



Universidad Nacional de Loja

Facultad de la Salud Humana

Carrera de Laboratorio Clínico

Título

**Detección de anticuerpos totales para Covid-19 al personal docente,
administrativo y estudiantil de la Carrera de Laboratorio Clínico de la**

UNL

Autora.

Tesis previa a la obtención
del título de Licenciada en
Laboratorio Clínico

Jennifer Alexandra Riera Yanza

Directora.

Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg.Sc.

Loja - Ecuador

2021

Certificación

Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA:

Que he revisado y orientado todo el proceso de la elaboración del trabajo investigativo titulado: **“Detección de anticuerpos totales para Covid-19 al personal docente, administrativo y estudiantil de la carrera de Laboratorio Clínico de la UNL”**, de autoría de la **Srta. Jennifer Alexandra Riera Yanza**, previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico, cumpliendo los requerimientos en el marco del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja vigente, faculto a la autora para su presentación, disertación y defensa.

Loja, 15 de noviembre del 2021



Firmado electrónicamente por:

LOIDY ZAMORA

Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc.

Directora de tesis

Autoría

Yo, **Jennifer Alexandra Riera Yanza** con **CI. 1105699753**, declaro ser autora del presente trabajo de investigación, y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente, acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación del presente trabajo en el presente Repositorio Institucional de la Biblioteca Virtual.

Autora: Jennifer Alexandra Riera Yanza

Loja, 15 de noviembre del 2021



Firma

CI. 1105699753

Carta de Autorización

Yo, **Jennifer Alexandra Riera Yanza**, declaro ser autora de la tesis titulada: “**Detección de anticuerpos totales para Covid-19 al personal docente, administrativo y estudiantil de la carrera de Laboratorio Clínico de la UNL**”, como requisito para optar al grado de: **Licenciada en Laboratorio Clínico**; autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional del Loja, para que, con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad Nacional de Loja.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o la copia que realice terceros.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja a los 15 días del mes de noviembre del 2021, firma la autora.

Firma:



Firmado electrónicamente por:

Autora: Jennifer Alexandra Riera Yanza

Cedula de identidad: 1105699753

Dirección: Unión Lojana

Correo electrónico: jennifer.8riera@gamil.com

Celular: 0969202711

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis: Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc.

Tribunal de Grado:

Presidente/a: Dr. Luis Alberto Morocho Yaguana, Mg. Sc.

Vocal: Bioquím. Luisa Ivonne Celi Carrión, Mg Sc.

Vocal: Bioquím. María del Cisne Luzuriaga Moncada, Mg. Sc.

Dedicatoria

Todo el esfuerzo plasmado en este trabajo le dedico primeramente a Dios, que es quien nos da la vida, a mi querida familia el pilar más importante que me acompaña en cada uno de mis logros personales, sobre todo a mis padres María Yanza y Julio Riera, los cuales me han brindado a lo largo de toda mi vida, su amor, esfuerzo, apoyo y por brindarme la mejor educación, lo cual se ve reflejado en cada una de mis metas alcanzadas, a lo largo de mi vida.

A Michael Riera mi querido hermano, quien siempre está dispuesto ayudarme y apoyarme en cada una de mis metas, velando siempre por mi bienestar y el de la familia.

A Jessenia Muñoz, mi amiga incondicional, la que siempre me apoya y me aconseja, para dar lo mejor de mí y a nunca rendirme.

Riera Yanza Jennifer Alexandra

Agradecimiento

Manifiesto mis más sinceros agradecimientos a todo el personal administrativo y docente de la Universidad Nacional de Loja, especialmente a la carrera de Laboratorio Clínico, por la oportunidad, conocimientos brindados y la experiencia para el desarrollo de mi vida profesional.

A mi directora de tesis Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc., quien con su abnegación y amplia experiencia en conocimientos me guiaron en el desarrollo de este trabajo, brindando las sugerencias pertinentes con responsabilidad.

A la Dra. Sandra Freire, gestora académica de la Carrera de Laboratorio Clínico, por brindarme su apoyo para la realización del presente trabajo.

A toda mi familia, por los valores que me inculcaron y el apoyo que me ofrecieron, lo cuales han sido parte fundamental en cada escalón de mi vida permitiéndome cumplir cada meta planteada, además de estar siempre presente en cada logro alcanzado.

