



DOCUMENTO REVISIÓN
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE SARS-CoV-2 (COVID-19) versión 1.0
Comité Consultivo de Microbiología Clínica- SOCHINF

Antecedentes virológicos

Un nuevo coronavirus (SARS-CoV-2¹) fue recientemente caracterizado desde pacientes con neumonía grave en la provincia de Hubei, China^{2,3}. La infección por este agente causa una enfermedad respiratoria aguda denominada COVID-19 (coronavirus disease - 2019), que puede manifestarse con variada sintomatología, desde casos leves hasta cuadros clínicos graves y letales⁴. Tras una rápida expansión, se alcanzó el nivel de pandemia el 11 de marzo de 2020. Los coronavirus son virus envueltos, con genoma ARN de monohebra y polaridad positiva de aproximadamente 30 kb. Pertenecen a la familia *Coronaviridae*, identificándose 4 géneros (alfa, beta, gamma, delta). El nuevo SARS-CoV-2 pertenece al género beta coronavirus, al igual que SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-O43 y HCoV-HKU1. Tanto HCoV-229E como HCoV-NL63 pertenecen al género alfa⁵. Los cuatro últimos coronavirus mencionados son virus endémicos, causantes de infecciones respiratorias altas o neumonía en humanos.

Debido a la poca experiencia que aún se tiene respecto a esta enfermedad, surgen muchas dudas respecto a cuáles son las mejores técnicas para su diagnóstico y actualmente existe una gran confusión por la diversidad de kits ofrecidos en el mercado para este propósito y una gran cantidad de literatura médica que se va conociendo cada día, con resultados muy variables, respecto a su utilidad diagnóstica, precisión e interpretación.

Los exámenes que se utilizan para la detección de infección por SARS-CoV-2 se pueden distinguir en los siguientes tipos:

- 1.-Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN): detección del ARN viral.
- 2.-Pruebas de detección de antígenos
- 3.-Pruebas serológicas para detección de anticuerpos.

Revisaremos a continuación los principales aspectos a considerar en la toma de muestras respiratorias para su utilización en tests de TAAN y detección de antígenos virales.

Toma de muestras respiratorias para el diagnóstico de SARS-CoV-2

La etapa preanalítica, que incluye la toma de muestra, su transporte y conservación, es muy importante para mantener un rendimiento adecuado y obtener finalmente un resultado confiable. Cabe considerar, además, el momento en que está cursando la enfermedad y tipo de examen solicitado, ya que cada test tiene diferencias en su rendimiento según los días de evolución del cuadro clínico⁶. Es especialmente crítico que la calidad de la muestra sea la mejor posible, siguiendo las recomendaciones para su obtención y usando los insumos adecuados para evitar que esto genere resultados falsos negativos.



A continuación, se detallan las muestras respiratorias más recomendadas para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2. Es indudable que las muestras respiratorias bajas son las preferidas en pacientes con neumonía.

1. Muestras del tracto respiratorio superior que incluyen:

- Hisopado nasofaríngeo (HNF)
- Hisopado nasofaríngeo + hisopado orofaríngeo
- Hisopado orofaríngeo (HOF)
- Hisopado orofaríngeo + hisopado nasal
- Lavado/aspirado nasofaríngeo o aspirado nasal

Tanto para la búsqueda de antígenos como detección viral por TAAN, la muestra más comúnmente utilizada, corresponde a aquella tomada por HNF/HOF, se pueden tomar ambas muestras y procesar juntas para mejorar el rendimiento de los reactivos⁷. La tórculas o hisopos deben ser depositadas en una solución que permita la liberación del ARN viral.

En Reino Unido (NHS) se recomienda utilizar una tórcula o hisopo por muestra (HNF o HOF o nasal) en el mismo contenedor de medio de transporte o un hisopo aplicado en orofaringe y luego en fosa nasal utilizando un contenedor de medio de transporte⁸.

En Estados Unidos (CDC) actualmente recomienda solo una tórcula o hisopo, de preferencia HNF; si no se dispone de material, son aceptables muestras de HOF o hisopado nasal. En el caso de hisopado nasal, sólo lo recomienda en casos sintomáticos y debe ser tomada con una tórcula por ambas narinas⁹.

En nuestro país, el ISP inicialmente recomendaba una muestra de HNF e HOF; pero actualmente también ha aplicado la indicación de tomar una sola tórcula (HNF).

