

Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2

Orientaciones provisionales

11 de septiembre de 2020



Introducción

Este documento contiene orientaciones provisionales dirigidas a los laboratorios y otras partes interesadas que intervienen en el diagnóstico del coronavirus causante del síndrome respiratorio agudo grave de tipo 2 (SARS-CoV-2). Abarca las principales consideraciones relativas a la recogida de muestras, las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (AAN) y de detección de antígenos (Ag) y anticuerpos (Ac), y la garantía de la calidad. El documento se irá actualizando a medida que se disponga de nueva información. Los comentarios se pueden enviar a WHElab@who.int.

Cambios respecto de la versión anterior

El título de estas orientaciones provisionales ha pasado de «Pruebas de laboratorio para el nuevo coronavirus de 2019 en casos sospechosos de infección en humanos» a «Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2». Se ha añadido al documento información general pertinente y un algoritmo de diagnóstico clínico. Además, las orientaciones se han actualizado teniendo presentes los nuevos hallazgos procedentes de publicaciones y mejores prácticas.

Documentos pertinentes de la OMS

La OMS ha elaborado orientaciones provisionales e informes técnicos para ayudar a los responsables de la formulación de políticas y a los laboratorios en relación con la realización de pruebas de diagnóstico del SARS-CoV-2. Estos documentos abarcan cuestiones como la [estrategia de pruebas de laboratorio](#) [1], una [herramienta de evaluación de laboratorio](#) [2], la [bioseguridad en el laboratorio](#) [3], el [asesoramiento sobre el uso de pruebas inmunodiagnósticas en el punto de atención](#) [4], la [detección de antígenos en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante inmunoensayos rápidos](#) [5], [orientaciones para las investigaciones de conglomerados de casos](#) [6], la [vigilancia de salud pública](#) [7] y [consideraciones operacionales para la vigilancia mediante el SMVRG](#) [8]. Además, los países pueden servirse de los [protocolos de investigación precoces](#) [9] para emprender estudios epidemiológicos y conocer mejor las pautas de transmisión, la gravedad y prevalencia de la enfermedad, las características clínicas y los factores de riesgo de la infección por el SARS-CoV-2.

Información general sobre el SARS-CoV-2

El 31 de diciembre de 2019, la OMS fue alertada por primera vez de un conglomerado de casos de neumonía de etiología desconocida en la ciudad de Wuhan (República Popular China). En un principio el virus recibió la denominación provisional de nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV).

Más adelante, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (CITV) designó al virus como SARS-CoV-2 [10]. COVID-19 es el nombre de la enfermedad provocada por el SARS-CoV-2.

El SARS-CoV-2 se ha clasificado dentro del género *Betacoronavirus* (subgénero *Sarbecovirus*), perteneciente a la familia *Coronaviridae* [11]. Se trata de un virus encapsulado con ácido ribonucleico (ARN) de cadena sencilla en sentido positivo, cuyo genoma consta de 30 kb [10]. El virus dispone de un mecanismo de corrección de ARN que mantiene la tasa de mutación relativamente baja. El genoma codifica proteínas no estructurales (algunas de ellas indispensables para formar el complejo replicasa transcriptasa), cuatro proteínas estructurales (espícula (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N)) y proteínas presuntamente accesorias [12-14]. Para penetrar en la célula, el virus se acopla a un receptor de la enzima convertidora de la angiotensina 2 (ACE2) [15-17].

El SARS-CoV-2 es el séptimo de los coronavirus identificados como infectivos para el ser humano (HCoV). Cuatro de estos virus, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1 y HCoV-OC43, son endémicos, estacionales y suelen provocar afecciones respiratorias leves. Los otros dos virus, de origen zoonótico y más virulentos, son el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo de tipo 1 (SARS-CoV-1). El SARS-CoV-2 es el que más semejanzas genéticas presenta con el SARS-CoV-1; ambos pertenecen al subgénero *Sarbecovirus* dentro del género *Betacoronavirus* [11]. Sin embargo, actualmente no se tiene noticia de que el SARS-CoV-1 circule en la población humana.

La presentación clínica de la infección por SARS-CoV-2 puede variar desde una infección asintomática hasta una enfermedad de carácter grave [18-27]. Las tasas de mortalidad varían de unos países a otros [28]. El diagnóstico precoz en el laboratorio de una infección por SARS-CoV-2 puede ser útil para la gestión clínica y el control de brotes. Las pruebas diagnósticas pueden entrañar la detección del virus propiamente dicho (detección del ARN viral o de antígenos virales) o la detección de la respuesta inmunitaria humana a la infección (anticuerpos u otros biomarcadores).

Nuestros conocimientos sobre el SARS-CoV-2 han aumentado rápidamente, pero todavía quedan muchas preguntas a las que hay que buscar respuesta. La OMS alienta las investigaciones y la difusión de resultados que puedan contribuir a mejorar la caracterización del SARS-CoV-2 [29, 30].

Información general sobre la detección de ARN del SARS-CoV-2

La confirmación estándar de la infección aguda por el SARS-CoV-2 se basa en la detección de secuencias virales específicas mediante pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (AAN), como la reacción en cadena de la polimerasa por transcripción inversa en tiempo real (rRT-PCR). Las dianas de las pruebas de amplificación son ciertas regiones de los genes E, RdRP, N y S.

Una vez que una persona ha sido infectada por el virus, el tiempo medio que tarda en presentar síntomas (período de incubación) es de 5 a 6 días, con un intervalo de entre 1 y 14 días después de la exposición [31-35]. El virus puede ser detectado en las vías respiratorias superiores de 1 a 3 días antes de aparecer los síntomas. La concentración de SARS-CoV-2 en las vías respiratorias superiores alcanza su valor más alto en torno al momento de la aparición de los síntomas, después de lo cual va disminuyendo paulatinamente [36-42]. Algunos estudios comunican mayores cargas virales en los enfermos graves que en los enfermos leves, pero otros estudios no dan cuenta de esas diferencias [36, 43-49]. La presencia de ARN viral en las vías respiratorias inferiores, así como en las heces en un subconjunto de personas, aumenta durante la segunda semana de la enfermedad [38]. En algunos pacientes, el ARN viral solo puede detectarse durante algunos días, mientras que en otros se puede detectar durante varias semanas, incluso meses [44, 50-60]. La presencia prolongada de ARN viral no supone necesariamente una infecciosidad prolongada. Varios estudios describen una correlación entre la reducción de la infecciosidad y los siguientes factores: *i*) el mayor número de días transcurridos desde la aparición y resolución de los síntomas, *ii*) la disminución de la carga viral en las secreciones respiratorias [37, 61-64], y *iii*) un aumento de los anticuerpos neutralizantes [37, 61]. Puede encontrarse más información al respecto en [Criterios para poner fin al aislamiento de los pacientes de COVID-19](#) [65].

Como las secreciones respiratorias pueden ser bastante variables en su composición, y la idoneidad de las actividades de muestreo también puede variar, en ocasiones pueden producirse falsos negativos en los resultados de la PCR [40, 42, 58, 66-74]. En pacientes de los que se sospecha seriamente la infección por el SARS-CoV-2 y los hisopados de las vías respiratorias superiores son negativos, es posible detectar ARN viral en secreciones de las vías respiratorias inferiores, como esputos o material de lavado broncoalveolar [70, 71, 75, 76]. Se ha demostrado que las heces o los hisopados rectales son positivos para el ARN del SARS-CoV-2 en un subconjunto de pacientes; algunos estudios sugieren que esta positividad es prolongada en comparación con la de las muestras de las vías respiratorias [46, 56, 59, 75, 77]. En algunos pacientes, se ha notificado la detección de ARN de SARS-CoV-2 en muestras de sangre; algunos estudios sugieren que la detección en la sangre está asociada a la gravedad de la enfermedad, pero se necesitan más estudios sobre esta posible asociación [75, 78-81]. En muestras de líquido bucal (por ejemplo, saliva inducida) [28, 49, 82-88], las tasas de detección comunicadas en comparación con las muestras de vías respiratorias altas del mismo paciente varían ampliamente; se dispone de datos limitados sobre la idoneidad de la detección de SARS-CoV-2 en muestras de gargarismos/enjuagues bucales [85]. Las llamativas diferencias en la sensibilidad de las evaluaciones de líquidos bucales se deben posiblemente a grandes diferencias en las técnicas de recogida, transporte y conservación de muestras, así como a la evaluación de diferentes poblaciones de prueba. Ocasionalmente puede detectarse SARS-CoV-2 en líquidos oculares en pacientes con y sin signos de conjuntivitis [89-93]. Algunos estudios no han detectado SARS-CoV-2 en la orina [58, 75, 94], mientras que otros fueron capaces de detectar ARN viral en la orina en un número limitado de pacientes [57, 95]. Un estudio informó de varios pacientes con muestras de semen positivas [96]. Además, en algunos informes de casos se ha descrito la detección positiva de ARN en tejido cerebral [97] y líquido cefalorraquídeo [98]. Así pues, aunque es posible detectar SARS-CoV-2 en una amplia variedad de líquidos y compartimentos corporales, donde con mayor frecuencia se detecta es en el material respiratorio y, por consiguiente, las muestras respiratorias siguen siendo el tipo de muestra de elección para el diagnóstico.

Principios rectores en la realización de pruebas en el laboratorio

La decisión de realizar pruebas debe basarse en factores tanto clínicos como epidemiológicos. Véanse las orientaciones provisionales sobre [manejo clínico de la COVID-19](#) [99], [investigaciones de conglomerados de casos](#) [6] y [vigilancia de salud pública en relación con la COVID-19](#) [7].

La recogida rápida de muestras adecuadas y el diagnóstico preciso en el laboratorio de pacientes de los que se sospecha firmemente una infección por SARS-CoV-2 son las dos prioridades que deben orientar el manejo clínico de los pacientes y las medidas de control de infecciones. Dada la complejidad que tienen un muestreo adecuado, el análisis de laboratorio y la interpretación de los resultados, es preciso que de la recogida de muestras y el diagnóstico en el laboratorio se ocupen operarios capacitados y competentes.

Algunas personas infectadas con SARS-CoV-2 nunca llegan a presentar síntomas (casos asintomáticos); otras pueden presentar una afección muy leve (paucisintomáticos), y otras pueden manifestar una COVID-19 de moderada a grave [18-26]. Las pruebas más sólidas de la infección viral provienen de la detección de fragmentos del virus, como proteínas o ácidos nucleicos, por medio de pruebas virológicas. Las personas infectadas pueden dar resultado positivo en la detección de ácidos nucleicos virales o proteínas virales sin tener síntomas (asintomáticos), antes de la aparición de síntomas (presintomáticos), y a lo largo del episodio de la enfermedad (sintomáticos). En las personas que acaban manifestando COVID-19, los síntomas pueden ser muy amplios en la presentación inicial de la enfermedad. Pueden aparecer desde síntomas muy leves hasta neumonía manifiesta, fiebre o septicemia, y con menor frecuencia

gastroenteritis o síntomas neurológicos [99]. Si es necesario para la gestión de casos, los pacientes también deben ser examinados para detectar otros patógenos, atendiendo a las recomendaciones de las pautas locales de manejo clínico, pero esto nunca debe retrasar las pruebas de detección de SARS-CoV-2 [99, 100]. Se han notificado coinfecciones de SARS-CoV-2 con otros patógenos, de modo que una prueba positiva para otro patógeno no permite descartar la COVID-19 y viceversa [27, 101-109]. Se han notificado algunos casos de resultados falsos positivos de anticuerpos de dengue tras una prueba de diagnóstico rápido de dengue (RDT) en pacientes de COVID-19 [110, 111]. También existe el riesgo de que aparezcan falsos positivos o falsos negativos para SARS-CoV-2 si las pruebas no se realizan con ensayos adecuados o no se practican en las debidas condiciones.