Riera Yanza Jennifer Alexandra

Índice

| | |
|--|-----|
| Carátula | i |
| Certificación | ii |
| Autoría..... | iii |
| Carta de Autorización..... | iv |
| Dedicatoria | vi |
| Agradecimiento | vii |
| 1. Título | 1 |
| 2. Resumen | 2 |
| Summary | 3 |
| 3. Introducción | 4 |
| 4. Revisión Literaria..... | 7 |
| 4.1 Antecedentes | 7 |
| 4.2 Los coronavirus y sus características generales | 7 |
| 4.2.1 <i>Taxonomía</i> | 8 |
| 4.2.2 <i>Características estructurales</i> | 8 |
| 4.3 SARS-COV-2..... | 8 |
| 4.3.1 <i>Ciclo de replicación</i> | 10 |
| 4.3.2 <i>Formas de transmisión</i> | 11 |
| 4.3.3 <i>Periodo de incubación</i> | 12 |
| 4.3.4 <i>Signos y síntomas</i> | 12 |
| 4.3.5 <i>Respuesta inmunológica contra el SARS CoV-2</i> | 13 |
| 4.4 Métodos utilizados para el diagnóstico de SARS CoV-2 | 14 |
| 4.4.1 <i>Técnicas moleculares</i> | 15 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.4.1.1 | RT-PCR. | 15 |
| 4.4.2 | <i>Técnica de detección de antígenos</i> | 16 |
| 4.4.3 | <i>Técnica de detección de anticuerpos</i> | 16 |
| 4.4.3.1 | Pruebas inmunocromatográficas..... | 17 |
| 4.4.3.2 | Técnica de ELISA..... | 18 |
| 4.4.3.3 | Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia..... | 18 |
| 5. | Metodología | 20 |
| 5.1 | Tipo de estudio | 20 |
| 5.2 | Área de estudio..... | 20 |
| 5.3 | Universo | 20 |
| 5.4 | Muestra..... | 20 |
| 5.5 | Tabulación y análisis..... | 20 |
| 5.6 | Presentación de datos recopilados..... | 21 |
| 5.7 | Fuentes de información | 21 |
| 5.8 | Consideraciones éticas | 21 |
| 5.9 | Criterios de inclusión | 22 |
| 5.10 | Criterios de exclusión..... | 22 |
| 5.11 | Materiales y Métodos | 22 |
| 5.11.1 | <i>Fase Preanalítica</i> | 22 |
| 5.11.2 | <i>Fase Analítica</i> | 23 |
| 5.11.3 | <i>Fase Postanalítica</i> | 24 |
| 6 | Resultados | 25 |
| 7 | Discusión..... | 30 |
| 8 | Conclusiones | 34 |

| | |
|---|----|
| 9 Recomendaciones..... | 35 |
| 10 Referencias Bibliográficas | 36 |
| 11 Anexos..... | 44 |
| 11.1 Anexo 1: Consentimiento Informado | 44 |
| 11.2 Anexo 2: Ficha epidemiológica..... | 47 |
| 11.3 Anexo 3: Ficha de Investigación..... | 49 |
| 11.4 Anexo 4: Protocolo para la obtención de muestra sanguínea..... | 52 |
| 11.5 Anexo 5: Protocolo para el transporte de muestras sanguíneas | 55 |
| 11.6 Anexo 6: Protocolo para la calibración del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2 | 57 |
| 11.7 Anexo 7: Protocolo para el control de calidad del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2 | 59 |
| 11.8 Anexo 8: Protocolo para el análisis de anticuerpos totales | 61 |
| 11.9 Anexo 9: Protocolo para el análisis de inmunoglobulinas IgM | 63 |
| 11.10 Anexo 10: Protocolo para el análisis de inmunoglobulinas IgG..... | 67 |
| 11.11 Anexo 11: Nomina de registro de datos obtenidos | 70 |
| 11.12 Anexo 12: Certificado del Hospital Isidro Ayora sobre la detección de anticuerpos totales..... | 71 |
| 11.13 Anexo 13: Certificado de la realización de las Inmunoglobulinas IgG e IgM..... | 72 |
| 11.14 Anexo 14: Certificación de traducción..... | 73 |
| 11.15 Anexo 15: Certificación original de la traducción del resumen | 74 |
| 11.16 Anexo 16: Evidencias..... | 75 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1 Distribución de los elementos de la muestra..... | 25 |
| Tabla 2 Detección de anticuerpos totales positivos y negativos, por el método de electroquimioluminiscencia | 26 |
| Tabla 3 Resultados obtenidos en la determinación de anticuerpos IgG a través del método de ELISA a los pacientes con anticuerpos totales positivos..... | 27 |
| Tabla 4 Resultados obtenidos en la determinación de anticuerpos IgM a través del método de ELISA a los pacientes con anticuerpos totales positivos..... | 28 |
| Tabla 5 Sexo de la población en estudio que posee mayor frecuencia de anticuerpos totales positivos | 29 |

1. Título

Detección de anticuerpos totales para Covid-19 al personal docente, administrativo y estudiantil de la carrera de Laboratorio Clínico de la UNL

2. Resumen

Los anticuerpos cumplen funciones muy importantes dentro del organismo frente a las infecciones. La cinética de estos durante la enfermedad del Covid-19, puede ser determinada mediante pruebas serológicas, lo que permite la detección de casos de infecciones con síntomas leves o nulos, el estudio de un brote o conglomerado en curso cuando las pruebas moleculares son negativas y si existe una fuerte relación epidemiológica y sospecha clínica. Por lo que el presente estudio tiene como objetivo identificar anticuerpos totales, es decir defensas que el sistema inmunitario genera cuando un individuo padece una infección, para Covid-19 al personal docente, administrativo y estudiantil de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja. La presente investigación es de tipo cuantitativo, con diseño no experimental, transversal y descriptivo, que contempla una población de 56 personas. Para esto se empleó el método de electroquimioluminiscencia, posteriormente se pudo determinar la presencia de anticuerpos IgG conocidos también como inmunoglobulinas que ofrecen protección frente a infecciones bacterianas y virus, e IgM definidos como la primera inmunoglobulina que ofrece protección contra una infección, a través de una técnica cualitativa de ELISA aplicada en los casos positivos para anticuerpos totales, a la vez que se identificó la frecuencia de anticuerpos totales positivos en relación al sexo de la población en estudio. Obteniendo como resultados que el 23% de los casos fueron positivos y el 76,8% negativos para la presencia de anticuerpos totales, a partir de los cuales el 100% presentaron IgG y solo un 30,8% IgM. Así mismo la población femenina mostró una frecuencia de anticuerpos totales levemente mayor a la masculina.