Kim y cols (2011) demostraron que para el estudio de virus respiratorios utilizando como muestra el HNF o HOF había sensibilidades variables para los distintos agentes estudiados, ninguna tuvo más sensibilidad que la otra, y que recolectando ambas muestras tenían un efecto complementario. Esto reflejaría el tropismo diferente que tendrían los distintos virus respiratorios en el tracto respiratorio. Específicamente en COVID-19, se ha detectado mayor carga viral en nariz versus faringe una vez desarrollados los síntomas¹⁰, así como también que el receptor funcional del virus (ACE2) sería más abundante en las células epiteliales alveolares tipo I y II, por esta razón un paciente con neumonía podría tener un HNF o HOF negativos¹¹.

En relación con la recomendación si usar HNF versus HOF, la evidencia actual no es robusta, y probablemente no se debiera recomendar tomar una muestra de HOF sobre el HNF. Si se decidiera tomar HOF, se debe realizar entre el día 0 a 7, donde se ha visto una sensibilidad de 61,3%, que disminuye desde el día 8 al 14 a un 29% en enfermedad leve y 50% en enfermedad severa. La muestra OF requiere menor entrenamiento, y algunos autores proponen que una muestra nasal y orofaríngea incrementan la sensibilidad y genera menor incomodidad en algunos



pacientes¹². Wölfel y cols publicaron recientemente un estudio donde no encontró diferencias en la detección, así como tampoco en la carga viral detectada cuando se comparó el HNF versus HOF¹³.

La tórula o hisopo nasal presente una sensibilidad variable de 47-73.3%, en casos severos a moderados, en las dos primeras semanas de iniciado el cuadro. Al día 8 presenta un bajo rendimiento, sobre todo en casos leves^{14, 15}. El aspirado nasofaríngeo es una buena alternativa que genera menos riesgo de generar aerosoles en un paciente ventilado y presenta una especificidad del 100%. Se debe repetir seriadamente el examen en caso de ser negativo con sospecha clínica y no excluir tomar muestras del aparato respiratorio inferior en caso necesario¹⁶.

2. Muestras del tracto respiratorio inferior que incluyen:

- Expectoración
- Aspirado traqueal
- Lavado bronquial o bronquioalveolar (LBA)

Las muestras respiratorias bajas son más frecuentemente positivas, así como también el tomar muestras de diferentes sitios mejora la sensibilidad y reduce los falsos negativos¹⁷. Existen publicaciones que destacan mejor rendimiento para muestras de tracto respiratorio inferior tales como esputo o aspirado traqueal, por tener mayor nivel de ARN viral para SARS-CoV y MERS CoV, por lo que plantean que SARS CoV-2 podría presentar una situación similar^{14, 18}.

El LBA en casos severos ha mostrado una sensibilidad del 100% y varía según Yang entre 74.4-88.9% en casos severos a moderados dentro de los 14 días de iniciado el cuadro^{14, 15}. La dificultad que presenta esta muestra es el riesgo de generar aerosoles al momento de su toma¹⁶.

Materiales para toma de muestras

Las muestras deben obtenerse idealmente con tórulas sintéticas de dacrón, nylon o polyester de tipo “flocked” para mejorar la recolección y liberación del material celular. Deben preferirse tórulas o hisopos con vástago de plástico o aluminio. No se deben emplear tórulas de alginato de calcio, algodón ni madera porque contienen sustancias que inhiben las pruebas de RPC (Reacción de Polimerasa en Cadena) o TAAN. Una vez obtenida la muestra debe colocarse inmediatamente en un medio que preserve el ácido nucleico viral, éste puede ser medio de transporte viral (MTU), solución buffer fosfato (PBS) estéril, suero fisiológico estéril o medio Amies líquido.

Las muestras de aparato respiratorio bajo como esputo, aspirado endotraqueal y lavado broncoalveolar se pueden enviar directamente^{9, 19}.

Conservación: las muestras deben ser mantenidas a 2-8°C hasta 72 hrs desde su recolección. Si se requiere mayor tiempo de almacenamiento para su proceso debe ser congelada a -70°C.

Transporte de muestras

El traslado debe ser inmediato al laboratorio, sino conservar refrigerado (2-8°C), asegurando cadena de frío.



Como toda muestra biológica, ésta debe transportarse siguiendo las medidas de bioseguridad según normativa y manejada con precaución estándar, tanto dentro como fuera del recinto hospitalario y utilizando el triple embalaje, (Clasificación UN 3373 para sustancias biológicas Categoría B) en caso de transporte fuera del recinto hospitalario y/o utilización de medios de transporte²⁰.

