esta técnica están:

#### **6.2.1. Ventajas de la técnica GeneXpert**

- Pruebas diarias o a demanda
- Tiempo de manipulación de menos de 1 minuto
- Compatible con cualquier volumen de laboratorio
- No requiere de salas específicas para PCR-RT
- Incluye software que interpreta los resultados
- Sin mantenimiento diarios ni gestión de residuos líquidos
- Permite realizar varias pruebas diferentes en la misma plataforma en cualquier momento.
- Tiempo de reacción de 45 minutos.

#### **6.2.2. Limitaciones de la técnica GeneXpert**

- Sistema cerrado
- Menor número de muestras procesadas.

**Cuadro N°2.** Distribución de laboratorios Públicos para diagnóstico de COVID-19 a nivel nacional por el método GeneXpert.

N°	DEPARTAMENTO	MUNICIPIO	LABORATORIO/HOSPITAL	ESTADO ACTUAL
1	Beni	Trinidad	Laboratorio de Referencia Departamental / SEDES	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
		Riberalta	Hospital de 2do. Nivel Riberalta	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
		Rurrenabaque	Hospital Rurrenabaque	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
2	Cochabamba	Cercado	Hospital del Sur	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
3	La Paz	El Alto	Laboratorio de Referencia Departamental - CRA	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
		La Paz	Laboratorio de Referencia Nacional - INLASA	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
4	Pando	Cobija	Hospital de 3er. Nivel	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
5	Potosí	Potosí	Hospital Bracamonte	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
6	Oruro	Oruro	Hospital San Juan de Dios	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)
7	Santa Cruz	Santa Cruz	Centro de Salud Integral DM-5 Remanso	Solo a la espera de cartuchos (Finales de mayo)

Fuente: Coordinación Nacional de Laboratorio – URSSyC – Ministerio de Salud.

### 6.3. MÉTODOS INMUNOLÓGICOS

A través de los inmunoensayos, se puede obtener evidencia diagnóstica sobre la exposición viral de un paciente. Estos ensayos generalmente constan de un “cassette” con una membrana de nitrocelulosa que contiene los reactivos de captura inmovilizados, así como un detector del mismo virus o de los anticuerpos contra el virus producido por el paciente. Estas pruebas se basan en el reconocimiento anticuerpo-antígeno, mediante uno de dos mecanismos de captura: el primero,

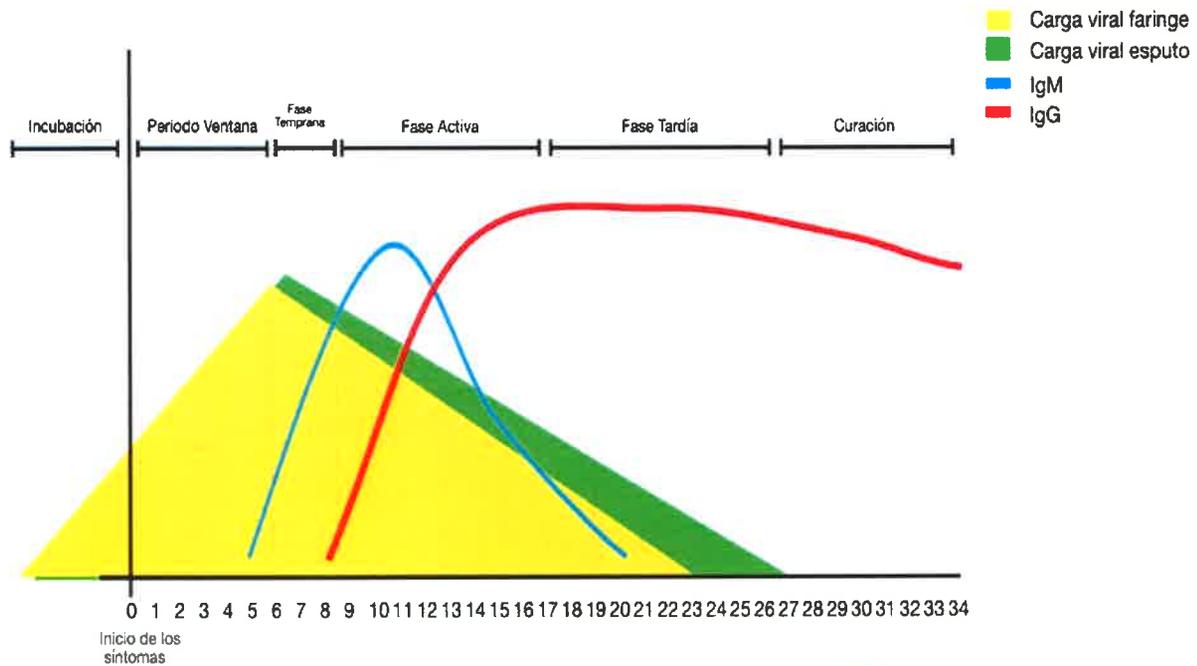
que utiliza anticuerpos monoclonales (mAbs) para detectar antígenos virales, y el segundo, que usa antígenos virales clonados para detectar anticuerpos de pacientes contra el virus. En ambos casos, si el test resulta positivo, se observará una línea de color visible, generado por la unión mAb de captura - muestra - mAb del detector. Bastan dos gotas de sangre para revelar la presencia o ausencia del virus.