Recogida, envío y conservación de muestras

Procedimientos de seguridad durante la recogida de muestras

Hay que velar por que los trabajadores sanitarios que recojan muestras clínicas de casos sospechosos sigan rigurosamente las directrices de prevención y control de infecciones (PCI) y utilicen el equipo de protección personal (EPP) adecuado; véanse también las orientaciones provisionales de la OMS sobre [prevención y control de infecciones durante la atención sanitaria en relación con la COVID-19](#) [7].

Hay que asegurar que existan procedimientos operativos estándar adecuados y el personal esté debidamente adiestrado en la recogida, el envasado, el envío y la conservación de muestras. Se debe suponer que todas las muestras tomadas para las investigaciones pueden estar infectadas con SARS-CoV-2 y otros agentes patógenos. Véanse también las orientaciones provisionales de la OMS sobre [bioseguridad en el laboratorio](#) relacionadas con la COVID-19 [3]. Deberán seguirse las directrices locales, incluso en materia de consentimiento informado, para la recogida, el análisis, la conservación y la investigación de muestras.

Muestras que deben recogerse

La muestra óptima depende de la presentación clínica y del tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas. Como mínimo se deben recoger muestras respiratorias.

Muestras respiratorias

- Las muestras de las **vías respiratorias superiores** son adecuadas para analizar infecciones en fase temprana, especialmente en casos asintomáticos o leves. Se ha demostrado que las pruebas en hisopados nasofaríngeos y orofaríngeos combinados de un mismo paciente incrementan la sensibilidad para la detección de virus respiratorios y mejoran la fiabilidad del resultado [60, 86, 112-114]. Se pueden combinar dos hisopados de una misma persona en un tubo de recogida de muestras, o se puede obtener un hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo combinado [115]. Varios estudios han observado que los hisopados nasofaríngeos por sí solos dan un resultado más fiable que los hisopados orofaríngeos [40, 75, 76, 114].
- Se aconseja tomar muestras de las **vías respiratorias inferiores** si las muestras se recogen en un momento posterior en el curso de la COVID-19 o en pacientes con resultado negativo en la muestra de las vías respiratorias superiores y firme sospecha clínica de COVID-19 [70, 71, 75, 76, 86]. Las muestras de las vías respiratorias inferiores pueden constar de esputo, si se produce espontáneamente (no se recomienda el esputo inducido, ya que esto incrementa el riesgo de transmisión por aerosoles [99]) o aspirado endotraqueal o lavado broncoalveolar en pacientes con afección respiratoria más grave. Hay que proceder con cautela debido al alto riesgo de aerosolización; por lo tanto, se requiere una estricta observancia de los procedimientos de PCI durante la obtención de muestras. La indicación de un procedimiento invasivo debe ser evaluada por un médico.

Antes de recurrir a otros métodos de obtención de muestras de líquidos respiratorios o bucales, el método de muestreo debe ser primero validado en el laboratorio para los grupos de pacientes previstos.

Recogida de muestras simplificada y optimizada

Existe una gran demanda de recogida de muestras simplificada y optimizada para la detección de SARS-CoV-2. Se han realizado estudios sobre hisopados orofaríngeos e hisopados en fosas nasales combinados [116, 117], otros en hisopados en cornete medio [118-120] o hisopados nasales anteriores [120, 121] o hisopados linguales [120] tomados por un técnico adiestrado o por el propio paciente. Aunque algunos de los estudios muestran que estos métodos funcionan razonablemente bien, los estudios se centran sobre todo en grupos de pacientes específicos y sus tamaños de muestra son limitados. Antes de que se pueda recomendar una aplicación generalizada de estos métodos alternativos, es necesario realizar más evaluaciones y validaciones a fin de determinar para qué indicaciones son apropiados estos métodos de obtención de muestras.

Hay casos particulares en los que la recogida de hisopados nasofaríngeos y orofaríngeos puede resultar problemática, como la detección masiva en escuelas o residencias de ancianos, especialmente cuando se trata de personas mayores con demencia o de niños pequeños. En estas situaciones, los líquidos bucales pueden servir como muestra, ya que los métodos de obtención son menos invasivos y hay un menor riesgo de exposición a otras personas que en el caso de la recogida de muestras de las vías respiratorias superiores.

Los métodos de recogida de líquidos bucales son muy variados: desde la recogida de exudado de la cavidad orofaríngea posterior o de saliva por escupido o salivación hasta la recogida de líquidos bucales mediante pipetas o esponjas especiales. Otra posibilidad que se ha estudiado son los gargarismos con soluciones salinas. La sensibilidad de estas muestras presenta un amplio rango de resultados en comparación con las muestras nasofaríngeas u orofaríngeas [28, 49, 82, 83, 85-88, 122-125]. Dada la gran variedad de métodos de recogida y pasos de tratamiento de las muestras, los laboratorios deben recopilar sus propios datos de rendimiento en relación con el método local de recogida de muestras y en la población pertinente para las pruebas. En este momento, la OMS no recomienda el uso de saliva como único tipo de muestra para el diagnóstico clínico de rutina. Si se pretende utilizar métodos de recolección de muestras no estándar para diagnosticar otros patógenos respiratorios, la detección de estos patógenos debe formar parte necesariamente del procedimiento de validación.

Muestras fecales

A partir de la segunda semana desde la aparición de los síntomas, se puede estudiar la posibilidad de realizar pruebas de AAN en muestras fecales en aquellos casos en que las muestras de las vías respiratorias superiores e inferiores son negativas pero se mantiene la sospecha clínica de COVID-19 [126]. Cuando se analicen muestras de heces, hay que asegurarse de que el método de extracción y la prueba de AAN previstos han sido validados para este tipo de muestra.

Muestras *post mortem*

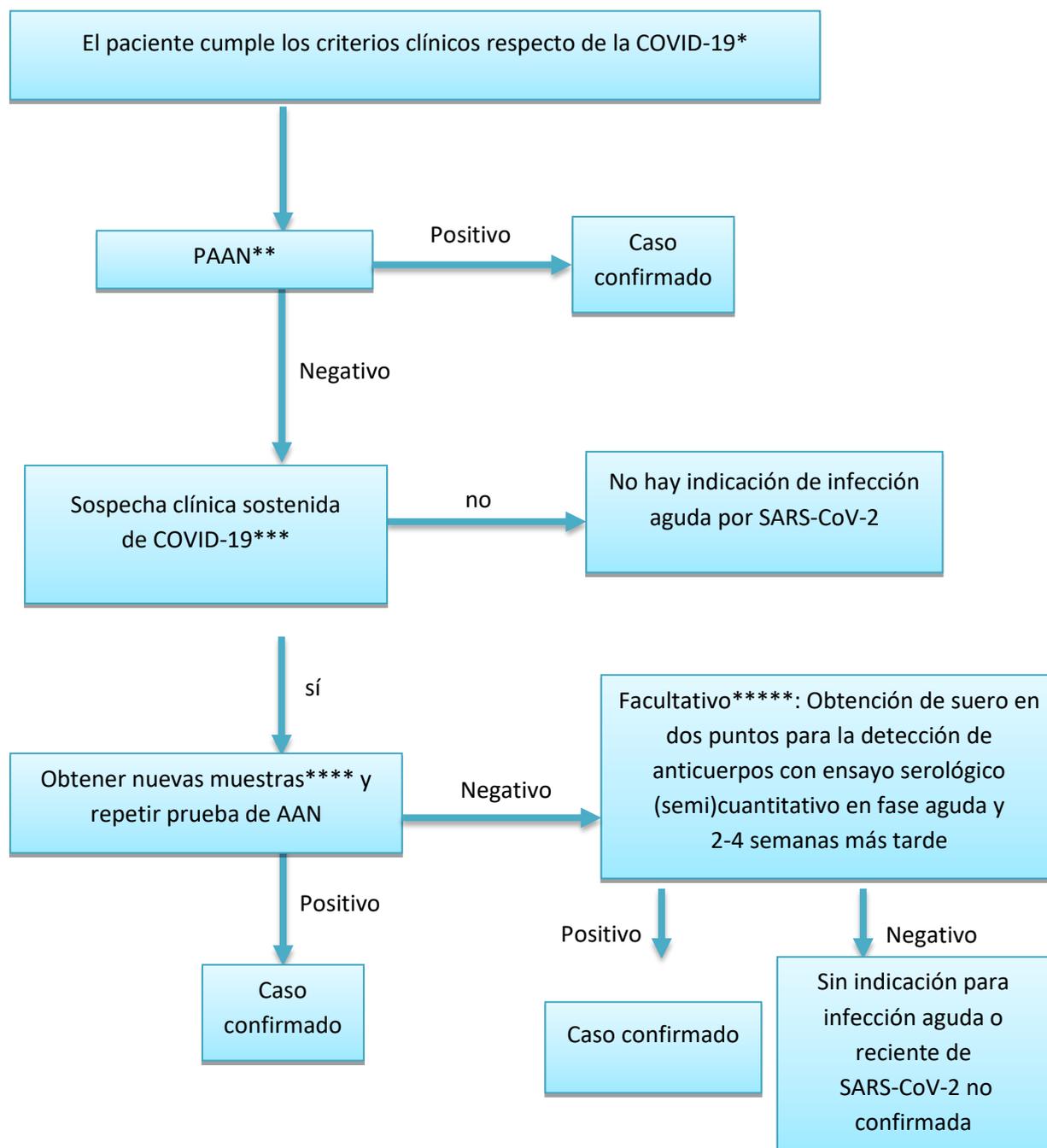
Si la persona ha fallecido, puede realizarse un hisopado *post mortem*, una biopsia por punción con aguja o tomar muestras de tejidos procedentes de la autopsia, incluido tejido pulmonar, para realizar más pruebas patológicas y microbiológicas [127-133].

Muestras de suero

Si las pruebas de AAN dan resultado negativo en un paciente respecto del que hay una firme sospecha de infección por SARS-CoV-2, se pueden tomar muestras de suero emparejadas. Puede utilizarse una muestra obtenida en la fase aguda y otra en la fase de convalecencia, de dos a cuatro semanas más tarde, para determinar si se ha producido seroconversión o un aumento en los títulos de anticuerpos. Esas dos muestras se pueden utilizar de manera retrospectiva para determinar si la persona ha tenido COVID-19, especialmente cuando la infección no pudo ser detectada mediante pruebas de AAN.

En la figura 1 se presenta el algoritmo de diagnóstico para los casos que requieren atención clínica y de los que se sospecha que tienen COVID-19.

Figura 1: Diagrama de flujo de diagnóstico para la detección de la infección aguda por SARS-CoV-2 en personas con sospecha clínica de COVID-19



* Manejo clínico de la COVID-19 (Orientaciones provisionales), Organización Mundial de la Salud [99].

** En caso de que la detección de antígenos se incorporase al algoritmo de realización de pruebas, la forma de hacerlo dependerá de la sensibilidad y especificidad de la prueba del antígeno y de la prevalencia de la infección por el SARS-CoV-2 en la población en la que está previsto realizar las pruebas. Para obtener más información, consulte más adelante la sección «Pruebas de diagnóstico rápido basadas en la detección de antígenos» y las [orientaciones específicas relativas a la detección de antígenos en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante inmunoensayos rápidos](#) [5].

*** La sospecha clínica sostenida puede basarse, por ejemplo, en la ausencia de otra etiología evidente, la presencia de un vínculo epidemiológico o una observación clínica compatible (por ejemplo, signos radiológicos típicos).

**** La selección del tipo de muestra dependerá de la presentación clínica; véase la sección «Muestras que deben recogerse». Aumentar el número de muestras analizadas también aumentará la sensibilidad de las pruebas para la COVID-19. Es posible que en algunas ocasiones se necesiten más de dos muestras para detectar el SARS-CoV-2 [73].

***** Para la interpretación de los resultados serológicos, véase la sección «Realización e interpretación de las pruebas de anticuerpos en el laboratorio clínico». Las pruebas serológicas no se pueden utilizar por sí solas como medio de diagnóstico para las infecciones agudas de SARS-CoV-2 ni para el manejo clínico de los casos.