Técnicas disponibles para estudio SARS-CoV-2:

A) Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos

El diagnóstico y confirmación de casos de COVID-19 se basa en la detección de secuencias específicas del ARN viral, por medio de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN), como la RPC de transcripción reversa en tiempo real^{6,21}. Estas técnicas permiten una detección directa del virus desde inicios del cuadro clínico, permiten la utilización de distintos tipos de muestras respiratorias, y presentan sensibilidad y especificidad adecuadas. Las muestras nasofaríngeas presentan buen rendimiento durante los primeros días de infección, momento en que las cargas virales en el tracto respiratorio alto son mayores^{10,13}, permitiendo el reconocimiento precoz de los casos. Si bien la muestra más utilizada es el hisopado nasofaríngeo/orofaríngeo, también pueden ser utilizados esputo, aspirado endotraqueal y lavado bronquioalveolar, lo cual puede ser recomendado en pacientes con neumonía y TAAN negativa desde muestra de tracto respiratorio alto¹³.

Cabe mencionar que, al tratarse de una técnica de detección de ARN viral, un factor crítico a considerar es la toma de muestra, punto previamente discutido en sección anterior.

La técnica de RT-PCR en tiempo real consta de dos etapas: 1) extracción de ácidos nucleicos y 2) amplificación del fragmento genómico viral.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido que, para la confirmación de un caso, es necesaria la detección de fragmentos genéticos de al menos dos genes de SARS-CoV-2⁶. De esta manera, es fundamental que el protocolo de TAAN implementado incluya al menos dos genes blancos, uno de ellos de tamizaje (detección de segmento común a otros beta coronavirus) y otro de alta especificidad para SARS-CoV-2. Los protocolos disponibles incluyen los genes N, E, S y RdRP como blancos^{6,22}.

En nuestro medio existe disponibilidad de laboratorios clínicos con infraestructura y competencias para la implementación de pruebas moleculares con sistemas altamente automatizados, tanto en los procesos de extracción, como en los de amplificación. Esto permite el estudio de un gran número de muestras con menores tiempos de respuesta. Para aquellos laboratorios con infraestructura menor existen alternativas con métodos automatizados del tipo “*point of care*” como el sistema GeneXpert® o similares, los cuales representan una alternativa de baja complejidad técnica. Esto permite una respuesta rápida, de alta utilidad frente al estudio de pacientes que ingresan en estado crítico o bien en lugares donde no es posible la implementación de equipamiento mayor.



Al día 6 de abril de 2020 -en el contexto de emergencia por pandemia- la FDA ha autorizado 19 kits o protocolos de detección molecular para COVID-19. Esta selección representa una importante referencia para la elección de metodología validada. Esta información y sus actualizaciones están disponibles en <https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medical-devices/emergency-use-authorizations>. Recientemente la Organización Panamericana de la Salud (OPS) ha emitido el documento “Laboratory Guidelines for the Detection and Diagnosis of COVID-19 Virus Infection⁶”, el cual establece los lineamientos generales para la implementación de un protocolo de RPC en tiempo real para SARS-CoV-2, estableciéndose como referencial para la Región de las Américas.

La División de Gestión de Redes Asistenciales del Ministerio de Salud ha creado un sistema de Identificación y Registro de Laboratorios con Capacidad Diagnóstica para SARS-CoV-2 por técnica de RPC en Tiempo Real. Estos laboratorios registrados reportan diariamente sus resultados al Depto. de Epidemiología MINSAL, para la elaboración de las estadísticas oficiales.

B) Pruebas Rápidas para la detección de Antígeno de SARS-CoV2

Las pruebas rápidas para la detección de antígeno SARS-CoV-2 detectan componentes estructurales del virus (tales como proteína S, proteína N), presentes durante etapas tempranas de la infección en muestras de secreciones nasofaríngeas^{23,24}.

Hasta la fecha existe una escasa evidencia con respecto a la utilidad diagnóstica de esta metodología. Teóricamente el antígeno viral es un marcador específico del virus y precede a la aparición de los anticuerpos en pacientes infectados, por lo que la detección del antígeno viral puede servir como una prueba rápida y menos costosa para diagnosticar tempranamente a personas infectadas^{21,25, 26}.