Para el caso del SARS-CoV-2, las pruebas rápidas inmunológicas (serológicas) son anti IgG y anti IgM para detectar anticuerpos policlonales (pAbs) contra el virus. Este tipo de pruebas son más rápidas que la detección del virus, ya que sólo incorporan el antígeno viral recombinante inmovilizado (que es mucho más fácil de generar que los mAbs contra el virus). Ofrecen niveles de precisión similares a las pruebas basadas en mAbs.

Para que el kit sea adecuado para las diferentes etapas de la infección por COVID-19, fue perfeccionada una prueba de anticuerpos combinados IgG/IgM, cuya sensibilidad de detección es mayor que la de la prueba individual con anticuerpos IgG o IgM separados. Por lo tanto, es recomendable el uso de kits de prueba de anticuerpos combinados IgG-IgM en lugar de kits de prueba de anticuerpos IgG o IgM por separado. Es importante mencionar que este método tiene importantes limitaciones. En el estudio de Zhengtu y colaboradores (2020), se reportó que los kits de prueba de anticuerpos combinados IgG-IgM resultaban en una alta tasa de falsos negativos y se observó que la principal razón de falsos negativos es la baja concentración de anticuerpos. En efecto, cuando los niveles de IgM e IgG están por debajo del límite de detección (aún no determinado) de esta prueba rápida, los resultados de la prueba serán negativos. Además, la diferencia en la producción de anticuerpos de respuesta inmune de cada persona podría también resultar en falsos negativos en pacientes infectados. Finalmente, ya que el anticuerpo IgM disminuye y desaparece después de 2 semanas, las pruebas que se realicen después de este periodo de tiempo, que evalúen únicamente este anticuerpo, podrían reportar falsos negativos. En algunos casos, es difícil saber exactamente cuándo estuvo infectado el paciente o cuánto tiempo estuvo infectado.

A pesar de sus limitaciones, este tipo de pruebas resulta de gran utilidad a la hora de realizar un cribado poblacional bajo las condiciones en las que actualmente están los diferentes países.

Figura N°4. Prueba rápida serológica, detección de anticuerpos en la línea del tiempo.