Envasado y envío de muestras clínicas

Las muestras destinadas a la detección de virus deben llegar al laboratorio lo antes posible después de su obtención. La manipulación correcta de las muestras durante el transporte y en el laboratorio es esencial. Para obtener orientación a este respecto, véase el anexo 1.

El transporte de muestras dentro de las fronteras nacionales debe realizarse de conformidad con la reglamentación nacional aplicable. El transporte internacional de muestras que puedan contener SARS-CoV-2 debe cumplir la Reglamentación Modelo de las Naciones Unidas, Sustancia Biológica, Categoría B (UN 3373), así como toda otra reglamentación aplicable en función del modo de transporte.

Se puede encontrar más información en la publicación de la OMS [Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2020](#) [134] y en las [directrices específicas en materia de bioseguridad en el laboratorio](#) [3] e [instrucciones de envío](#) [135] en relación con el SARS-CoV-2.

Hay que mantener líneas de comunicación abiertas y eficientes con el laboratorio y proporcionar toda la información que solicite. Las muestras deben estar correctamente etiquetadas e ir acompañadas de un formulario de solicitud de diagnóstico (en el anexo 2 aparece un modelo de formulario de solicitud, incluida la información clínica mínima necesaria). Alertar al laboratorio antes de enviarle muestras y proporcionar la información básica esencial con la solicitud de diagnóstico permite tratar las muestras y comunicar los resultados de manera correcta y a tiempo.

Prácticas de bioseguridad en el laboratorio

Los laboratorios que realicen pruebas para detectar el SARS-CoV-2 deben atenerse estrictamente a las prácticas apropiadas en materia de bioseguridad. Las pruebas en muestras clínicas que puedan contener SARS-CoV-2 deben ser realizadas en laboratorios debidamente equipados por personal adiestrado en los procedimientos técnicos y de seguridad pertinentes. Las directrices nacionales sobre bioseguridad en el laboratorio deben cumplirse en todas las circunstancias. La manipulación de muestras para pruebas moleculares mediante rRT-PCR estándar requiere un nivel de bioseguridad (BSL) 2 o instalaciones equivalentes que utilicen una cámara de seguridad biológica o un dispositivo de contención primaria que esté recomendado para la manipulación de muestras antes de la inactivación.

Los procedimientos que tengan por objeto aislar el virus en cultivos celulares requieren como mínimo instalaciones de nivel de bioseguridad 3 (BSL-3). Cuando se realicen cultivos virales en muestras clínicas que puedan ser positivas para SARS-CoV-2 con otros fines, es necesario realizar una evaluación del riesgo seguida de las medidas y los procedimientos de seguridad exigidos [136].

Determinadas consideraciones de los requisitos de bioseguridad pueden permitir la realización fuera de una cámara de seguridad biológica de ciertos ensayos en el punto de atención (POC) o en el entorno del paciente, una vez examinadas las reglamentaciones locales, y después de proceder a una evaluación del riesgo y de haber adoptado las medidas adecuadas de mitigación del riesgo. Para conocer más detalles a este respecto, véanse las [orientaciones provisionales específicas sobre bioseguridad en el laboratorio](#) [3]. Para obtener información general sobre las directrices de bioseguridad en el laboratorio, véase el [Manual de bioseguridad en el laboratorio de la OMS, 3.ª edición](#) (8).

Pruebas de detección del SARS-CoV-2

Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (AAN)

Siempre que sea posible, las presuntas infecciones activas por SARS-CoV-2 deben analizarse mediante pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (AAN), como la rRT-PCR. Los ensayos de amplificación de ácidos nucleicos deben tener como diana el genoma del SARS-CoV-2. Puesto que hoy en día no se tiene conocimiento de que el SARS-CoV-1 esté circulando a nivel mundial, también puede utilizarse como diana de los ensayos una secuencia específica de los sarbecovirus. En los ensayos comerciales, la interpretación de los resultados debe hacerse con arreglo a las instrucciones de uso. El diagnóstico óptimo se consigue mediante un ensayo de AAN que tenga al menos dos dianas independientes en el genoma del SARS-CoV-2; sin embargo, en aquellos lugares donde exista una transmisión generalizada del virus, puede adoptarse un algoritmo simple con una sola diana que permita la discriminación. Cuando se realizan los ensayos con una sola diana, se recomienda contar con una estrategia para detectar mutaciones que pudieran influir en los resultados. Pueden consultarse más detalles a este respecto la sección siguiente, «Información general sobre el seguimiento de mutaciones en las regiones del cebador y de la sonda».

Información general sobre el seguimiento de mutaciones en las regiones del cebador y de la sonda

A medida que el SARS-CoV-2 continúa experimentando cambios genéticos a lo largo del tiempo, los desajustes de emparejamiento entre los cebadores y/o las sondas y los sitios de unión correspondientes en el genoma del virus pueden reducir la sensibilidad de las pruebas de AAN. Cuando sea posible, debe hacerse un seguimiento de los desajustes de cebadores y sondas causados por mutaciones del SARS-CoV-2 y evaluar sus repercusiones. Es posible reducir el riesgo de obtener resultados falsos negativos analizando de forma sistemática todas las muestras con dos conjuntos diferentes de cebadores/sondas que tengan como diana distintas regiones del genoma. Actualmente existen varios mecanismos que permiten observar si hay mutaciones pertinentes, entre ellos las búsquedas que realiza la [GISAID](#) (Iniciativa mundial para intercambiar todos los datos sobre la gripe) y otras herramientas como [PrimerCheck](#) (Erasmus Medical Centre), PrimerScan (Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades) y [CoV-GLUE](#) (COVID-19 UK Genomics Consortium y MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research). PrimerCheck y COV-GLUE permiten a los investigadores aportar de forma confidencial sus propios datos sobre secuencias. No todas las mutaciones en las regiones de unión de cebadores o sondas dan lugar a cambios de importancia en los resultados. Las previsiones *in silico* de la eficiencia de la unión no bastan para cuantificar el efecto de un desajuste de emparejamiento en la sensibilidad de una prueba de AAN, por lo que es fundamental realizar una comparación experimental de la sensibilidad del ensayo para los aislados de virus tanto de referencia como variantes. En los ensayos comerciales, es crucial seguir de cerca todo posible incidente de funcionamiento por debajo del nivel óptimo. Se informará al fabricante del ensayo y a la OMS de toda duda que surja al utilizar un ensayo concreto.

Han aparecido muchos ensayos de rRT-PCR tanto internos como comerciales; varios de ellos han sido validados de forma independiente [137-143]. En el anexo 3 se enumeran algunas consideraciones para seleccionar la prueba de AAN más adecuada para el laboratorio. Algunos de los sistemas de AAN son capaces de realizar las pruebas de forma totalmente automatizada, integrando el procesamiento de las muestras con la capacidad de extracción y amplificación de ARN y la presentación de resultados. Estos sistemas dan acceso a las pruebas a muchos lugares donde la capacidad de laboratorio es limitada, y ofrecen un tiempo de respuesta rápido cuando se utilizan para pruebas a la cabecera del paciente. Los datos de validación de algunos de estos ensayos ya están disponibles [144]. En ciertos entornos, el personal encargado de realizar las pruebas debe estar debidamente adiestrado, la eficacia debe evaluarse en esos entornos concretos y se debe establecer un sistema de supervisión de la calidad. Se están elaborando o están en fase de comercialización otros métodos de amplificación/detección posiblemente útiles, como el CRISPR (dirigido a repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas), tecnologías de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos (por ejemplo, amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa (RT-LAMP)) y ensayos de micromatrices moleculares [145-147]. Se alienta la validación de los resultados analíticos y clínicos de estos ensayos, la demostración de su posible utilidad a nivel operacional, el intercambio rápido de datos, y la revisión regulatoria de emergencia de todas aquellas pruebas que puedan ser fabricadas y ofrezcan buenos resultados, con el fin de aumentar el acceso a pruebas de detección del SARS-CoV-2.

Es preciso realizar una interpretación cuidadosa de los resultados positivos débiles en las pruebas de AAN, ya que algunos de los ensayos han demostrado producir señales falsas a valores altos de Ct (umbral de ciclos). Cuando los resultados de la prueba no sean válidos o sean dudosos, habrá que tomar nuevas muestras del paciente y analizarlas de nuevo. Si no se pueden obtener más muestras del paciente, se extraerá otra vez el ARN de las muestras iniciales y se encargará a personal muy experimentado que lo someta de nuevo a la prueba. Los resultados pueden confirmarse mediante una prueba de AAN alternativa o mediante secuenciación de virus si la carga viral es lo bastante alta. Se insta a los laboratorios a solicitar la confirmación de un laboratorio de referencia en caso de que aparezca cualquier resultado inesperado.

Uno o más resultados negativos no descartan necesariamente la infección por SARS-CoV-2 [40, 42, 58, 66-74]. Varios factores pueden dar lugar a un resultado negativo en una persona infectada, entre ellos los siguientes:

- la calidad deficiente de la muestra, si contiene muy poco material del paciente;
- la muestra fue recogida en una fase tardía de la enfermedad, o fue obtenida de un compartimento corporal que no contenía el virus en ese momento;
- la muestra no fue manipulada o enviada en las condiciones apropiadas;
- razones técnicas implícitas en la prueba, por ejemplo, inhibición de la PCR o mutación del virus.

Para el manejo de casos sintomáticos, en la figura 1 se presenta una propuesta de algoritmo de pruebas.

Alternativas a la extracción de ARN

La mayoría de los flujos de trabajo de diagnóstico molecular convencionales requieren la extracción de ARN antes de realizar una prueba de rRT-PCR. Sin embargo, la pandemia de COVID-19 ha provocado una escasez mundial de equipos de extracción comerciales. La rRT-PCR directa de hisopados nasofaríngeos puede suponer una alternativa de emergencia o provisional a la extracción de ARN, pero las limitaciones respecto del volumen de entrada, así como el mayor riesgo de degradación del ARN y de inhibición de la PCR, pueden llevar a una pérdida de sensibilidad del ensayo [148, 149]. El tratamiento térmico antes del procesamiento de la muestra puede afectar a la calidad del ARN [149, 150]. Otros factores que pueden influir en la calidad del ARN y que deben evaluarse antes de recurrir a ellos son la adición de detergentes, los medios de transporte molecular, el volumen de la muestra utilizada y la enzima polimerasa utilizada [148, 151-154]. También deben tenerse en cuenta las repercusiones en la bioseguridad que pueden tener otros flujos de trabajo de extracción. Los laboratorios que estén estudiando la posibilidad de adoptar métodos alternativos que eviten la necesidad de extracción de ARN deben validar sus protocolos a fondo y realizar una evaluación de riesgos que sopesa los beneficios y riesgos, antes de integrar esos protocolos en un flujo de trabajo de diagnóstico.

Agrupación de muestras para las pruebas de AAN

La agrupación de muestras tomadas de varias personas puede incrementar la capacidad de diagnóstico para detectar SARS-CoV-2 cuando la tasa de realización de pruebas no llega a cubrir la demanda en algunos contextos [155-159]. Existen varias estrategias para agrupar muestras. Si el resultado del grupo de muestras es negativo, se considera que todas las muestras tomadas individualmente son negativas. Si el grupo de muestras da resultado positivo, los pasos ulteriores dependen de la estrategia adoptada, pero en general cada muestra debe someterse a pruebas por separado (desconvolución del grupo) a fin de determinar cuáles son las positivas. Otra posibilidad es la agrupación de muestras por matrices. Esto significa que las agrupaciones se hacen por fila y por columna, y se analizan mediante PCR; la posición en la matriz identifica la muestra positiva sin realizar otras pruebas si la prevalencia es lo bastante baja. Dependiendo de la solidez del método de la prueba por matrices en el contexto particular, quizá sea aconsejable volver a analizar las muestras identificadas como positivas con el propósito de confirmar el resultado. La agrupación de muestras es una posibilidad en grupos de población con una prevalencia prevista de infección por el SARS-CoV-2 baja o muy baja, pero no si se trata de casos o cohortes con más probabilidades de estar infectados por el SARS-CoV-2. No se recomienda la agrupación de muestras de diferentes personas como método de rutina ni en la atención clínica ni con fines de localización de contactos. Se han realizado estudios para determinar el número óptimo de muestras que pueden agruparse y para diseñar estrategias de agrupación en diferentes escenarios de brotes [156, 160-162].