La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica reporta que en España se realizaron ensayos preliminares del test rápido de antígeno en formato de inmunofluorescencia con detección con oro coloidal, el cual arrojó una sensibilidad inferior al 30 % y especificidad del 100% en población que acude a servicio de urgencia²⁵.

Un estudio en fase de publicación comparó el desempeño del test rápido inmunocromatográfico con detección fluorescente (basado en la detección de la proteína de la nucleocápside de SARS-CoV2), con RT-PCR (ORF1ab y región del Gen N de SARS-CoV-2) en muestras de hisopado nasofaríngeo. En este trabajo, se objetivó una sensibilidad del 68%, especificidad del 100% y una exactitud del 72% cuando la RPC obtuvo un valor CT<40. Mientras que cuando la RPC obtuvo un valor CT<30 la sensibilidad fue de 98%, especificidad de 100 % y exactitud del 99%. Por esta razón, los autores recomiendan su uso para diagnóstico temprano de la infección, desde el tercer día de fiebre, indicando que el tiempo de recolección de la muestra, cuando los títulos virales son más altos, podrían mejorar la sensibilidad diagnóstica de las pruebas rápidas de detección de antígeno²⁵.



Pueden ser utilizados como alternativa en el diagnóstico temprano de COVID-19 en laboratorios con recursos limitados o que carecen de RPC, como también puede ser parte de un algoritmo para tamizaje inicial y en caso de ser negativo realizarse RPC²¹.

Las ventajas de estas pruebas reportadas actualmente son ^{21,25}:

- Sensibilidad adecuada (con detección fluorimétrica)
- Rapidez con resultados en 15-30 minutos.
- Buena correlación con la RT-PCR
- Técnica es menos costosa y laboriosa que la RT-PCR
- Fácil de estandarizar
- Sin problema de contaminación

Las desventajas son:

- Difícil procesar muchas muestras en un corto periodo de tiempo
- Utilidad diagnóstica incierta actualmente, debido a falta de evidencia.

Existe una organización no gubernamental, Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND), la cual hace referencia a las pruebas rápidas de detección de antígeno de SARS-CoV-2 con certificación CE, las cuales cumplen con la legislación pertinente de la Unión Europea (UE), Directiva 98/79 / CE sobre IVD. Sin embargo, estas pruebas pueden no estar disponibles para ser compradas en el mercado o puede que no haya distribuidores que las vendan en todos los países²³. Actualmente, FIND enumera varias marcas de pruebas rápidas de detección de antígeno SARS-CoV-2, evaluados de acuerdo con estos criterios: estado reglamentario y tiempo de comercialización, capacidad de fabricación y distribución del proveedor y rendimiento clínico/analítico. Actualmente en esta lista están los siguientes kits²⁷:

- **AmonMed Biotechnology Co., Ltd** COVID-19 Antigen Test Kit (Rare Earth Nano Fluorescence Immunochromatography) (CE-IVD)
- **Beijing Abace Biology Co., Ltd** COVID-19 Viral Antigen Test Kit (Colloidal Gold Immunochromatography) (CE-IVD)
- **Beijing Kewei Clinical Diagnostic Reagent Inc.** Kewei COVID-19 Antigen Rapid Test Kit (Fluorescence) (CE-IVD)
- **Beijing Kewei Clinical Diagnostic Reagent Inc.** Kewei COVID-19 Antigen Rapid Test Kit (Colloidal Gold) (CE-IVD)
- **Coris BioConcept** COVID-19 Ag Respi-Strip (CE-IVD)
- **Jiangsu Biopertectus Technologies Co. Ltd** Perfect POC Novel Corona Virus (SARS-CoV-2) Ag Rapid Test Kit (CE-IVD)
- **SD BIOSENSOR, Inc.** STANDARD Q COVID-19 Ag FIA (CE-IVD).
- **SD BIOSENSOR, Inc.** STANDARD Q COVID-19 Ag Test (CE-IVD)
- **Shenzhen Bioeasy Biotechnology Co., Ltd** Bioeasy 2019-nCoV Ag Fluorescence Rapid Test Kit (Time-Resolved Fluorescence) (CE-IVD)



Tanto el test STANDARD Q COVID-19 Ag FIA, como la prueba de Bioeasy 2019-nCoV Ag Fluorescence Rapid Test Kit (Time-Resolved Fluorescence), tienen interpretación con lector de fluorescencia, el resto de las pruebas requieren lectura visual.