Palabras clave: SARS-CoV-2, anticuerpos totales, IgG e IgM, ELISA, Electroquimioluminiscencia.

Summary

Antibodies play important roles within the body against most infections. The kinetics of these during the Covid-19 disease can be determined by serological tests, which allows the detection of cases of infections with mild or no symptoms, the study of an outbreak or cluster in progress when the molecular tests are negative, and if there is a strong epidemiological relationship and clinical suspicion. Therefore, the present study aims to identify total antibodies, which means, defenses that the immune system generates when a human being suffers from an infection, for Covid-19 to the teaching, administrative, and student staff of the Clinical Laboratory career of the National University of Loja. This research is quantitative, with a non-experimental, cross-sectional, and descriptive design, which includes a population of 56 people. For this, the electrochemiluminescence method was used, and in this way , it was possible to determine the presence of IgG antibodies known also as immunoglobulins that offer protection against bacterial infections and viruses, and IgM defined as the first immunoglobulin that offers protection against infection, through a qualitative ELISA technique applied in cases positive for total antibodies, while identifying the frequency of total positive antibodies concerning the sex of the study population. Obtaining as results that 23% of the cases were positive and 76.8% negative for the presence of total antibodies, from which 100% presented IgG and only 30.8% IgM. In the same way, the male population showed a slightly higher frequency of total antibodies than the female.

Keywords: SARS-CoV-2, total antibodies, IgG and IgM, ELISA, Electrochemiluminescence.

3. Introducción

Los coronavirus son una extensa familia de virus que pueden causar afecciones en el tracto respiratorio. La aparición del SARS-CoV-2 en la ciudad de Wuhan, China, ha generado un gran impacto económico, político, social, sanitario y educativo a nivel mundial. En donde el virus ha mostrado una capacidad de transmisión elevada, ya que es posible el contagio a partir de pacientes asintomáticos mediante aerosoles (Hernández, 2020).

Las sintomatologías más comunes descritas para la enfermedad del Covid-19, causada por SARS-CoV-2 corresponden a fiebre y síntomas respiratorios como tos y disnea o dificultad para respirar y en los casos más graves, puede provocar neumonía, síndrome respiratorio agudo severo, insuficiencia renal e incluso la muerte (Hernández, 2020).

La letalidad estimada durante los dos primeros meses desde su aparición oscilaba del 2% al 3%, considerando que existía el 10% de la población afectada y un número de reproducción básico de 2 a 2.5, es decir, que 2 a 3 personas se infectarán a partir de un paciente contagiado (Dashraath et al., 2020).

Dentro de las pruebas utilizadas para estudios epidemiológicos de SARS-CoV-2 se cuenta con los ensayos serológicos, mismos que permiten la detección de anticuerpos desarrollados por los pacientes, incluidos aquellos que no desarrollan síntomas, por consiguiente es de gran importancia ya que muchos de estos pacientes no acuden a los servicios de salud, por lo que durante la fase aguda de la enfermedad no son diagnosticados como casos positivos, mediante métodos que detectan el ARN viral (Ramos et al., 2020).

En pacientes que presentan síntomas las pruebas serológicas contribuyen a complementar los ensayos de la RT-PCR estándar en el diagnóstico de SARS-CoV-2, ya que existe evidencia que la diseminación viral en el sistema respiratorio superior disminuye de 7 a 10 días después de la infección, lo que conlleva a resultados negativos en muestras de hisopado de al menos el 30% al

50% de los casos. Por lo tanto, la determinación de anticuerpos específicos frente al virus, empiezan a ser detectables dentro de los primeros 5 a 7 días después de la infección en una gran cantidad de pacientes, ayudaría en la detección de casos con resultados negativo de la prueba de RT-PCR. Pero esto no significa que este tipo de exámenes reemplacen a los ensayos de detección directa de este patógeno, ya que se debe tener en cuenta el tipo de prueba y método de validación a utilizar, la clínica del paciente y que la respuesta inmunológica desencadenada por este virus tiene un cierto tiempo de latencia, (Özçürümez et al., 2020).

Debido a que los primeros marcadores serológicos que se puede detectar en la sangre son los anticuerpos totales, seguidos de los anticuerpos IgM e IgG, con un periodo de seroconversión entre 15, 18 y 20 días después de la exposición al virus, en donde su detección servirá como indicativo de infección activa o pasada, para el rastreo de contactos, vigilancia serológica, identificación de pacientes que sufrieron la enfermedad y que pueden ser inmunes y para la detección de pacientes con prueba molecular negativa en fase de convalecencia o recuperación (Valero et al., 2021).

Según el Ministerio de Salud Pública (2021) en Ecuador hasta el mes de marzo del 2021 se han reportado más de 328 775 casos de coronavirus, de los cuales 281 684 pacientes se han recuperado, 760 328 fueron descartados y 16 870 personas han fallecido, con respecto al primer caso, que fue reportado el 29 de febrero del 2020, de modo que el territorio ecuatoriano se ubica entre los tres países de Sudamérica con más casos confirmados hasta el momento.