Antes de aplicar cualquier protocolo de agrupación de muestras, es preciso validarlo en las poblaciones y los entornos adecuados. Una estrategia de pruebas inapropiada puede dar lugar a que queden casos sin detectar u otros errores de laboratorio que, a su vez, pueden influir negativamente en el manejo de los pacientes y en las medidas de control de salud pública. Además, hay que tener presente el riesgo de contaminación cruzada y el posible aumento de la complejidad y el volumen de la carga de trabajo. Para una agrupación de muestras fiable, es crucial contar con sistemas de automatización adecuados (por ejemplo, sistemas robóticos, programas informáticos de apoyo a los algoritmos de identificación de muestras positivas, sistemas de información de laboratorio y programas de soporte intermedio que puedan funcionar con muestras agrupadas).

Según los datos actualmente disponibles, es posible proceder a la agrupación intraindividual de muestras (múltiples muestras de una misma persona que se agrupan y analizan como una sola muestra) tomadas de las vías respiratorias superiores. No se recomienda la agrupación intraindividual de muestras de esputo y heces con muestras de las vías respiratorias superiores porque las primeras pueden contener compuestos que inhiben la rRT-PCR.

Pruebas de diagnóstico rápido basadas en la detección de antígenos

Se están elaborando y comercializando pruebas de diagnóstico rápido que detectan la presencia de proteínas virales (antígenos) del SARS-CoV-2 en muestras de las vías respiratorias. La mayoría de ellas son inmunoensayos de flujo lateral (LFI), que normalmente se realizan en 30 minutos. A diferencia de las pruebas de AAN, no se amplifica el material que se pretende detectar, lo que hace que las pruebas de antígenos sean menos sensibles. Además, pueden producirse resultados falsamente positivos (que indican que una persona está infectada cuando no lo está) si los anticuerpos de la tira de prueba también reconocen antígenos de virus distintos del SARS-CoV-2, como otros coronavirus humanos.

La sensibilidad de las distintas pruebas de diagnóstico rápido en comparación con la rRT-PCR en muestras de las vías respiratorias superiores (hisopados nasofaríngeos) parece ser muy variable [144, 163-165]; en cambio, se informa sistemáticamente de que la especificidad es alta. Por ahora, los datos sobre la eficacia de las pruebas de antígenos en el entorno clínico son limitados: se recomienda realizar validaciones emparejadas de pruebas de AAN y pruebas del antígeno en estudios clínicos con el fin de determinar cuáles de las pruebas de detección de antígenos que se están elaborando o que ya se han comercializado muestran resultados aceptables en estudios de campo representativos. Cuando los resultados sean aceptables, se podrían incluir pruebas de diagnóstico rápido de antígenos en un algoritmo de diagnóstico con el fin de reducir el número de pruebas moleculares que es preciso realizar y para contribuir a una rápida identificación y gestión de los casos de COVID-19. La forma en que la detección de antígenos se incorporaría al algoritmo de pruebas depende de la sensibilidad y la especificidad de la prueba de antígenos y de la prevalencia de la infección por el SARS-CoV-2 en la población de prueba prevista. Las cargas virales más altas están asociadas a mejores rendimientos de la prueba de antígenos; esto permite prever que el rendimiento de la prueba será óptimo en torno a la aparición de los síntomas y en la fase inicial de la infección por el SARS-CoV-2. Para obtener orientación específica sobre las pruebas de detección de antígenos, véanse las [orientaciones provisionales de la OMS sobre la detección de antígenos en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante inmunoensayos rápidos](#) [5].

Pruebas de anticuerpos

Los ensayos serológicos que detectan los anticuerpos producidos por el organismo humano en respuesta a la infección por el SARS-CoV-2 pueden ser útiles en diversas circunstancias.

Por ejemplo, los estudios de serovigilancia pueden utilizarse para apoyar la investigación de un brote en curso y para respaldar la evaluación retrospectiva de la tasa de ataque o el tamaño de un brote [9]. Dado que el SARS-CoV-2 es un patógeno nuevo, todavía no se conocen a fondo las respuestas inmunitarias a que da lugar, de modo que las pruebas de detección de anticuerpos deben utilizarse con cautela; no deben emplearse para determinar infecciones agudas.

Los ensayos no cuantitativos (por ejemplo, los ensayos de flujo lateral) no pueden detectar un aumento de los títulos de anticuerpos, a diferencia de los ensayos (semi)cuantitativos o cuantitativos. Los ensayos de detección de anticuerpos de flujo lateral (u otros ensayos no cuantitativos) no se recomiendan actualmente para el diagnóstico agudo y el tratamiento clínico, y se está estudiando su función en las encuestas epidemiológicas. Para obtener más información sobre la utilidad de las pruebas de inmunodiagnóstico rápido, puede consultarse el informe científico de la OMS con orientaciones sobre las [pruebas específicas de inmunodiagnóstico del SARS-CoV-2 en el punto de atención](#) [4].

Las pruebas serológicas no deben utilizarse por sí solas como medio de diagnóstico para identificar casos agudos en la atención clínica o con fines de localización de contactos. Las interpretaciones deben ser realizadas por un experto y dependen de varios factores, entre ellos el momento de la enfermedad, la morbilidad clínica, la epidemiología y la prevalencia en el entorno, el tipo de prueba utilizada, el método de validación y la fiabilidad de los resultados.

Se ha observado que la seroconversión (aparición de una respuesta de anticuerpos mensurable a raíz de la infección) es más fuerte y rápida en los pacientes graves que en los que tienen síntomas más leves o infecciones asintomáticas. En una parte de los pacientes se han detectado anticuerpos ya al final de la primera semana de la enfermedad, pero también se ha observado que los anticuerpos pueden tardar semanas en aparecer en pacientes con infección subclínica o leve [37, 166-173]. Un diagnóstico fiable de la infección por COVID-19 basado en la respuesta de anticuerpos de los pacientes a menudo solo será posible en la fase de recuperación, cuando ya habrán pasado las oportunidades de intervención clínica o de interrupción de la transmisión de la enfermedad. Por lo tanto, las pruebas serológicas no son adecuadas como sustituto de los ensayos virológicos a la hora de orientar las actividades de localización de contactos o la gestión clínica. El tiempo de persistencia de los anticuerpos generados en respuesta al SARS-CoV-2 sigue siendo objeto de estudio [49, 174]. Además, la presencia de anticuerpos que se unen al SARS-CoV-2 no garantiza que sean anticuerpos neutralizantes, ni que ofrezcan inmunidad protectora.

Pruebas serológicas disponibles para la detección de anticuerpos

Ya se dispone de pruebas comerciales y no comerciales que miden los anticuerpos aglutinantes (inmunoglobulinas totales (Ig), IgG, IgM, y/o IgA en diferentes combinaciones) utilizando diversas técnicas, entre ellas el inmunoensayo de flujo lateral (IFL), el ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) y el inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA). Se han publicado varias validaciones y revisiones sistemáticas de estos ensayos [170, 171, 173, 175-177]. Los resultados de los ensayos serológicos varían ampliamente entre unos y otros grupos de pruebas (como entre pacientes con enfermedad leve y pacientes con enfermedad moderada a grave, o en pacientes jóvenes frente a pacientes de edad), el momento en que se realiza la prueba y la proteína viral objetivo. Será preciso estudiar más a fondo esas variaciones en los resultados de los ensayos. En las pruebas de detección de anticuerpos para el coronavirus también pueden

producirse reacciones cruzadas con otros agentes patógenos, entre ellos otros coronavirus humanos [167, 178-180], o con afecciones preexistentes (por ejemplo, embarazo, enfermedades autoinmunes) y así obtenerse resultados falsamente positivos.

Se considera que los ensayos de neutralización de virus son la prueba de referencia para detectar la presencia de anticuerpos funcionales. Estos ensayos requieren personal altamente calificado e instalaciones apropiadas para el cultivo en condiciones BSL-3 y, por consiguiente, no son adecuados para utilizarlos en el diagnóstico de rutina.

Realización e interpretación de las pruebas de anticuerpos en el laboratorio clínico

Cuando se realizan ensayos serológicos en el laboratorio clínico, es aconsejable proceder a la validación o verificación interna de los ensayos concretos. Aunque se haya autorizado la utilización de ensayos comerciales en casos de emergencia, sigue siendo necesaria la verificación interna (o, si así lo exigen las autoridades locales, una validación). Ya se dispone de protocolos y ejemplos con sugerencias sobre la forma de hacerlo [170, 171, 181].

Cada prueba serológica es diferente. En lo que respecta a las pruebas comerciales, deben seguirse las instrucciones de uso del fabricante. Los estudios muestran que varios ensayos comerciales que miden la Ig total o la IgG han dado resultados adecuados. La mayoría de estos estudios no muestran ninguna ventaja de la IgM sobre la IgG, ya que la primera no aparece mucho antes que la segunda [173]. No se ha determinado el papel añadido del análisis de IgA en las pruebas diagnósticas de rutina. Para confirmar una infección reciente, los sueros de las fases aguda y de convalecencia deben someterse a un ensayo (semi)cuantitativo o cuantitativo validado. La primera muestra debe recogerse durante la fase aguda de la enfermedad, y la segunda muestra al menos 14 días después de la primera. Los niveles máximos de anticuerpos suelen producirse en la tercera o cuarta semana después de la aparición de los síntomas. La seroconversión o el aumento de los títulos de anticuerpos en muestras de suero emparejadas ayudará a confirmar si la infección es reciente o aguda. Si la muestra inicial es positiva, este resultado podría deberse a una infección pasada que no guarde relación con la enfermedad en curso.

Se ha documentado el primer caso conocido de reinfección por el SARS-CoV-2 [182]. Por ahora se dispone de información limitada sobre la interpretación de las pruebas de anticuerpos contra SARS-CoV-2 tras una infección anterior por el virus, así como sobre la dinámica de la serología del SARS-CoV-2 si se produce una infección posterior con otro coronavirus. En estos dos conjuntos de circunstancias, la interpretación de los datos serológicos puede resultar sumamente difícil.

Aislamiento del virus

No se recomienda aislar el virus como procedimiento de diagnóstico de rutina. Todos los procedimientos que entrañen el aislamiento del virus en cultivo celular requieren personal adiestrado e instalaciones de nivel BSL-3. Se debe realizar una evaluación detallada del riesgo cuando se cultiven muestras de posibles pacientes de SARS-CoV-2 para detectar otros virus respiratorios, ya que se ha demostrado que el SARS-CoV-2 puede proliferar en diversas líneas celulares [183].

Secuenciación genómica del SARS-CoV-2

La secuenciación genómica del SARS-CoV-2 puede servir para investigar la dinámica del brote, incluidos los cambios en la extensión de una epidemia a lo largo del tiempo, su propagación espacio-temporal y el ensayo de hipótesis acerca de las vías de transmisión. Además, las secuencias genómicas pueden utilizarse para decidir qué ensayos de diagnóstico, fármacos y vacunas pueden ser candidatos adecuados para investigaciones ulteriores. Por consiguiente, el análisis genómico del virus SARS-CoV-2 puede complementar, mejorar y apoyar las estrategias encaminadas a reducir la carga de morbilidad de la COVID-19. Sin embargo, dado que la labor necesaria para la secuenciación genómica puede entrañar un costo y un volumen de trabajo elevados, los laboratorios deben prever con cierta claridad qué beneficios conllevará ese esfuerzo y qué se requiere para lograr que los datos de secuencia genómica obtenidos tengan la máxima utilidad. Actualmente se están elaborando orientaciones de la OMS sobre la secuenciación genómica del SARS-CoV-2.