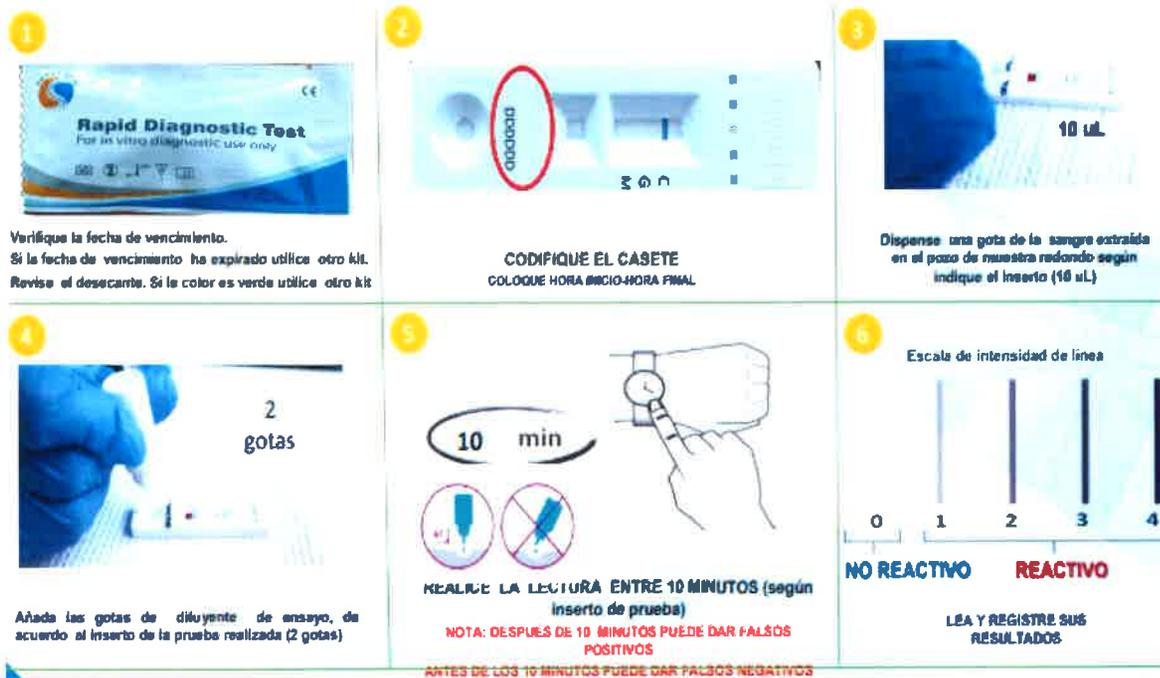
Fuente: <https://www.nefrologiaaldia.org/es-articulo-coronavirus-rinon-ultimas-novedades-12-297>

Figura N°5. Técnica para la obtención de sangre, para prueba rápida serológica.



Fuente: Elaboración Propia.

Figura N°6. Uso de la Prueba Rápida.



Fuente: Elaboración Propia.

### 6.3.1. Ventajas de los test serológicos en tira reactiva

- Rapidez (entre 5-15 min entre extracción de muestras y resultados).
- Muestra de sangre capilar, lo que implica extracción sencilla mínimamente invasiva. Muestras con baja o nula carga viral y por tanto no infecciosas (no se espera presencia del virus en estas muestras).
- Es una técnica bien establecida y adaptable a diferentes formatos de diagnóstico una vez se dispone de los antígenos más adecuados para preparar los test.
- Producción masiva y bajo costo.
- Puede ser utilizada directamente en el sitio de toma de muestra, no requiere de instrumentación compleja externa, y no requiere de personal especializado para su análisis ni para la lectura de los resultados.

### 6.3.2. Limitaciones de los test serológicos en tira reactiva

- Limitada sensibilidad. Posibilidad elevada de falsos negativos.
- Problemas de reproducibilidad (de lote a lote). Problemas de falsos positivos y/o negativos.
- Respuesta esencialmente cualitativa (tipo SÍ/NO).

- El sistema inmunológico requiere un tiempo para activarse y generar los anticuerpos (entre 2-3 días, o incluso más dependiendo del estado de salud de cada persona).
- Variabilidad inherente la respuesta inmune de cada individuo.