Además se debe considerar que todo el personal que se encuentra laborando en las instituciones de salud pública y privada en Ecuador, se encuentran en estrecho contacto con pacientes, dando lugar a una posibilidad de contagio, en cuyo caso muchas de las personas no presentan síntomas. Así mismo, los estudiantes que realizan sus prácticas preprofesionales durante

el transcurso de la pandemia, tienen un mayor riesgo de infección por SARS-CoV-2, siendo de gran importancia conocer si:

- ¿Existe la presencia de anticuerpos totales para Covid-19 en el personal administrativo, docente y estudiantil de la Carrera de Laboratorio Clínico de la UNL que tengan que acudir a la institución de manera presencial, ya sea por motivos laborales o para ejercer sus prácticas preprofesionales durante el periodo octubre 2020 a marzo 2021?

Por lo anteriormente expuesto, y haciendo énfasis en la falta de datos en nuestro medio sobre la detección de anticuerpos frente al SARS-CoV-2, la presente investigación se encuentra enfocada en los siguientes objetivos:

- Identificar anticuerpos totales para Covid-19 en el personal administrativo, docentes y estudiantes de la Carrera de la Laboratorio Clínico, en el periodo octubre 2020 a marzo 2021.
- Determinar con qué frecuencia se presentan los anticuerpos IgG e IgM, a través del método de ELISA en la población que resulte positiva para los anticuerpos totales.
- Identificar en qué sexo es más frecuente la presencia de anticuerpos totales positivos para Covid-19 en la población de estudio.

4. Revisión Literaria

4.1 Antecedentes

El 31 de diciembre del 2019 la Comisión Municipal de Salud y Sanidad de Wuhan, provincia de Hubei, China, informó sobre la existencia de 27 casos de neumonía de etiología desconocida, cuyos casos tenían en común la exposición en un mercado de mariscos, pescado y animales vivos en la ciudad de Wuhan (Calvo et al., 2020).

Siendo así que el 1 de enero del 2020 este mercado fue cerrado y para el 7 de enero se identificó que el agente causal, de este brote de casos de neumonía se debía a un nuevo tipo de virus de la familia *Coronaviridae*, denominado temporalmente como el nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV) siendo secuenciado genéticamente por primera vez el 12 de enero del 2020 recibiendo el nombre de SARS-CoV-2 (Moreno et al., 2020).

El 30 de enero la Organización Mundial de la Salud (OMS) declara este brote, como una emergencia de salud pública de importancia internacional, debido a que en esta fecha ya se habían reportado más de 9 629 casos en toda China y 90 casos en diferentes países del mundo (Gamboa et al., 2020).

Y para el 12 de marzo la OMS decreta que el brote de la enfermedad causada por el SARS-CoV-2 es considerada una pandemia, debido al aumento exponencial de personas contagiadas a nivel mundial, mismo que hasta la fecha se reportan más de 84,5 millones de casos y más de 1,8 millones de muertes en todo el mundo (Vega et al., 2020).

4.2 Los coronavirus y sus características generales

Los coronavirus son virus de ARN de sentido positivo con envoltura y proyecciones en forma de púas en su superficie que le dan una apariencia de corona bajo el microscopio electrónico, confiriéndole así su nombre. Mismos que en los seres humanos llegan a provocar desde el resfriado

común hasta infecciones en la parte inferior del aparato respiratorio y gastroenteritis en los lactantes (Palacios et al., 2020).

4.2.1 Taxonomía

Los coronavirus son miembros del orden *Nidovirales*, familia *Coronaviridae*, subfamilia *Orthocoronavirinae*. En donde esta subfamilia comprende cuatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gamacoronavirus* y *Deltacoronavirus* de acuerdo a su estructura genética, de los cuales se ha evidenciado que los *Alfacoronavirus* y *Betacoronavirus*, infectan solo a mamíferos y normalmente son responsables de infecciones respiratorias en humanos y gastroenteritis en animales (Comité Internacional de Taxonomía de Virus, 2019) .

4.2.2 Características estructurales

Estructuralmente los coronavirus son partículas esféricas o pleomórficas de gran tamaño, con un diámetro entre 80 y 120nm, los cuales bajo el microscopio electrónico el virión presenta dos proteínas transmembranas tipo I, constituidas por la glicoproteína trimérica S, espiga o peplómero y una hemaglutinina-esterasa (He) (Zhang y Holmes, 2020).

La proteína S de este virus está compuesta de dos subunidades funcionales: S1 (bulbo) y S2 (tallo), involucrados en los procesos de adhesión, fusión y entrada del virus en la célula hospedadora, la envoltura viral se encuentra constituida por la glicoproteína de membrana (M), que es la estructura proteica más abundante incrustada a través de tres dominios transmembrana y por la proteína de envoltura (E), transmembrana, presente en una menor proporción (Salas et al., 2020).

4.3 SARS-COV-2

El SARS-CoV-2 pertenece al género de los *Betacoronavirus*, que posee en su interior una cadena positiva de ARN sencilla no segmentada, su envoltura posee un diámetro entre 60 a 140nm que le confiere una morfología redondeada o elíptica, además su genoma consta de 29003 pares de

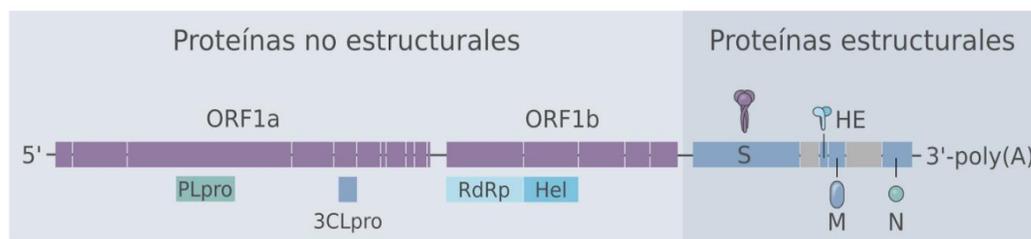
bases, mismo que contiene elementos específicos que le facilitan la replicación del virus y la formación de cuatro proteínas esenciales estructurales (Oliva, 2020).