Garantía de la calidad

Antes de que ingresen en el laboratorio un nuevo método de prueba, un nuevo ensayo, nuevos lotes de materiales o un nuevo técnico de PCR, es preciso llevar a cabo una validación o verificación, para asegurar que el sistema de ensayo del laboratorio funcione adecuadamente.

Para los sistemas de PCR manual, cada muestra destinada a la AAN debe incluir controles internos y, en condiciones ideales, un control de la recogida de muestras (diana de genes humanos). Además, se recomienda aplicar controles externos en cada tanda de la prueba. Los laboratorios que encargan en el exterior sus propios cebadores y sondas deben someterlos a pruebas de entrada o validación en las que se examinen la funcionalidad y los posibles contaminantes [184].

Se alienta a los laboratorios a que definan los umbrales de detección de los ensayos que realizan; el personal superior debe reconocer la forma en que la prevalencia de la enfermedad altera el valor de predicción de los resultados de sus ensayos. Cuando el número de casos se reduzca, el valor predictivo positivo disminuirá, por lo que la interpretación de las pruebas debe seguir formando parte de un riguroso plan de garantía de la calidad, cuya interpretación esté basada en el momento de la obtención de la muestra, el tipo de muestra, las características específicas de la prueba, los datos clínicos y los datos epidemiológicos.

Los laboratorios deben poner en marcha medidas para reducir la posibilidad de que se obtengan resultados falsamente positivos en la rRT-PCR y contar con una estrategia para la gestión de resultados no concluyentes. En el anexo 4 se presenta una lista de verificación.

En general, los laboratorios deben contar con un sistema de garantía de calidad y conviene que participen en planes de evaluación externa de la calidad o realicen comparaciones entre laboratorios de resultados de un subconjunto de muestras.

La OMS ya ha aconsejado en ocasiones anteriores a los laboratorios nacionales que garanticen la calidad de sus resultados mediante la confirmación de los resultados de las pruebas de las primeras 5 muestras positivas y las 10 primeras muestras negativas (recogidas de pacientes que se ajustan a la definición de caso) remitiéndolas a uno de los laboratorios de referencia de la OMS que realizan pruebas de confirmación del SARS-CoV-2. La OMS prestó apoyo a laboratorios nacionales para facilitar el envío de muestras a uno de los laboratorios de referencia especializados. Para obtener más información, consulte en el sitio web de la OMS la [lista de laboratorios de referencia](#) [185] y las [instrucciones de envío](#) [135]. El fortalecimiento de los laboratorios nacionales de referencia y el creciente acceso a los planes de evaluación externa de la calidad para el SARS-CoV-2 reducen la necesidad de utilizar este mecanismo. Si en un país no se dispone todavía de pruebas para detectar el SARS-CoV-2, se procurará establecer una capacidad nacional a esos efectos.

Notificación de casos y de resultados de las pruebas

La comunicación rápida de los resultados de las pruebas es importante para la planificación y el diseño de las intervenciones de salud pública y de control de brotes. Los laboratorios deben cumplir los requisitos nacionales en materia de notificación. Todos los resultados de las pruebas, ya sean positivos o negativos, deben ser comunicados de forma inmediata a las autoridades nacionales. Se recuerda a los Estados Partes en el Reglamento Sanitario Internacional su obligación de compartir con la OMS la información de salud pública pertinente en relación con los eventos que deben notificar a la Organización, utilizando el instrumento de decisión que figura en el anexo 2 del RSI (2005) [186].

La interacción regular entre expertos en salud pública, médicos y expertos de los laboratorios locales para debatir sobre las estrategias, los posibles problemas y las soluciones, debe considerarse parte fundamental de una respuesta adecuada a la COVID-19. Esta respuesta incluye la elaboración de orientaciones y de protocolos de estudio (clínicos, epidemiológicos y de ensayo).

La rapidez en el plazo de obtención de los resultados de las pruebas puede, a su vez, repercutir positivamente en el brote [187, 188]. Se necesitan más estudios para determinar con mayor precisión el tiempo máximo aceptable entre el inicio de los síntomas y el resultado de las pruebas para que se observe un impacto en la gestión clínica y el control de los brotes; actualmente se considera razonable un máximo de 24 horas en la mayoría de los contextos. Como los laboratorios muchas veces solo pueden controlar el tiempo que transcurre entre la llegada de la muestra y el resultado de la prueba, es fundamental velar por que las muestras lleguen al laboratorio sin demora.

Métodos

El presente documento se elaboró en consulta con miembros de la red de expertos de laboratorios del SARS-CoV-2. Los expertos de la red cumplieron un acuerdo de confidencialidad y una declaración de intereses. Se examinaron los formularios de declaración de intereses y no se observaron conflictos relacionados con el apoyo a este documento de orientación. En el presente documento se han consultado las orientaciones pertinentes de la OMS [136, 185, 189-194]. Esta es la sexta edición (versión 2020.6) y fue inicialmente adaptada a partir de *Pruebas de laboratorio para detectar el coronavirus causante del síndrome respiratorio de Oriente Medio* [189].

En la elaboración del documento participaron variados expertos de laboratorios clínicos de diferentes regiones. Entre los expertos internos que participaron en la preparación del documento figuran los coordinadores regionales de laboratorios de la OMS, epidemiólogos y expertos clínicos. Esta versión de las orientaciones incorpora los conocimientos y las características más recientes del virus y aborda las preguntas y cuestiones recibidas de las oficinas nacionales y regionales de la OMS y por otros canales.

Colaboradores

Grupo directivo de la OMS: Amal Barakat, Céline Barnadas, Silvia Bertagnolio, Caroline Brown, Lisa Carter, Sebastian Cognat, Jane Cunningham, Varja Grabovac, Francis Inbanathan, Kazunobu Kojima, Juliana Leite, Marco Marklewitz, Jairo Mendez-Rico, Karen Nahapetyan, Chris Oxenford, Boris Pavlin, Mark Perkins, Anne Perrocheau, Jose Rovira, Maria Van Kerkhove, Karin von Eije, Joanna Zwetyenga.

Colaboradores externos:

Sarah Hill, Universidad de Oxford y Royal Veterinary College (Reino Unido); Janine Goss, Public Health England (Reino Unido); Corine Geurts van Kessel, Richard Molenkamp y Marion Koopmans, Erasmus MC y Adam Meijer y Chantal Reusken, RIVM (Países Bajos); Giuseppe Ippolito, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani (Italia); Lucille Blumberg, Instituto Nacional de Enfermedades Transmisibles (NICD) (Sudáfrica); Janejai Noppavan, Instituto Nacional de Salud (Tailandia); Raymond Lin, Laboratorio Nacional de Salud Pública (Singapur); Leo Poon y Malik Peiris, Universidad de Hong Kong, Hong Kong (Región Administrativa Especial de China); George Gao, Centro para el Control de Enfermedades (China).

Referencias

1. *Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19*. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509>.
2. *Laboratory assessment tool for laboratories implementing COVID-19 virus testing*. Organización Mundial de la Salud, 8 de abril de 2020, 7 de julio de 2020]; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331715>.
3. Orientaciones de bioseguridad en el laboratorio relacionadas con la COVID-19. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332076>.
4. *Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19*. Organización Mundial de la Salud, 8 de abril de 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331713>.
5. *Antigen detection in diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays, interim guidance*. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334253>.
6. *Considerations in the investigation of cases and clusters of COVID-19*. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331668>.
7. Vigilancia de salud pública en relación con la COVID-19: orientaciones provisionales, 7 de agosto de 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334000>.
8. Aspectos prácticos del uso del SMVRG para la vigilancia de la COVID-19: orientaciones provisionales. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331706>.
9. *The Unity Studies: Early Investigations Protocols*. 2020, 27 de julio de 2020]; disponible en <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/early-investigations>.
10. Gorbalenya A, B.S., Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, Lauber C, Leontovich A, Neuman B, Penzar D, Perlman S, Poon L, Samborskiy D, Sidorov I, Sola I, Ziebuhr J, The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*, 2020. 5(4): p. 536-544.
11. Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV). 2020, 27 de julio de 2020; disponible en <https://talk.ictvonline.org/>.

12. Naqvi, A.A.T., et al., *Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach*. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020. **1866**(10): p. 165878.
13. Yoshimoto, F.K., *The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19*. Protein J, 2020. **39**(3): p. 198-216.
14. Kim, D., et al., *The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome*. Cell, 2020. **181**(4): p. 914-921 e10.
15. Lu, R., et al., *Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding*. Lancet, 2020. **395**(10224): p. 565-574.
16. Yan, R., et al., *Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2*. Science, 2020. **367**(6485): p. 1444-1448.
17. Ni, W., et al., *Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19*. Crit Care, 2020. **24**(1): p. 422.
18. Wu, Z. and J.M. McGoogan, *Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention*. JAMA, 2020.
19. Mizumoto, K., et al., *Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020*. Euro Surveill, 2020. **25**(10).
20. He, J., et al., *Proportion of asymptomatic coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis*. J Med Virol, 2020.
21. Kronbichler, A., et al., *Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: A systematic review and meta-analysis*. Int J Infect Dis, 2020.
22. Al-Sadeq, D.W. and G.K. Nasrallah, *The incidence of the novel coronavirus SARS-CoV-2 among asymptomatic patients: a systematic review*. Int J Infect Dis, 2020.
23. Kluytmans-van den Bergh, M.F.Q., et al., *Prevalence and Clinical Presentation of Health Care Workers With Symptoms of Coronavirus Disease 2019 in 2 Dutch Hospitals During an Early Phase of the Pandemic*. JAMA Netw Open, 2020. **3**(5): p. e209673.
24. Gudbjartsson, D.F., et al., *Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population*. N Engl J Med, 2020. **382**(24): p. 2302-2315.
25. Arons, M.M., et al., *Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility*. N Engl J Med, 2020.
26. Bitnun, A., et al., *Severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection in Toronto children: a second look*. Pediatrics, 2009. **123**(1): p. 97-101.
27. Richardson, S., et al., *Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area*. JAMA, 2020.
28. Wyllie, A.L., et al., *Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2*. N Engl J Med, 2020.
29. OMS. *R&D blueprint and COVID-19*. 2020 [citado 2020 16 de julio de 2020]; disponible en <https://www.who.int/teams/blueprint/covid-19>.
30. CLOPID-R. *Global research collaboration for infectious disease preparedness, preparedness, data sharing*. 2020, 16 July 2020]; disponible en <https://www.glopid-r.org/our-work/data-sharing/>.
31. Li, Q., et al., *Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia*. N Engl J Med, 2020. **382**(13): p. 1199-1207.
32. Guan, W.J., et al., *Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China*. N Engl J Med, 2020. **382**(18): p. 1708-1720.
33. Linton, N.M., et al., *Incubation Period and Other Epidemiological Characteristics of 2019 Novel Coronavirus Infections with Right Truncation: A Statistical Analysis of Publicly Available Case Data*. J Clin Med, 2020. **9**(2).
34. Lauer, S.A., et al., *The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application*. Ann Intern Med, 2020. **172**(9): p. 577-582.