### **6.3.3. Significado de resultado positivo**

- Demuestra que la persona tiene anticuerpos que probablemente surgieron de una infección por SARS-CoV-2 o posiblemente por un coronavirus relacionado.
- No se sabe con certeza si los anticuerpos formados puedan brindar protección (inmunidad) y evitar que la persona vuelva a infectarse. Esto quiere decir que no se garantiza que los anticuerpos formados vuelvan inmune al organismo frente al virus.
- Si no tiene síntomas, probablemente no tenga una infección activa y no sea necesario hacer un seguimiento adicional.
- Si la persona presenta síntomas, necesitaría una prueba de Biología Molecular (PCR-TR).
- Una prueba de anticuerpos per se no puede determinar con certeza si actualmente una persona tiene COVID-19.
- Es posible que obtenga un resultado positivo para la prueba de anticuerpos y no tenga síntomas del COVID-19 ni los haya tenido jamás. Esto es conocido como infección asintomática o infección sin síntomas.

### **6.3.4. Significado de resultado negativo**

- Es muy probable que la persona no haya estado infectado anteriormente. No obstante, podría tener una infección activa. Es posible que aún pudiera enfermarse si ha estado expuesto al virus recientemente, ya que los anticuerpos no aparecen por hasta 1 a 3 semanas posteriores a la infección. Esto significa que igual podría propagar el virus.
- Algunas personas demoran más en crear anticuerpos e incluso algunas directamente no crean anticuerpos.
- Si tiene síntomas, necesitaría la realización de prueba PCR/TR, para confirmación del diagnóstico.
- Una prueba serológica per se no puede determinar si actualmente tiene COVID-19.

**Cuadro N°3.** Interpretación de anticuerpos IgG e IgM en pruebas rápidas

<b>IgG</b>	<b>IgM</b>	<b>Interpretación</b>	<b>Comentario</b>
Negativo	Negativo	Indica ausencia de la Enfermedad.	Si la persona tiene cuadro clínico compatible con COVID-19, realizar PCR/TR. Considerar el período de ventana en el cual no se desarrollan aún los anticuerpos.
Positivo	Positivo	Presencia de la Enfermedad.	Paciente debe ser aislado.
Positivo	Negativo	*Inmunidad. *Fase final de la infección. *Infección pasada y curada.	Puede requerir prueba molecular (PCR/TR), para determinar si el paciente aún puede infectar a otra persona.
Negativo	Positivo	*Inicio temprano de la enfermedad. *Falso positivo de la IgM.	Se debe repetir dentro de 5 a 7 días de la prueba: *Si se mantiene la IgG negativa y la IgM positiva, entonces es un falso positivo. *Si la IgG e IgM son positivos indica infección actual.  Realizar PCR/RT si no hay la posibilidad de repetir la IgG e IgM.

Fuente: Elaboración propia.

#### **6.4. Vigilancia serológica**

Los CDC están observando datos de pruebas de anticuerpos para estimar la cantidad total de personas infectadas por SARS-CoV-2 en los Estados Unidos. Los CDC también utilizan pruebas de anticuerpos para obtener más información acerca de cómo el sistema inmunitario responde al virus y para explorar cómo el virus se propaga entre las personas que han estado expuestas. La información que los CDC están estudiando surge de varios grupos, incluidos donantes de sangre y contactos del hogar de personas que tuvieron síntomas y fueron diagnosticadas con COVID-19.

## **6.5. Recomendaciones**

Las pruebas serológicas tienen sus ventajas para estimar la situación inmunológica del paciente. Sin embargo, tienen sus limitaciones para el diagnóstico clínico temprano ya que la seropositivización varía mucho entre las personas. Existen reportes que muestran que se los infectados se comienzan a positivizar a partir del día 5 después de la aparición de síntomas y el 100% solo se alcanza después de 30 días, siendo el 50% a los 11 días. Esto puede interferir con el diagnóstico por la aparición de falsos negativos. Lo anterior muestra que, para conocer la situación de la población, de modo que se incluya a los que ya no tienen el virus, pero si fueron infectados y ya no tienen el virus, es conveniente contar con las pruebas serológicas. Asimismo, estas pruebas deberán ser validadas localmente, recordando la experiencia de países que tuvieron que devolver a los fabricantes lotes de pruebas por no tener los niveles de confianza deseados.