El genoma viral consiste en una hebra de ARN no segmentada, sentido positivo, de gran tamaño entre 27 a 32 kb, el ARN genómico contiene múltiples marcos abiertos de lectura (MALs), con su cola de poli adeninas hacia el extremo 3' y una caperuza metilada hacia el extremo 5' (Figura 1). En la que los genes que codifican para las proteínas no estructurales se sitúan en el extremo 5', de los cuales se organizan en dos MALs (ORF1a y ORF1b), mismos que darán lugar, a otras proteínas como la proteasa PLpro y 3CLpro, a la enzima ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) y helicasa (Hel) y las que codifican para las proteínas estructurales en el extremo 3' (Gutiérrez, 2020).

Como la glicoproteína espiga (S) que es responsable de la unión y fusión del virus con las membranas celulares, la proteína de membrana (M) responsable del transporte transmembrana de nutrientes, de la liberación de la partícula viral y eventual formación de su envoltura, también se encuentra las proteínas de la nucleocápside (N) y las de envoltura (E), que interfieren en la respuesta inmune del hospedador (Figura 2A) (D. Kim et al., 2020)

Figura 1

Estructura genómica del SARS-COV-2



Nota. La figura muestra la estructura genómica del virus que azota actualmente al mundo. Tomado de Estructura y genoma del coronavirus SARS-CoV-2, por V. Asensio, 2020, Wikimedia.

4.3.1 Ciclo de replicación

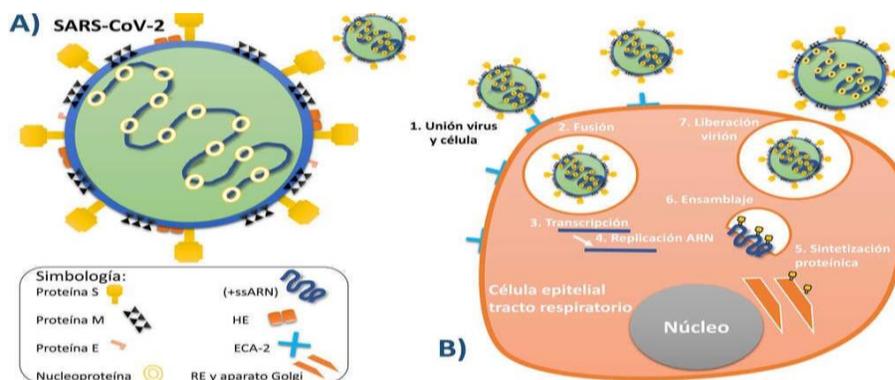
El SARS- CoV-2 infecta y se replica con mayor predominio en los neumocitos, macrófagos y células dendríticas de las partes más profundas del parénquima pulmonar en las que reside el receptor celular, enzima convertidora de angiotensina 2 (ANG-2), que es utilizado por el virus para unirse a estas células e iniciar el proceso infeccioso (Oña et al., 2019).

En donde su replicación se inicia con la unión de la proteína S con el ANG-2 que es el receptor presente en la superficie de la célula, produciéndose un cambio en la conformación de la proteína S, facilitando la fusión de la envoltura vírica con la membrana celular, para que se pueda dar la liberación del ARN del virus dentro de la célula hospedadora, el mismo que se traduce en poliproteínas helicicas pp1a y pp1b, que a su vez se transcribe en otras proteínas menores mediante la acción de proteínasas virales (figura 2B) (Aldámiz et al., 2020).

Después las polimerasas inician la síntesis de ARN mensajeros subgenómicos a través de un procedimiento de transcripción discontinua que finalmente se traducen en proteínas víricas, las mismas que con el ARN genómico se ensamblan en viriones en el retículo endoplasmático, dirigiéndose de ahí al compartimiento intermediario retículo endoplasmático-complejo de Golgi (ERGIC), en donde los genomas virales encapsulados por la proteína N brotan en las membranas del ERGIC que contiene proteínas estructurales víricas, formando viriones maduros, los mismos que son transportados en vesículas del complejo de Golgi hacia la membrana plasmática de la célula infectada y liberados mediante exocitosis (Saltigeral y León, 2020).

Figura 2

A) Estructura del SARS-CoV-2 B) Ciclo de replicación del SARS-CoV-2



Nota. La presente figura se subdivide en dos, en el literal A se puede apreciar la estructura del virus, mientras que en el literal B se observa el ciclo de replicación del virus. Tomado de Pandemia COVID-19, la nueva emergencia sanitaria de preocupación internacional: una revisión (p.75), por R. Mojica y M. Morales, 2020, Medicina En Familia.

4.3.2 Formas de transmisión

El virus se puede transmitir a través de dos formas una de ellas es por transmisión animal-humano, en donde los primeros casos reportados apuntan al contacto directo con animales infectados o por sus secreciones respiratorias y la otra forma por el mecanismo de transmisión de humano a humano (Pérez et al., 2020).