35. Backer, J.A., D. Klinkenberg, and J. Wallinga, *Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January 2020*. Euro Surveill, 2020. **25**(5).
36. He, X., et al., *Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19*. Nat Med, 2020. **26**(5): p. 672-675.
37. Wolfel, R., et al., *Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019*. Nature, 2020.
38. Weiss, A., M. Jellingso, and M.O.A. Sommer, *Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis*. EBioMedicine, 2020. 58: p. 102916.
39. Sethuraman, N., S.S. Jeremiah, and A. Ryo, *Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2*. JAMA, 2020.
40. Zou, L., et al., *SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients*. N Engl J Med, 2020. **382**(12): p. 1177-1179.
41. Wang, Y., et al., *Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity*. J Clin Invest, 2020.
42. Young, B.E., et al., *Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore*. JAMA, 2020.
43. Kam, K.Q., et al., *A Well Infant with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) with High Viral Load*. Clin Infect Dis, 2020.
44. Hu, Z., et al., *Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China*. Sci China Life Sci, 2020. **63**(5): p. 706-711.
45. Liu, Y., et al., *Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19*. Lancet Infect Dis, 2020.
46. Zheng, S., et al., *Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study*. BMJ, 2020. 369: p. m1443.
47. Lavezzo, E., et al., *Suppression of a SARS-CoV-2 outbreak in the Italian municipality of Vo'*. Nature, 2020. Nature.
48. Agnihothram, S., et al., *Evaluation of serologic and antigenic relationships between middle eastern respiratory syndrome coronavirus and other coronaviruses to develop vaccine platforms for the rapid response to emerging coronaviruses*. J Infect Dis, 2014. **209**(7): p. 995-1006.
49. To, K.K., et al., *Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study*. Lancet Infect Dis, 2020. **20**(5): p. 565-574.
50. Li, N., X. Wang, and T. Lv, *Prolonged SARS-CoV-2 RNA shedding: Not a rare phenomenon*. J Med Virol, 2020.
51. Zhou, B., et al., *The duration of viral shedding of discharged patients with severe COVID-19*. Clin Infect Dis, 2020.
52. Chen, Y., et al., *The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients*. J Med Virol, 2020.
53. Gupta, S., et al., *Persistent viral shedding of SARS-CoV-2 in faeces - a rapid review*. Colorectal Dis, 2020.
54. Xu, K., et al., *Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with COVID-19*. Clin Infect Dis, 2020.
55. Qi, L., et al., *Factors associated with duration of viral shedding in adults with COVID-19 outside of Wuhan, China: A retrospective cohort study*. Int J Infect Dis, 2020.
56. Lescure, F.X., et al., *Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series*. Lancet Infect Dis, 2020.
57. Ling, Y., et al., *Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients*. Chin Med J (Engl), 2020. **133**(9): p. 1039-1043.
58. Pan, Y., et al., *Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples*. Lancet Infect Dis, 2020. **20**(4): p. 411-412.
59. Xing, Y.H., et al., *Prolonged viral shedding in feces of pediatric patients with coronavirus disease 2019*. J Microbiol Immunol Infect, 2020.

60. Oliver S, O.S.J., Patel M, Patel S, Queen I, Quick N et al, *Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States*. Nat Med, 2020.
61. Jeroen J.A. van Kampen, D.A.M.C.v.d.V., Pieter L.A. Fraaij, Bart L. Haagmans, Mart M. Lamers, Nisreen Okba, Johannes P.C. van den Akker, Henrik Endeman, Diederik A.M.P.J. Gommers, Jan J. Cornelissen, Rogier A.S. Hoek, Menno M. van der Eerden, Dennis A. Hesselink, Herold J. Metselaar, Annelies Verbon, Jurriaan E.M. de Steenwinkel, Georgina I. Aron, Eric C.M. van Gorp, Sander van Boheemen, Jolanda C. Voermans, Charles A.B. Boucher, Richard Molenkamp, Marion P.G. Koopmans, Corine Geurtsvankessel, Annemiek A. van der Eijk, *Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants*. medRxiv preprint, 2020.
62. La Scola, B., et al., *Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020. **39**(6): p. 1059-1061.
63. Perera, R., et al., *SARS-CoV-2 Virus Culture and Subgenomic RNA for Respiratory Specimens from Patients with Mild Coronavirus Disease*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(11).
64. Singanayagam A, P.M., Charlett A, Lopez Bernal J, Saliba V, Ellis J, Ladhani S, Zambon M, Gopal R, *Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020*. Eurosurveillance, 2020. **25**(32).
65. *Reseña científica: Criterios para poner fin al aislamiento de los pacientes de COVID-19*. Organización Mundial de la Salud 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332997>.
66. Yuan, J., et al., *PCR Assays Turned Positive in 25 Discharged COVID-19 Patients*. Clin Infect Dis, 2020.
67. Tang, X., et al., *Positive RT-PCR tests among discharged COVID-19 patients in Shenzhen, China*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2020: p. 1-2.
68. Ma, H., et al., *A single-center, retrospective study of COVID-19 features in children: a descriptive investigation*. BMC Med, 2020. **18**(1): p. 123.
69. Xiao, A.T., Y.X. Tong, and S. Zhang, *False-negative of RT-PCR and prolonged nucleic acid conversion in COVID-19: Rather than recurrence*. J Med Virol, 2020.
70. Liu, R., et al., *Positive rate of RT-PCR detection of SARS-CoV-2 infection in 4880 cases from one hospital in Wuhan, China, from Jan to Feb 2020*. Clin Chim Acta, 2020. **505**: p. 172-175.
71. Winichakoon, P., et al., *Negative Nasopharyngeal and Oropharyngeal Swabs Do Not Rule Out COVID-19*. J Clin Microbiol, 2020. **58**(5).
72. Li, Y., et al., *Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19*. J Med Virol, 2020.
73. Lee, T.H., et al., *Testing for SARS-CoV-2: Can We Stop at Two?* Clin Infect Dis, 2020.
74. Kucirka, L.M., et al., *Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure*. Ann Intern Med, 2020.
75. Wang, W., et al., *Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens*. JAMA, 2020.
76. Huang, Y., et al., *SARS-CoV-2 Viral Load in Clinical Samples from Critically Ill Patients*. Am J Respir Crit Care Med, 2020. **201**(11): p. 1435-1438.
77. Wong, M.C., et al., *Detection of SARS-CoV-2 RNA in fecal specimens of patients with confirmed COVID-19: A meta-analysis*. J Infect, 2020. **81**(2): p. e31-e38.
78. Chen, W., et al., *Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity*. Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 469-473.
79. Chen, X., et al., *Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients*. Clin Infect Dis, 2020.
80. Corman, V.M., et al., *SARS-CoV-2 asymptomatic and symptomatic patients and risk for transfusion transmission*. Transfusion, 2020.
81. Zhang, W., et al., *Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes*. Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 386-389.
82. Williams, E., et al., *Saliva as a non-invasive specimen for detection of SARS-CoV-2*. J Clin Microbiol, 2020.

83. Pasomsb, E., et al., *Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19): a cross-sectional study*. Clin Microbiol Infect, 2020.
84. Yang, J.R., et al., *Persistent viral RNA positivity during the recovery period of a patient with SARS-CoV-2 infection*. J Med Virol, 2020.
85. Guo, W.L., et al., *Effect of throat washings on detection of 2019 novel coronavirus*. Clin Infect Dis, 2020.
86. Lai, C.K.C., et al., *Prospective study comparing deep-throat saliva with other respiratory tract specimens in the diagnosis of novel coronavirus disease (COVID-19)*. J Infect Dis, 2020.
87. Azzi, L., et al., *Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2*. Journal of Infection, 2020. **81**.
88. McCormick-Baw, C., et al., *Saliva as an Alternate Specimen Source for Detection of SARS-CoV-2 in Symptomatic Patients Using Cepheid Xpert Xpress SARS-CoV-2*. J Clin Microbiol, 2020.
89. Colavita, F., et al., *SARS-CoV-2 Isolation From Ocular Secretions of a Patient With COVID-19 in Italy With Prolonged Viral RNA Detection*. Ann Intern Med, 2020.
90. Xia, J., et al., *Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection*. J Med Virol, 2020.
91. Wu, P., et al., *Characteristics of Ocular Findings of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China*. JAMA Ophthalmol, 2020.
92. Zhou, Y., et al., *Ocular Findings and Proportion with Conjunctival SARS-COV-2 in COVID-19 Patients*. Ophthalmology, 2020.
93. Zhang, X., et al., *The evidence of SARS-CoV-2 infection on ocular surface*. Ocul Surf, 2020.
94. Cai, J., et al., *A Case Series of children with 2019 novel coronavirus infection: clinical and epidemiological features*. Clin Infect Dis, 2020.
95. Nomoto, H., et al., *Cautious handling of urine from moderate to severe COVID-19 patients*. Am J Infect Control, 2020. **48**(8): p. 969-971.
96. Li, D., et al., *Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019*. JAMA Netw Open, 2020. **3**(5): p. e208292.
97. Paniz-Mondolfi, A., et al., *Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2)*. J Med Virol, 2020. **92**(7): p. 699-702.
98. Moriguchi, T., et al., *A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2*. Int J Infect Dis, 2020. **94**: p. 55-58.
99. Organización Mundial de la Salud. *Manejo clínico de la COVID-19: orientaciones provisionales*. Organización Mundial de la Salud 2020, 27 de mayo de 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332638>.
100. Bordi, L., et al., *Differential diagnosis of illness in patients under investigation for the novel coronavirus (SARS-CoV-2), Italy, February 2020*. Euro Surveill, 2020. **25**(8).
101. Wu, D., et al., *To alert coinfection of COVID-19 and dengue virus in developing countries in the dengue-endemic area*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2020: p. 1.
102. Rodriguez, J.A., et al., *Co-Infection with SARS-COV-2 and Parainfluenza in a young adult patient with pneumonia: Case Report*. IDCases, 2020. **20**: p. e00762.
103. Rawson, T.M., et al., *Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing*. Clin Infect Dis, 2020.
104. Nowak, M.D., et al., *Co-infection in SARS-CoV-2 infected Patients: Where Are Influenza Virus and Rhinovirus/Enterovirus?* J Med Virol, 2020.
105. Wu, D., et al., *Coinfection of Influenza Virus and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-COV-2)*. Pediatr Infect Dis J, 2020. **39**(6): p. e79.
106. Wu, X., et al., *Co-infection with SARS-CoV-2 and Influenza A Virus in Patient with Pneumonia, China*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(6): p. 1324-1326.
107. Khodamoradi, Z., M. Moghadami, and M. Lotfi, *Co-infection of Coronavirus Disease 2019 and Influenza A: A Report from Iran*. Arch Iran Med, 2020. **23**(4): p. 239-243.

108. Azekawa, S., et al., *Co-infection with SARS-CoV-2 and influenza A virus*. *IDCases*, 2020. **20**: p. e00775.
109. Koehler, P., et al., *COVID-19 associated pulmonary aspergillosis*. *Mycoses*, 2020.
110. Yan, G., et al., *Covert COVID-19 and false-positive dengue serology in Singapore*. *Lancet Infect Dis*, 2020. **20**(5): p. 536.
111. Lustig, Y., et al., *Potential antigenic cross-reactivity between SARS-CoV-2 and Dengue viruses*. *Clin Infect Dis*, 2020.
112. Hammitt, L.L., et al., *Added value of an oropharyngeal swab in detection of viruses in children hospitalized with lower respiratory tract infection*. *J Clin Microbiol*, 2011. **49**(6): p. 2318-20.
113. Ek, P., et al., *A combination of naso- and oropharyngeal swabs improves the diagnostic yield of respiratory viruses in adult emergency department patients*. *Infect Dis (Lond)*, 2019. **51**(4): p. 241-248.
114. Sutjipto s, H.L., Yant TJ, Mendis SM, Abdad MY, Marimuthu K, Ng OT, Lin C, Chan M et al., *The effect of sample site, illness duration and the presence of pneumonia on the detection of SARS-CoV-2 by real-time reverse-transcription PCR*. *Open Forum Infectious Diseases*, 2020.
115. Lieberman, D., et al., *Pooled nasopharyngeal and oropharyngeal samples for the identification of respiratory viruses in adults*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010. **29**(6): p. 733-5.
116. Vlek, A.L.M., et al., *Combined throat/nasal swab sampling for SARS-CoV-2 is equivalent to nasopharyngeal sampling*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2020.
117. LeBlanc, J.J., et al., *A combined oropharyngeal/nares swab is a suitable alternative to nasopharyngeal swabs for the detection of SARS-CoV-2*. *J Clin Virol*, 2020. **128**: p. 104442.
118. Pinninti, S., et al., *Comparing Nasopharyngeal and Mid-Turbinate Nasal Swab Testing for the Identification of SARS-CoV-2*. *Clin Infect Dis*, 2020.
119. Palmas, G., et al., *Nasal Swab as Preferred Clinical Specimen for COVID-19 Testing in Children*. *Pediatr Infect Dis J*, 2020. **39**(9): p. e267-e270.
120. Tu, Y.P., et al., *Swabs Collected by Patients or Health Care Workers for SARS-CoV-2 Testing*. *N Engl J Med*, 2020. **383**(5): p. 494-496.
121. Altamirano, J., et al., *Assessment of Sensitivity and Specificity of Patient-Collected Lower Nasal Specimens for Sudden Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Testing*. *JAMA Netw Open*, 2020. **3**(6): p. e2012005.
122. Hamid, H., et al., *COVID-19 Pandemic and Role of Human Saliva as a Testing Biofluid in Point-of-Care Technology*. *Eur J Dent*, 2020.
123. Alizargar, J., et al., *Saliva samples as an alternative for novel coronavirus (COVID-19) diagnosis*. *J Formos Med Assoc*, 2020.
124. Ceron, J.J., et al., *Use of Saliva for Diagnosis and Monitoring the SARS-CoV-2: A General Perspective*. *J Clin Med*, 2020. **9**(5).
125. Chen L, Z.J., Peng J, Li X, Deng X, Shen Z, Guo F, Zhang Q, Zhang Q, Jin Y, Wang L, Wang S *Detection of 2019-nCoV in Saliva and Characterization of Oral Symptoms in COVID-19 Patients*. *SSRN*, 2020.
126. Ng, S.C., F.K.L. Chan, and P.K.S. Chan, *Screening FMT donors during the COVID-19 pandemic: a protocol for stool SARS-CoV-2 viral quantification*. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2020. **5**(7): p. 642-643.
127. Tang, J.W., et al., *Quantitative temporal-spatial distribution of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) in post-mortem tissues*. *J Med Virol*, 2007. **79**(9): p. 1245-53.
128. Nicholls, J.M., et al., *Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome*. *Lancet*, 2003. **361**(9371): p. 1773-8.
129. Pomara, C., G. Li Volti, and F. Cappello, *COVID-19 Deaths: Are We Sure It Is Pneumonia? Please, Autopsy, Autopsy, Autopsy!* *J Clin Med*, 2020. **9**(5).
130. Salerno, M., et al., *No Autopsies on COVID-19 Deaths: A Missed Opportunity and the Lockdown of Science*. *J Clin Med*, 2020. **9**(5).
131. Hanley, B., et al., *Autopsy in suspected COVID-19 cases*. *J Clin Pathol*, 2020. **73**(5): p. 239-242.