La OMS refiere que las pruebas rápidas desechables para la detección de antígenos de SARS-CoV-2 necesitan ser evaluadas y actualmente no las recomienda para el diagnóstico clínico en espera de una mayor evidencia sobre el rendimiento de la prueba y utilidad. Esta recomendación se actualiza en sus guías a medida que exista más información disponible sobre las pruebas de laboratorio para SARS-CoV-2²². Los laboratorios de referencia de la OMS están realizando actualmente estudios de validación de ensayos comerciales. La Comisión Europea y los países miembros de la UE están financiando estudios rápidos de validación clínica de pruebas de diagnóstico rápido para COVID-19 por laboratorios de hospitales en varios países miembros de la UE. Las publicaciones científicas de estos resultados pronto deberían aclarar el rendimiento clínico y las limitaciones de las pruebas de diagnóstico rápido e indicar qué pruebas se pueden usar de manera segura y confiable para fines médicos o de salud pública²³.

C) Técnicas serológicas en el estudio de COVID19

La serología representa una herramienta diagnóstica ampliamente utilizada en el diagnóstico de enfermedades infecciosas y consiste en la búsqueda de la presencia de anticuerpos en el suero del paciente como una respuesta a la infección. Actualmente se dispone de dos formatos comerciales para la detección de anticuerpos contra SARS CoV-2:

1. ELISA
2. Inmunocromatografía

En términos generales, los ELISA pueden entregar resultados semi cuantitativos, pueden detectar IgA, IgM o IgG, pero requieren de personal entrenado y si bien pueden automatizarse el resultado requiere de varias horas. Las técnicas inmunocromatográficas entregan resultados cualitativos, son más rápidas y no requieren de personal entrenado. Además, en aquellos casos en los que se puede utilizar sangre capilar se podrían realizar fuera del laboratorio. Otros formatos, como son la inmunofluorescencia o búsqueda de anticuerpos neutralizantes sólo está disponible en laboratorios de referencia/investigación.

Respecto a la literatura existen actualmente pocos trabajos que hayan evaluado el desempeño de los inmunoensayos en general para el diagnóstico de COVID19 o trabajos que hayan evaluado test específicos.

Tanto la IgM como la IgA aparecen en promedio al 5º-7º días desde el inicio de los síntomas llegando a un peak al día 14 manteniéndose estables posteriormente, mientras que la IgG sería más tardía, apareciendo a los 14 días²⁸. Al utilizar un ELISA basado en el antígeno N la sensibilidad de la IgM fue de 85.4%, de IgA 92.7% mientras que al día 14 la sensibilidad de IgG fue de 77.9%²⁹. En este mismo estudio se analizaron muestras de pacientes en dos tiempos con 4 días de diferencia. En este grupo de pacientes, la combinación de IgM junto a RPC mejoró la sensibilidad



para la detección de 51,9% a 98.6%. Por otro lado, en el estudio publicado por Wolfel et al. sólo el 50% de los pacientes presentó seroconversión al 7° día, sin embargo, el número de pacientes fue limitado¹³. La estimación de anticuerpos entre las 6° y 7° semanas demostró una sensibilidad de un 100% para la IgG y 78% para la IgM sin embargo el método utilizado no está identificado. Los títulos de anticuerpos disminuyen de manera posterior³⁰.

Casaniti et al. evaluó el test VivaDiag COVID-19 IgM/IgG para uso como tamizaje en urgencia. La sensibilidad al 7° día desde un resultado de RPC (+) fue de 83,3%, mientras en pacientes que acuden al servicio de urgencia con RPC positiva la sensibilidad fue de un 18.4%. En este estudio se incluyeron 10 pacientes sanos con antecedentes de infecciones por otros coronavirus. La especificidad general fue de 97,6% con solo un resultado falso positivo en un paciente en servicio de urgencia con RPC negativo³¹.

En términos de especificidad, se describe entre un 60 a 100% de reactividad cruzada en inmunoensayos lo que depende principalmente del antígeno utilizado^{32,33}. Guo et al. no observó reactividad cruzada para el antígeno N en un pool de 135 sueros de pacientes con antecedentes de infecciones por coronavirus estacionales²⁹, similar a lo observado por Okba et al.³² En este estudio se evaluó la especificidad de los inmunoensayos en un grupo de 203 sueros previamente caracterizados de los cuales 75 tenían anticuerpos contra otros coronavirus humanos. En su estudio, el ELISA *in house* presentó un 100% de especificidad para todos los antígenos evaluados mientras que un ELISA comercial presentó un 86% de especificidad para la determinación de IgA y 90% para la determinación de IgG. En ambos estudio se observa 100% de reactividad cruzada en sueros de pacientes positivos para SARS CoV (No COVID19).