Puede tener tres rutas principales de transmisión que son: por transmisión por gotitas de más de 5 micras, provenientes de la tos o el estornudo de una persona infectada que son ingeridas o inhaladas por personas que se localiza a una distancia menor a dos metros cercanas a ellos, la otra vía es por transmisión por contacto, que sucede cuando la persona toca una superficie u objeto contaminado con el virus y luego tiene contacto con la boca, nariz o los ojos y la última forma de

transmisión es a través de aerosoles, que se da cuando se inhalan altas dosis de aerosoles en los pulmones en un ambiente cerrado (Adhikari et al., 2020).

4.3.3 *Periodo de incubación*

Su periodo de incubación más frecuente se estima que es entre 4 y 7 días con un promedio de 5 días y en algunos casos produciéndose en un 95% a los 12,5 días desde la exposición, por lo cual la OMS recomienda el aislamiento por 14 días más luego del alta hospitalaria, debido a que algunos estudios han revelado que el virus se puede aún transmitir después de los primeros 14 días de haberlo contraído (Lauer et al., 2020).

4.3.4 *Signos y síntomas*

Los síntomas aparecen a los 11,5 días después de la exposición al virus, siendo los más frecuentes similares a la gripe en los que se incluye: fiebre, tos seca, congestión nasal, disnea, mialgia o fatiga, linfopenia, malestar en general, en cambio que en los hallazgos radiológicos en el tórax se ha encontrado infiltrados pulmonares bilaterales y neumonía bilateral o patrón en vidrio esmerilado (Harrison et al., 2020).

En los casos más graves de la enfermedad se han descrito problemas neurológicos, como meningitis, encefalitis, infartos cerebrales isquémicos, trombosis cerebral de los senos venosos, hemorragia cerebral, ataxia, epilepsia y encefalopatía necrotizante aguda hemorrágica, también se ha evidenciado la presencia de trastornos de la conciencia, parestesias, síndrome de Guillain-Barré, enfermedades cerebrovasculares, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sepsis y choque séptico que conduce a alrededor del 3 % de los infectados a la muerte (Padrón y Dorta, 2020).

Otros síntomas y signos que se han evidenciado son: problemas digestivos como náuseas, vómito, diarrea y dolor abdominal, manifestaciones cardiovasculares, en las que se ha manifestado la presencia de miocarditis, misma que en los casos más graves se ha asociado a fallo cardíaco

agudo con un incremento asociado de la mortalidad de 50 a 70%, en aquellos pacientes que presentan comorbilidades (Góngora y Gámez, 2020).

4.3.5 Respuesta inmunológica contra el SARS CoV-2

Producida la invasión viral, el sistema inmune empieza el reconocimiento del virus completo o sus epítopes de superficie, induciendo la respuesta inmune innata o adaptativa del huésped. La inmunidad innata es la primera línea de defensa del sistema inmunológico de un huésped frente a las infecciones virales, puesto que esta inmunidad ayuda a la estimulación no solo de la respuesta inmune adaptativa, también la de la respuesta inmune sistemática contra la infección viral (Kalergis et al., 2020).

En la inmunidad innata juegan un papel importante los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) presentes en las células inmunitarias, específicamente los receptores de ARN endosómico, tipo Toll 3, 7 y 8, que van a permitir el reconocimiento del ARN viral del SARS CoV2, mismos que se expresan en los macrófagos y células dendríticas, permitiendo así la estimulación gradualmente de la producción del interferón de tipo I (IFN), de las citosinas proinflamatorias, como interleucina 1 y 6 y factor de necrosis tumoral TNF- α , que actúan como un mecanismo de defensa contra el virus. Además que cuando amplifican su expresión, se activa la respuesta inmune adaptativa o la eliminación de patógenos (Zhand et al., 2020).

En la inmunidad adaptativa juega un papel muy importante la respuesta inmune mediada por células, especialmente las células T que provee una respuesta inmune robusta contra la infección viral. En la que las células T CD4+ modulan las respuestas de las células T CD8+, inmunidad humoral y la actividad antiviral, mediada por macrófagos y participando en el reclutamiento de células para los sitios de infección. En cambio que las células T CD8+ ayudan en el control de las infecciones virales matando directamente las células infectadas, secretando

citosinas y formando una memoria que protege contra la reinfección. Permitiendo así la activación de las células B productoras de anticuerpos (K. Do Kim et al., 2020).

Otra respuesta inmune que se produce es la humoral, la cual intervienen los linfocitos B, que permiten el reconocimiento directo de los antígenos virales como la glicoproteína espiga y la proteína nucleocápside producidos por el SARS-CoV-2, mismos que se activan y se diferencian en células plasmáticas y células B de memoria. Las células plasmáticas producen las inmunoglobulinas de la clase M que revela la respuesta inmunológica frente a infecciones activas y G que indica la presencia de infecciones no actuales, que impiden la propagación de los viriones en las células no infectadas, a través de mecanismos como la neutralización, opsonización, activación del complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (Chaparro y Franco, 2020).

La cinética de estos anticuerpos frente al SARS-CoV-2 es análoga a la del SARS-CoV-1, que tiene una seroconversión de los anticuerpos totales de 7 a 14 días después del inicio de los síntomas, con concentraciones que persisten durante semanas o meses, para la IgM alcanza títulos altos a los 10 a 12 días, que posteriormente tiene una disminución de 18 días después de la aparición de la sintomatología, y por último la IgG que tiene títulos superiores a partir de la 3 semana, de haber presentado síntomas (Poland et al., 2020).