132. Basso, C., et al., *Feasibility of postmortem examination in the era of COVID-19 pandemic: the experience of a Northeast Italy University Hospital*. Virchows Arch, 2020.
133. Tian, S., et al., *Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies*. Mod Pathol, 2020. **33**(6): p. 1007-1014.
134. *Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2020*. Organización Mundial de la Salud, 2019; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/327978>.
135. *Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus*. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331639>.
136. *Manual de bioseguridad en el laboratorio, 3.ª ed.* Organización Mundial de la Salud, 2004; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43255>.
137. Corman, V.M., et al., *Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR*. Euro Surveill, 2020. **25**(3).
138. LeBlanc, J.J., et al., *Real-time PCR-based SARS-CoV-2 detection in Canadian Laboratories*. J Clin Virol, 2020: p. 104433.
139. FIND. *SARS-COV-2 molecular assay evaluation results 2020*; disponible en <https://www.finddx.org/covid-19/sarscov2-eval-molecular/molecular-eval-results/>.
140. Uhteg, K., et al., *Comparing the analytical performance of three SARS-CoV-2 molecular diagnostic assays*. J Clin Virol, 2020. **127**: p. 104384.
141. van Kasteren, P.B., et al., *Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19*. J Clin Virol, 2020. **128**: p. 104412.
142. Lowe, C.F., et al., *Detection of low levels of SARS-CoV-2 RNA from nasopharyngeal swabs using three commercial molecular assays*. J Clin Virol, 2020. **128**: p. 104387.
143. Igloi, Z., et al., *Comparison of commercial realtime reverse transcription PCR assays for the detection of SARS-CoV-2*. J Clin Virol, 2020. **129**: p. 104510.
144. Dinnes J, D.J., Adriano A, Berhane S, Davenport C, Ditttrich S, Emperador D, Takwoingi Y, Cunningham J, Beese S, Dretzke J, Ferrante di Ruffano L, Harris IM, Price MJ, Taylor-Phillips S, Hooft L, Leeftang MMG, Spijker R, Van den Bruel A., *Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection*. Cochrane Database of Systematic Reviews 2020(8).
145. Carter, L.J., et al., *Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis*. ACS Cent Sci, 2020. **6**(5): p. 591-605.
146. *Rapid HTA of Alternative Diagnostic Technologies for the Detection of SARS-CoV-2*. 2020; disponible en https://www.higa.ie/sites/default/files/2020-05/Rapid_HTA_COVID-19_tests.pdf.
147. Esbin, M.N., et al., *Overcoming the bottleneck to widespread testing: a rapid review of nucleic acid testing approaches for COVID-19 detection*. RNA, 2020. **26**(7): p. 771-783.
148. Fomsgaard, A.S. and M.W. Rosenstjerne, *An alternative workflow for molecular detection of SARS-CoV-2 - escape from the NA extraction kit-shortage, Copenhagen, Denmark, March 2020*. Euro Surveill, 2020. **25**(14).
149. Alcoba-Florez, J., et al., *Fast SARS-CoV-2 detection by RT-qPCR in preheated nasopharyngeal swab samples*. Int J Infect Dis, 2020. **97**: p. 66-68.
150. Chen, H., et al., *Influence of Different Inactivation Methods on Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Copy Number*. J Clin Microbiol, 2020. **58**(8).
151. Bentley, D.R., et al., *Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry*. Nature, 2008. **456**(7218): p. 53-59.
152. Chu, A.W., et al., *Evaluation of simple nucleic acid extraction methods for the detection of SARS-CoV-2 in nasopharyngeal and saliva specimens during global shortage of extraction kits*. J Clin Virol, 2020. **129**: p. 104519.
153. Hasan, M.R., et al., *Detection of SARS-CoV-2 RNA by direct RT-qPCR on nasopharyngeal specimens without extraction of viral RNA*. PLoS One, 2020. **15**(7): p. e0236564.

154. Mancini, F., et al., *Laboratory management for SARS-CoV-2 detection: a user-friendly combination of the heat treatment approach and rt-Real-time PCR testing*. Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 1393-1396.
155. Yelin, I., et al., *Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools*. Clin Infect Dis, 2020.
156. Mallapaty, S., *The mathematical strategy that could transform coronavirus testing*. Nature, 2020.
157. Williams, B.G., *Optimal pooling strategies for laboratory testing*. arXiv, 2010. **1007.4903**: p. 1-3.
158. Khodare, A., et al., *Optimal size of sample pooling for RNA pool testing: An avant-garde for scaling up severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 testing*. Indian J Med Microbiol, 2020. **38**(1): p. 18-23.
159. Abdalhamid, B., et al., *Assessment of Specimen Pooling to Conserve SARS CoV-2 Testing Resources*. Am J Clin Pathol, 2020. **153**(6): p. 715-718.
160. Aragon-Caqueo, D., J. Fernandez-Salinas, and D. Laroze, *Optimization of group size in pool testing strategy for SARS-CoV-2: A simple mathematical model*. J Med Virol, 2020.
161. Pilcher, C.D., D. Westreich, and M.G. Hudgens, *Group Testing for Sars-Cov-2 to Enable Rapid Scale-Up of Testing and Real-Time Surveillance of Incidence*. J Infect Dis, 2020.
162. Ben-Ami, R., et al., *Large-scale implementation of pooled RNA extraction and RT-PCR for SARS-CoV-2 detection*. Clin Microbiol Infect, 2020.
163. Lambert-Niclot, S., et al., *Evaluation of a rapid diagnostic assay for detection of SARS CoV-2 antigen in nasopharyngeal swab*. J Clin Microbiol, 2020.
164. Mertens, P., et al., *Development and Potential Usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context*. Front Med (Lausanne), 2020. **7**: p. 225.
165. Porte, L., et al., *Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples*. Int J Infect Dis, 2020.
166. Zhao, J., et al., *Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019*. Clin Infect Dis, 2020.
167. Okba, N.M.A., et al., *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(7).
168. Lou, B., et al., *Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since exposure and post symptom onset*. Eur Respir J, 2020.
169. Zhou, P., et al., *A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin*. Nature, 2020. **579**(7798): p. 270-273.
170. Dutch National Taksforce serology, R.C., Murk J, van den Beld M, Reimerink J, Kluytmans J, Wegdam M, Zaaier H, van Loo I, Geurts van Kessel C, Koopmans M. *Report Status of the validation of point-of-care serology tests for SARS-CoV-2 diagnostics: considerations for use*. 15 July 2020; disponible en https://www.nvmm.nl/media/3666/status-validation-poc-ab-tests_20200715_final.pdf.
171. Dutch National Taksforce serology, R.C., Murk J, van den Beld M, Reimerink J, Kluytmans J, Wegdam M, Zaaier H, van Loo I, Geurts van Kessel C, Koopmans M. *Report Status of the validation of ELISA and auto-analyser antibody tests for SARS-CoV-2 diagnostics: consideratoins for use*. 15 July 2020; disponible en https://www.nvmm.nl/media/3667/status-validation-elisa-and-auto-analysers_20200715_final.pdf.
172. Fafi-Kremer, S., et al., *Serologic responses to SARS-CoV-2 infection among hospital staff with mild disease in eastern France*. EBioMedicine, 2020: p. 102915.
173. Deeks J, D.J., Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Philips et al., *Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2*. Cochrane Library, 2020.
174. Jeffrey Seow, C.G., Blair Merrick, Sam Acors, Kathryn J.A. Steel and K.J.D. 10 Malim1, *Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection*. medrxiv 2020.
175. Caini, S., et al., *Meta-analysis of diagnostic performance of serological tests for SARS-CoV-2 antibodies up to 25 April 2020 and public health implications*. Euro Surveill, 2020. **25**(23).
176. Lisboa Bastos, M., et al., *Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis*. BMJ, 2020. **370**: p. m2516.

177. GeurtsvanKessel, C.H., et al., *An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment*. Nat Commun, 2020. **11**(1): p. 3436.
178. Che, X.Y., et al., *Antigenic cross-reactivity between severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus and human coronaviruses 229E and OC43*. J Infect Dis, 2005. **191**(12): p. 2033-7.
179. Meyer, B., C. Drosten, and M.A. Muller, *Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls*. Virus Res, 2014. **194**: p. 175-83.
180. Gorse, G.J., M.M. Donovan, and G.B. Patel, *Antibodies to coronaviruses are higher in older compared with younger adults and binding antibodies are more sensitive than neutralizing antibodies in identifying coronavirus-associated illnesses*. J Med Virol, 2020. **92**(5): p. 512-517.
181. Theel E, F.L., Palavecino, E et al., *Verification procedure for commercial serologic tests with Emergency Use Authorization for detection of antibodies to SARS-CoV-2*. American society for microbiology, 2020.
182. To, K.K., et al., *COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing*. Clin Infect Dis, 2020.
183. Hin Chu, J.F.-W.C., Terrence Tsz-Tai Yuen, Huiping Shuai, Shuofeng Yuan, Yixin Wang, et al, *Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications for clinical manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study*. The Lancet Microbe, 2020. **Volume 1**(ISSUE 1): p. e14-e23.
184. Mogling, R., et al., *Delayed Laboratory Response to COVID-19 Caused by Molecular Diagnostic Contamination*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(8).
185. *WHO reference laboratories providing confirmatory testing for COVID-19*. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://www.who.int/publications/m/item/who-reference-laboratories-providing-confirmatory-testing-for-covid-19>.
186. *Organización Mundial de la Salud. Reglamento Sanitario Internacional (2005), tercera edición*. Organización Mundial de la Salud, 2016; disponible en <https://www.who.int/ihr/publications/9789241580496/es/>.
187. Daniel B Larremore, B.W., Evan Lester, Soraya Shehata, James M Burke, James A Hay, Milind Tambe, Michael J Mina, Roy Parker, *Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for COVID-19 surveillance*. Medrxiv preprint, 2020.
188. Kretzschmar, M.E., et al., *Impact of delays on effectiveness of contact tracing strategies for COVID-19: a modelling study*. Lancet Public Health, 2020. **5**(8): p. e452-e459.
189. *Laboratory testing for Middle East Respiratory Syndrome coronavirus, interim guidance (revised)*. Organización Mundial de la Salud, 2019.
190. *WHO Global Influenza Surveillance Network Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza*. Organización Mundial de la Salud, 2011.
191. *WHO Recommended Surveillance Standards WHO/CDS/CSR/ISR/99.2*. Organización Mundial de la Salud, 1999.
192. *Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks WHO/CDS/CSR/EDC/200.4* Organización Mundial de la Salud, 2000.
193. *Managing epidemics, key facts about major deadly diseases*. Organización Mundial de la Salud, 2018.
194. *Protocolo de estudio de la gripe no estacional y otras afecciones respiratorias agudas emergentes*. Organización Mundial de la Salud, 2018.
195. Rodino, K.G., et al., *Evaluation of Saline, Phosphate-Buffered Saline, and Minimum Essential Medium as Potential Alternatives to Viral Transport Media for SARS-CoV-2 Testing*. J Clin Microbiol, 2020. **58**(6).
196. Poon, P.c.L., *Evaluation of swabs, transport media and specimen transport conditions for the detection of COVID-19 virus by RT-PCR*. University of Hong Kong, 2020.
197. Rogers, A.A., et al., *Evaluation of Transport Media and Specimen Transport Conditions for the Detection of SARS-CoV-2 Using Real Time Reverse Transcription PCR*. J Clin Microbiol, 2020.
198. Radbel, J., et al., *Detection of SARS-CoV-2 is comparable in clinical samples preserved in saline or viral transport media*. J Mol Diagn, 2020.