Es importante destacar que los estudios han sido realizados en poblaciones sintomáticas, generalmente hospitalizados o que acuden al servicio de urgencia. El desempeño de éstos en poblaciones oligo o asintomáticas es desconocido. Estudios serológicos realizados en pacientes con SARS demostraron que aquellos pacientes oligosintomáticos presentaban títulos menores³³ lo que también ha sido descrito para COVID 19 pero en un grupo muy reducido de pacientes³².

Actualmente existen en el mercado internacional más de 60 test aprobados para su uso por la Comunidad Europea ²³. El Instituto de Salud Pública de Chile ha entregado un listado de test rápidos para la detección de anticuerpos y que han sido aprobados por alguna autoridad reguladora perteneciente al IMDRF (Foro Internacional de Reguladores de Dispositivos Médicos)²³. Sin embargo, hasta el momento, ningún test serológico está recomendado para diagnóstico o confirmación de casos sospechosos de COVID-19 ^{34,35}.

Es fundamental, dada la gran diversidad de marcas o procedencia de test de detección de anticuerpos en la actualidad, que su desempeño sea evaluado rigurosamente con población nacional antes de su aplicación masiva y que su interpretación se realice a la luz de la clínica y epidemiología de los pacientes o población estudiada.

Además, es importante recalcar, que, con la información actual, no es posible garantizar que la presencia de anticuerpos IgG y M en un paciente implique inmunidad a una nueva infección por este agente, ni que no exista riesgo de transmisión del virus.



Tabla resumen de técnicas de diagnóstico utilizadas en el estudio de COVID-19.

	Detección	Valor	Beneficiados
Técnicas de amplificación de ácido nucleico viral (ARN)	Infección actual con SARS-CoV-2	· Informa del estado de infección individual, permite anticiparse al cuadro clínico y establecer medidas para prevenir transmisión	· Pacientes · Instituciones de salud · Salud pública
Detección de anticuerpos	Infección en curso o anterior con SARS-CoV-2	· Detecta individuos susceptibles (Anticuerpos negativos) y a aquellos previamente infectados · Identifica individuos con anticuerpos neutralizantes · Ayuda en seguimiento de los contactos	· Identifica a los potencialmente inmunes a SARS-CoV-2 · Instituciones de salud · Salud pública
Detección de antígenos	Infección actual con SARS-CoV-2	Aún falta evidencia suficiente. Potencialmente podría informar del estado de infección individual, lo que permite establecer medidas para prevenir transmisión.	· Pacientes · Instituciones de salud

Tabla modificada desde Patel R et al. 2020. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of diagnostic testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio* 11: e00722-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.00722-20>.⁷

Referencias

1. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;(Box 1). doi:10.1038/s41564-020-0695-z
2. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017
3. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;(January). doi:10.1038/s41586-020-2008-3
4. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5
5. Chan JFW, Lau SKP, To KKW, Cheng VCC, Woo PCY, Yue KY. Middle East Respiratory syndrome coronavirus: Another zoonotic betacoronavirus causing SARS-like disease. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(2):465-522. doi:10.1128/CMR.00102-14
6. Organization PAH, World Health Organization. Laboratory Guidelines for the Detection and Diagnosis of COVID-19 Virus Infections. 2020;(March).

Comité Consultivo de Microbiología Clínica- SOCHINF. Versión 1.0 (19 abril 2020).