4.4 Métodos utilizados para el diagnóstico de SARS CoV-2

Para la realización de un buen diagnóstico de Covid-19, se debe considerar los hallazgos clínicos, imagenológicos, epidemiológicos y las pruebas de laboratorio, mismas que cumplen un papel importante para la identificación, aislamiento y tratamiento eficaz de aquellos pacientes que se encuentran infectados por el virus y así evitar su propagación (Gestoso et al., 2020).

Dentro de los métodos utilizados para la detección del SARS-CoV-2 tenemos a aquellos que detectan el material genético del virus como son las técnicas moleculares específicamente la de PCR, también las que permiten la detección de antígenos virales y de anticuerpos generados por la persona infectada (Rodríguez y Camacho, 2018).

4.4.1 Técnicas moleculares

La Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR) es considerada la prueba de oro (“Gold Standard”) para confirmar el diagnóstico por SARS- CoV-2. Desde el inicio de la sintomatología de la enfermedad, especialmente a partir de los días 6 u 8 desde el inicio de los síntomas y en caso que la prueba sea positivo, indica infección activa por el virus SARS-CoV-2 (Accinelli et al., 2020).

Además la OMS recomienda que la recogida de muestra en las vías respiratorias superiores se lo realice entre el 1 al 3 día antes de la aparición de los síntomas, debido a que su concentración en las vías superiores alcanza su nivel más alto en torno al momento de la aparición de los síntomas, puesto que cuando una persona se ha infectado por este virus, el periodo de incubación es de 5 a 6 días, con un intervalo de entre 1 a 14 días después de la exposición (Organización Mundial de la Salud, 2020c).

4.4.1.1 RT-PCR. La PCR en tiempo real, implica la transcripción inversa del ARN del virus en cadenas de ADN complementario (ADNc), seguido de la amplificación de regiones específicas del ADNc, a través de niveles de fluorescencia asociados a fragmentos amplificados específicos del SARS, en donde este método incluye dos pasos principales: uno de ellos es el de alineación de secuencia y diseño de cebadores y el otro de optimación y prueba del ensayo (Udugama et al., 2020).

El tipo de muestra idónea para la realización de esta prueba es de tipo respiratorio, lo cual va a depender de la fase de la infección, ya que durante los 6 primeros días de la presentación de

los síntomas se pueden utilizar exudado nasofaríngeo, exudado nasal y exudado orofaríngeo, pero si las muestras son obtenidas en días posteriores, se recomienda utilizar una muestra de vías respiratorias bajas como esputo de buena calidad, aspirado traqueal o muestra obtenida a través de fibrobroncoscopia (García et al., 2020).

4.4.2 Técnica de detección de antígenos

La detección de antígenos es un tipo de prueba de diagnóstico rápido, la cual se basa en la búsqueda de proteínas virales (antígenos) específicamente de la proteína N y las subunidades S1 o S2 de la proteína espiga. Debe realizarse en los primeros días de la infección, pues en este periodo el virus se encuentra replicando en la nasofaringe y produciendo gran cantidad de proteínas virales. La toma debe hacerse a partir de hisopados de la nasofaringe y de la orofaringe (Pizarro, 2020).

La OMS hace referencia que este tipo de prueba ofrece la oportunidad de un diagnóstico oportuno que permite controlar la transmisión del virus mediante el aislamiento dirigido, ya que es una prueba rápida y de costos moderados. Se emplea en la detección de pacientes con cargas virales elevadas, es decir en aquellos que tienen valores superiores a 10^6 copias de virus genómico/ml, que suelen aparecer en los presintomáticos, en fases sintomáticas tempranas de la enfermedad y en el caso de aquellos que han tenido contacto con personas confirmadas, debido a que su especificidad es del 97-100% y su sensibilidad del 80% (Organización Mundial de la Salud, 2020b).

4.4.3 Técnica de detección de anticuerpos

Para la detección de anticuerpos se utilizan las pruebas serológicas, las cuales nos permiten la detección de casos de infección con síntomas leves o nulos, la investigación de un brote o conglomerado en curso, cuando las pruebas moleculares son negativas y existe una fuerte relación epidemiológica y la alta sospecha clínica y de laboratorio. En donde estas pruebas se basan en la

detección específica de los anticuerpos generados por el organismo de la persona infectada (Aguilar et al., 2020).

La OMS menciona que las pruebas serológicas para la determinación de infección por SARS-CoV-2 no deben ser utilizadas por sí solas como medio diagnóstico en la identificación de casos agudos en la atención clínica o con fines de localización de contacto, ya que para su realización van a depender mucho de la clínica del paciente, la morbilidad clínica, la epidemiología y la prevalencia en el entorno, el tipo de prueba a utilizar, el método de validación a ocupar y qué tan fiables son los resultados obtenidos. Dentro de las técnicas más utilizadas tenemos: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA), la de inmunocromatografía y la electroquimioluminiscencia (Organización Mundial de la Salud, 2020c).

4.4.3.1 Pruebas inmunocromatográficas. Son pruebas de tipo cualitativo y se las denominan tests serológicos rápidos, para la detección de anticuerpos IgM e IgG contra el virus SARS-CoV-2, puesto que el resultado se los obtiene en pocos minutos. El principio de esta prueba se basa en la adsorción de antígenos virales en la membrana del test, ya que cuando se adiciona la muestra, la misma migrará por capilaridad y de ser positiva se formará el complejo antígeno/anticuerpo, que continuará migrando por la membrana por acción de capilaridad, hasta reaccionar con la proteína recombinante del virus, que se encuentra adherida a la membrana, apareciendo una coloración que corresponde a la línea de control y test (Sethuraman et al., 2020).