En resumen, si la política es realizar las pruebas masivas, para detectar asintomáticos, contactos y vectores para su aislamiento, es importante realizar las pruebas moleculares. Por el costo, todo indica que las pruebas moleculares rápidas, una vez validadas, debieran ser objeto de la preferencia de compra. Las pruebas serológicas rápidas (mejor las de ELISA) pueden apoyar el diagnóstico clínico en fase tardía o de seguimiento, pero para el estudio epidemiológico su valor es limitado.

## BIBLIOGRAFÍA

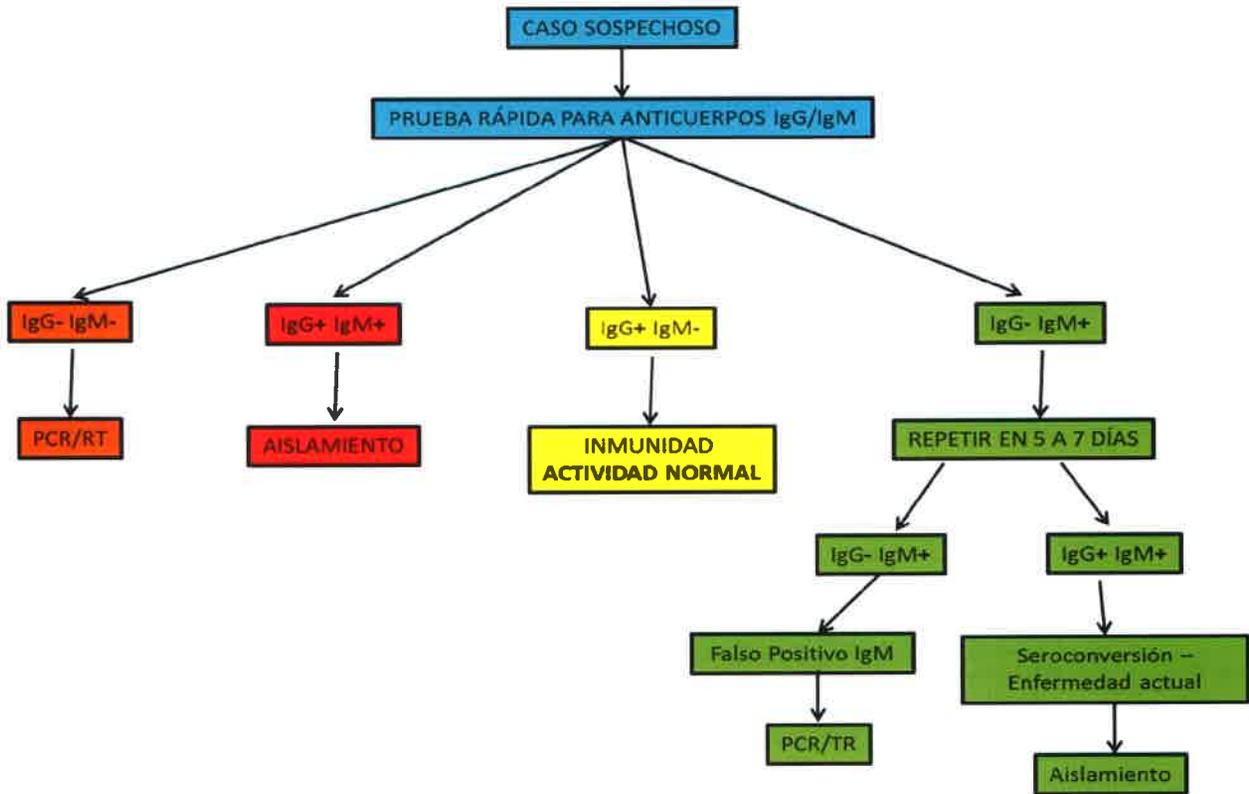
1. Azhar EI, Hui DSC, Memish ZA, Drosten C, Zumla A. The Middle East Respiratory Syndrome (MERS). *Infect Dis Clin North Am.* 2019;33(4):891-905.
2. Drosten C, Preiser W, Gunther S, Schmitz H, Doerr HW. Severe acute respiratory syndrome: identification of the etiological agent. *Trends Mol Med.* 2003;9(8):325-7.
3. Hui DSC, Zumla A. Severe Acute Respiratory Syndrome: Historical, Epidemiologic, and Clinical Features. *Infect Dis Clin North Am.* 2019;33(4):869-89.
4. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(8):523-34.
5. Hilgenfeld R, Peiris M. From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. *Antiviral Res.* 2013;100(1):286-95.
6. NanoB2A - ICN2 Diagnóstico COVID-19 Técnicas y sistemas de diagnóstico para COVID-19: clasificación, características, ventajas y limitaciones