La OMS sigue observando de cerca la situación para detectar cualquier cambio que pueda afectar a las presentes orientaciones provisionales. De ser así, la OMS publicaría una actualización. En caso contrario, la validez de estas orientaciones provisionales será de un año.

© Organización Mundial de la Salud 2020. Algunos derechos reservados. Esta obra está disponible en virtud de la licencia [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](#).

WHO reference number: [WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.6](#)

Anexo 1: Recogida y conservación de muestras

Tipo de muestra	Materiales recogidos	Temperatura recomendada para la conservación y/o el envío al laboratorio y hasta la realización de la prueba (desde la fecha de recogida de la muestra) [#]
Hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo	Hisopos floculados de dacrón o poliéster con medio de transporte de virus (MTV)*	2-8 °C si ≤12 días* -70 °C (hielo seco) si > 12 días
Lavado broncoalveolar	Recipiente estéril con MTV **	2-8 °C si ≤12 días* -70 °C (hielo seco) si > 2 días
Aspirado (endo)traqueal, aspirado o lavado nasofaríngeo o nasal	Recipiente estéril con MTV **	2-8 °C si ≤2 días* -70 °C (hielo seco) si > 2 días
Espujo	Recipiente estéril	2-8 °C si ≤ 2 días* -70 °C (hielo seco) si > 2 días
Tejidos de biopsia o autopsia, en particular pulmonares	Recipiente estéril con solución salina o MTV	2-8 °C si ≤ 24 horas* -70 °C (hielo seco) si > 24 horas
Suero	Tubos separadores de suero (en adultos: obtener 3-5 ml de sangre entera)	2-8 °C si ≤ 5 días -70 °C (hielo seco) si > 5 días
Sangre entera	Tubo de recogida	2-8 °C si ≤ 5 días -70 °C (hielo seco) si > 5 días
Heces	Recipiente para heces	2-8 °C si ≤ 5 días -70 °C (hielo seco) si > 5 días

[#] Hay que evitar la congelación y descongelación repetidas de las muestras. Si no puede llegarse a -70 °C, puede conservarse a -20 °C.

* Al transportar las muestras para la detección de virus, utilizar de preferencia MTV que contengan suplementos antifúngicos y antibióticos. Si no se dispone de MTV, pueden utilizarse otras soluciones que hayan sido sometidas a validación. Puede ser solución salina tamponada con fosfato (PBS), solución salina estéril al 0,9%, medio esencial mínimo (con almacenamiento a +4 °C hasta 7 a 14 días) [195-197]. En caso de que también haya que detectar otros virus como el de la gripe, no se almacenarán las muestras durante más de 5 días a 4-8 °C, sino a -70 °C o en hielo seco [194].

** Si no se dispone de MTV, puede utilizarse solución salina estéril [198]. La duración de la conservación de las muestras a 2-8 °C puede ser diferente de lo indicado anteriormente.

Además de los materiales concretos que se indican en el cuadro, es preciso asegurar que se dispone de otros materiales y equipos: por ejemplo, recipientes de transporte y bolsas y embalajes/envases para la recogida de muestras; neveras y bolsas de conservación en frío o hielo seco; equipo estéril para la extracción de sangre (por ejemplo, agujas, jeringas y tubos); etiquetas y rotuladores permanentes; EPP; materiales para la descontaminación de superficies, entre otros.

Anexo 2: Formulario de solicitud de pruebas de laboratorio

FORMULARIO DE SOLICITUD DE PRUEBAS DE LABORATORIO para SARS-CoV-2¹

Información del remitente			
NOMBRE DEL HOSPITAL, LABORATORIO, u OTRO ESTABLECIMIENTO*			
Médico			
Dirección			
Número de teléfono			
Definición de caso:²	<input type="checkbox"/> Caso presunto <input type="checkbox"/> Caso probable <input type="checkbox"/> Otro:		
Información del paciente			
Nombre		Apellido	
Número de identificación del paciente		Fecha de nacimiento	Edad
Dirección		Sexo	<input type="checkbox"/> Hombre <input type="checkbox"/> Mujer <input type="checkbox"/> Se desconoce
Número de teléfono			
Información de la muestra			
Tipo	<input type="checkbox"/> Hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo <input type="checkbox"/> Lavado broncoalveolar <input type="checkbox"/> Aspirado endotraqueal <input type="checkbox"/> Aspirado nasofaríngeo <input type="checkbox"/> Lavado nasal <input type="checkbox"/> Esputo <input type="checkbox"/> Tejido pulmonar <input type="checkbox"/> Suero <input type="checkbox"/> Sangre entera <input type="checkbox"/> Heces <input type="checkbox"/> Otros:		
Todas las muestras recogidas se considerarán potencialmente infecciosas; es obligatorio ponerse en contacto con el laboratorio de referencia antes de enviarles muestras. Todas las muestras han de ser enviadas con arreglo a los requisitos de transporte de materiales de la categoría B.			
Por favor, marque la casilla si su muestra clínica es <i>post mortem</i> <input type="checkbox"/>			
Fecha de recogida		Fecha de recogida	
Grado de prioridad			
Detalles clínicos			
Fecha de aparición de los síntomas:			
¿Ha viajado el paciente recientemente a una zona afectada?	<input type="checkbox"/> Sí	País	
	<input type="checkbox"/> No	Fecha de regreso	
¿Ha tenido contacto el paciente con un caso confirmado?	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Se desconoce <input type="checkbox"/> Otra exposición:		
Otras observaciones (por ejemplo, tratamiento antimicrobiano, inmunosupresores)			

¹ Formulario acorde con la norma ISO 15189:2012.

² Vigilancia de salud pública en relación con la COVID-19: orientaciones provisionales.

Anexo 3: Consideraciones al seleccionar la prueba de AAN óptima para el contexto de utilización

Aspecto	Consideraciones
Calidad de fabricación	CE-IVD, OMS EUL, PQ, EU-FDA u otra autorización. Datos de validación independientes. Fabricado con arreglo a la ISO.
Dianas	Número de dianas, especificidad para el SARS-CoV-2 u otros sarbecovirus.
Controles	Para las pruebas manuales de la NAAT, se debe incluir un control positivo del molde y al menos un control negativo del molde (NTC). También se recomienda utilizar un control de extracción y un control interno de la idoneidad de la muestra con genes humanos de mantenimiento.
Instrumental	¿Es el ensayo compatible con los sistemas disponibles en el laboratorio o en el país? Facilidad de uso y utilidad operacional Oportunidad de hacer PCR múltiples con otros patógenos respiratorios. Cálculo de costo de la plataforma y el mantenimiento Facilidad de acceso al proveedor de mantenimiento/solución de problemas.
Flujo de trabajo	¿Puede incorporarse la prueba al flujo de trabajo existente del laboratorio, asegurando al tiempo una mínima perturbación de otros procesos de diagnóstico?
Facilidad de uso	Complejidad del ensayo Número de pasos Adiestramiento y personal necesarios
Requisitos de conservación y envío	Muchas pruebas requieren condiciones de cadena de frío durante el envío y la conservación, lo que en algunas circunstancias puede suponer una dificultad. Algunas pruebas contienen enzimas liofilizadas que no requieren el envío del equipo ni, en ocasiones, conservación en frío. Tiempo de conservación: A fin de estar preparados para períodos más intensos de realización de pruebas, quizá sea necesario mantener reservas, que habrán de tener mayor tiempo de conservación para velar por un uso adecuado de los recursos.
Necesidades de capacitación y acceso	Se dispone de instrucciones de uso (IFU), capacitación por parte de la empresa u otros, medios para la solución de problemas y hay un teléfono de ayuda accesible en el idioma local.
Necesidad de reactivos auxiliares	El kit completo de muestreo/extracción/amplificación o el kit de PCR requiere reactivos o instrumentos adicionales. Compatibilidad con el método de extracción de los laboratorios. Compatibilidad con polimerasas asequibles en caso necesario. Material especial necesario (por ejemplo, un panel de calibración antes de realizar la prueba, plataformas de extracción, bloque térmico, agitador vórtex, soporte magnético o centrifugadora).
Continuidad del suministro	Acuerdo de suministro a largo plazo Rutas de entrega seguras en caso de que se impongan confinamientos Costos de los ensayos y reactivos auxiliares.

Anexo 4: Sugerencias para la lista de verificación con el fin de reducir los posibles casos de falsos positivos de la rRT-PCR y gestión de resultados no concluyentes

Los laboratorios deben haber establecido un procedimiento operativo normalizado para reducir los posibles resultados falsos positivos de la rRT-PCR y para gestionar los resultados no concluyentes. La presente lista de verificación ofrece a los laboratorios sugerencias y consideraciones. La lista de verificación se ha formulado para rRT-PCRs manuales, pero muchos aspectos también pueden ser aplicarse a otras pruebas de AAN.

ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

- Eliminar o reducir la transcripción
- Si se transcribe, método de comprobación
- Clasificación, distribución de alícuotas y rotulación
- Identificadores dobles
- Registro de resultados

CONTAMINACIÓN CRUZADA

- Zona de preparación
- Manipulación de los tubos
- Generación de aerosoles
- Concentración de ácido nucleico y configuración de la extracción
- Formato y pasos de la PCR
- Comprobación de otros positivos en la misma tanda
- Ambiental
- Reactivos contaminados
- Eliminación

EQUIPO y KITS DE PRUEBA

- Método de calibración
- Equipo validado para el kit de prueba
- Evaluar el riesgo de contaminación del nuevo equipo

PRÁCTICA

- Para la detección masiva, separar los grupos de alta prevalencia de los de baja prevalencia.
- Inspección visual de la tanda de prueba
- Analítico - examen de los datos brutos
- Ampliar la tanda cuando sea necesario para el Ct tardío

RESULTADOS NO CONCLUYENTES

- Seguir las instrucciones del fabricante
- Política del laboratorio en caso de resultados no concluyentes
- Otros criterios del laboratorio en relación con la categoría de resultados no concluyentes
- Comunicación de la interpretación a los usuarios
- Criterios para la repetición de pruebas, en su caso
- Uso de otra prueba u otro segmento diana de la PCR
- Comunicación con el personal clínico y de salud pública