7. Patel R, Babady E, Theel E, et al. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 COVID-19: Value of Diagnostic Testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *MBio*. 2020. doi:DOI: 10.1128/mBio.00722-20
8. Comparative accuracy of oropharyngeal and nasopharyngeal swabs for diagnosis of COVID-19. The Centre for Evidence-Based Medicine develops, promotes and disseminates better evidence for healthcare. University of Oxford. March 26, 2020.
9. CDC. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Summary of Recent Changes. Revisions were made on April 14, 2020.
10. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020. doi:10.1056/NEJMc2000231
11. Winichakoon P, Chaiwarith R, Liwsrisakun C, Salee P, Goonna A, Limsukon A, Kaewpoowat Q. Negative nasopharyngeal and oro-pharyngeal swab does not rule out COVID-19. *J Clin Microbiol* 2020. <https://doi.org/10.1128/JCM.00297-20>.
12. Spencer S, Thompson MG, Flannery B, Fry A. Comparison of Respiratory Specimen Collection Methods for Detection of Influenza Virus Infection by Reverse Transcription-PCR: a Literature Review. *J Clin Microbiol*. 2019;57(9):e00027-19. Published 2019 Aug 26. doi:10.1128/JCM.00027-19.
13. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020. doi:10.1038/s41586-020-2196-x
14. COVID-19 Science Report: Diagnostics. NUS Saw Swee Hock School of Public Health As of 1 Mar 2020.
15. Yang Y, Yang M, Shen Ch, et al. Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections. *BMJ*. <https://doi.org/10.1101/2020.02.11.20021493>
16. Alhazaani et al. Surviving Sepsis Campaign: Guidelines on the Management of Critically Ill Adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Critical Care Med* 2020; XXX: 00-00.
17. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. Published online March 11, 2020. doi:10.1001/jama.2020.3786
18. Handbook of COVID-19 Prevention and Treatment. The first Affiliated Hospital, Shejiang School of Medicine. 2020.
19. ChengMP, Papenburg J, Desjardins M, et al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus-2: A Narrative Review. *Ann Intern Med* 2020; (Epub ahead of print 13 April 2020), doi: <https://doi.org/10.1093/ajcp/m20-1301>
20. Guía sobre reglamentación relativa a transporte de sustancias infecciosas 2019-2020. OMS.
21. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Documento de Posicionamiento de La SEIMC Sobre El Diagnóstico Microbiológico de COVID-19*; 2020. https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/recomendaciones/seimc-rc-2020-Posicionamiento_SEIMC_diagnostico_microbiologico_COVID19.pdf.
22. World Health Organization. *Laboratory Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Suspected Human Cases*; 2020. <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>.
23. European Centre for Disease Prevention and Control. An overview of the rapid test situation for COVID-19 diagnosis in the EU/EEA 1 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
24. Kumar Sandeep. In Vitro Diagnostic Assay for COVID-19: Recent Advances and Emerging Trends. *Diagnostics* 2020,10,202; doi:10.3390/diagnostics10040202
25. Diao B., Wen K., Chen J., Liu Y., et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.07.20032524>.
26. Tang Y., Schmitz J., Persing D., Stratton Ch. The Laboratory Diagnosis of COVID-19 Infection: Current Issues and Challenges. *J. Clin. Microbiol*. doi:10.1128/JCM.00512-20
27. <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>
28. Liu W. et al. Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-based ELISAs for detecting antibodies against SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol*. 2020 Mar 30. doi: 10.1128/JCM.00461-20. [Epub ahead of print]
29. Guo L et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 21. pii: ciaa310. doi: 10.1093/cid/ciaa310. [Epub ahead of print]

Comité Consultivo de Microbiología Clínica- SOCHINF. Versión 1.0 (19 abril 2020).



30. Du Z. et al. Detection of antibodies against SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. J Med Virol. 2020 Apr 3. doi: 10.1002/jmv.25820. [Epub ahead of print]
31. Cassaniti I. et al. Performance of VivaDiag COVID-19 IgM/IgG Rapid Test is inadequate for diagnosis of COVID-19 in acute patients referring to emergency room department. J Med Virol. 2020 Mar 30. doi: 10.1002/jmv.25800. [Epub ahead of print]
32. Okba NMA et al. SARS CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038059>.
33. Meyer B. et al. Serological analysis for emerging coronaviruses: Challenges and Pitfalls Virus Research. 2014; 194: 175-183
34. Listado de Test Rápidos para detección de anticuerpos CoVID-19 de la Autoridades Reguladoras Nacionales pertenecientes al Foro Internacional de Reguladores de Dispositivos Médicos. Instituto de salud pública de Chile. Abril 2020. https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2020/04/Lista-Test-Ra%CC%81pidos-Covid-al-05_04_2020.pdf
35. <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19>

Integrantes Comité Consultivo de Microbiología Clínica- SOCHINF

Leonardo Chanqueo, Isabel Briceño, Juan Carlos Hormazabal, Paulette Legarraga, Victoria Moreno, Margareta Mühlhauser, Pamela Rojas, Andrea Sakurada, Lorena Tapia.