**ANEXO N°1. Recomendaciones para uso de pruebas de laboratorio.**

Tipo de prueba RT-PCR*	Toma de muestra	Valor	Beneficiario
	Infección actual por SARS-CoV-2	<p>Informar al paciente sobre el estado de la infección para que pueda anticipar el curso de la enfermedad y tomar medidas para prevenir la transmisión.</p> <p>Informar sobre el manejo y las acciones necesarias para prevenir la transmisión.</p>	<p>Pacientes</p> <p>Establecimientos de salud</p> <p>Salud pública</p>
Pruebas de detección de anticuerpos	Posterior a exposición a SARS-CoV-2	<p>Detectar individuos susceptibles (anticuerpos negativos) y aquellos previamente infectados</p> <p>Identificar individuos con anticuerpos neutralizantes</p> <p>Facilitar el rastreo de contactos y vigilancia</p>	<p>Pacientes: identificar aquellos potencialmente inmunes a SARS-CoV-2 (si las pruebas pueden detectar inmunidad protectora, los individuos podrían retornar al trabajo)</p> <p>Establecimientos de salud</p> <p>Salud pública</p>

Fuente: Adaptado de: Patel R. et al. 2020. (6)

ANEXO N°2. Algoritmo de conducta a seguir ante resultados de pruebas rápidas.



Fuente: Elaboración propia.

## ANEXO EDITORIAL

### PROTOCOLO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO, EN EL MARCO DE LA EMERGENCIA SANITARIA POR COVID-19, primera versión mayo 2020.

#### Elaboración:

##### **MINISTERIO DE SALUD**

Dr. Américo Maldonado Alanoca – CONALAB.

Dra. Tania Elizabeth Huanca Uluri – CONALAB.

Dra. Flor Patricia Soruco Marca – Dirección General de Promoción de la Salud.

Dr. Miguel Jorge Seoane Gómez – Viceministerio de Salud y Promoción.

Dr. Robin Saldías Callejas - Viceministerio de Salud y Promoción.

Dr. Cristian Trigos Agudo - INLASA

Dra. Shirley Mery Aramayo Wayar - INLASA

#### Revisión y validación:

##### **MINISTERIO DE SALUD**

Dr. Miguel Jorge Seoane Gómez – Viceministerio de Salud y Promoción.

Dr. Robin Saldías Callejas - Viceministerio de Salud y Promoción.

Dra. Flor Patricia Soruco Marca – Dirección General de Promoción de la Salud.

#### **Servicios de Laboratorios de Diagnóstico e Investigación en Salud – UMSA**

Dr. Roger Carvajal Saravia

Lic. Kathy Terrazas Aranda



Creando lazos  
**saludables**

...EN DEMOCRACIA