Una de las desventajas que tiene este tipo de pruebas es que se pueden producir falsos negativos y falsos positivos, esto debido a varios factores, siendo uno de ellos la respuesta inmune del paciente, ya que si la muestra se la obtiene antes de los primeros 11 días, luego del inicio de los síntomas es probable que se obtengan un falso negativo, debido a que las concentraciones de anticuerpos en sangre aun no son detectables, esto dependiendo de la gravedad de la enfermedad, otro factor que influye es la de las reacciones cruzadas que reconocen antígenos virales similares

debido a las regiones conservadas entre coronavirus ocasionando falsos positivos (Gestoso et al., 2021).

4.4.3.2 Técnica de ELISA. Existen diferentes tipos de ELISA, mismos que pueden ser competitivos y no competitivos, en la que los ensayos competitivos a su vez se clasifican en competitivos de inhibición para la detección de anticuerpos y para la determinación de antígenos, en cambio que los no competitivos se clasifican en directo que sirve para la detección de antígenos, indirecto para la detección de anticuerpos y de tipo sándwich para detectar antígeno (Ochoa, 2015).

Dentro de los ensayos más utilizados encontramos los de tipo cualitativo indirecto. Su metodología se basa en el uso de un soporte sólido con antígenos virales fijados, donde se adicionará el suero para su testeo y en caso de existir la presencia de anticuerpos contra el antígeno buscado se formara el complejo Ag/Ac, que será reconocido con la adición de un segundo anticuerpo ligado a enzima, que se une al anticuerpo del hospedador y finalmente la placa se revela luego con un sustrato colorimétrico que la enzima del anticuerpo secundario escinde para provocar una acumulación de color proporcional a la cantidad de anticuerpo unido (Motley et al., 2020).

En donde esta técnica permite conocer la clase y subclase de inmunoglobulina que se detectó y así poder distinguir en qué fase de la enfermedad está el paciente según la presencia de IgM o de IgG, debido a que la detección de IgM puede darse a partir del día 7 y la IgG que se detectan más tardíamente a partir del día 10 y la detección de ambas inmunoglobulinas se interpretaría como infección subaguda en curso, por lo que este tipo de prueba nos permite investigar un brote en curso y de poder realizar una evaluación retrospectiva de la tasa de infección (Casares, 2020).

4.4.3.3 Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia. Es un inmunoensayo cualitativo tipo sándwich de anticuerpos dobles para la detección de anticuerpos específicos contra la proteína S del SARS-CoV-2, a través de señales amplificadas de materiales de luminiscencia química.

Mismo que tienen una mayor sensibilidad y especificidad, confiriéndole así un test confiable para evaluar la respuesta inmune de pacientes infectados con este virus (Fu et al., 2021).

Una de las mayores ventajas que nos ofrece este ensayo es que complementa a los estudios de RT-PCR, cuando estos se encuentran negativos en aquellos pacientes que cumplen con los criterios clínicos y/o epidemiológicos de la enfermedad por COVID-19 y para la determinación de la seroprevalencia en una población determinada (García et al., 2020).

5. Metodología

5.1 Tipo de estudio

El presente estudio es de enfoque cuantitativo, de diseño no experimental, transversal y descriptivo.

5.2 Área de estudio

El estudio se realizó en la Facultad de Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, con domicilio en la provincia de Loja, cantón Loja, calle Manuel Monteros, detrás del Hospital General Isidro Ayora, en el periodo octubre del 2020 a marzo del 2021.

5.3 Universo

Constituido por 217 individuos que se clasifican en: 14 docentes, 3 técnicos docentes, 2 administrativos y 198 estudiantes de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, en el periodo octubre 2020 a marzo 2021, es importante señalar que estos datos fueron facilitados por parte de la secretaria de la carrera.

5.4 Muestra

La muestra se conformó por un total de 56 personas, divididas entre el personal administrativo, docente y estudiantil de la carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja en el periodo octubre 2020 a marzo 2021, es de vital importancia aclarar que no se utilizó la fórmula de la muestra, el número de individuos seleccionados son aquellos que se reintegraron al trabajo presencial y que acudieron a la realización de prácticas preprofesionales en la institución y fuera de ella.

5.5 Tabulación y análisis

Una vez obtenidos los datos, fueron transcritos y analizados mediante tablas en el programa Excel, es decir el objetivo general y el primer objetivo específico se los pudo concretar mediante

el uso del programa ya mencionado, mientras que para la elaboración del segundo objetivo específico se utilizó el programa IBM SPSS 64MB, específicamente el método de Chi2 donde se debe expresar que no se posee una licencia para el uso de dicha plataforma, es decir, la herramienta ya mencionada fue aprovechada gracias a los días gratuitos de prueba que ofrece, los datos se presentaron mediante tablas de frecuencia y porcentajes para poder conocer si existen diferencias significativas entre las frecuencias de anticuerpos totales obtenidas para cada sexo, con un valor de significancia ($p=0,05$). Para lo cual la hipótesis nula es que la variable sexo y anticuerpos totales, son variables independientes, en cambio que la hipótesis alternativa es que las dos variables son dependientes. En donde si el valor de $p>0,05$ se acepta la hipótesis nula y se rechaza la alternativa, pero si $p<0,05$ se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa.

5.6 Presentación de datos recopilados

Los datos que se obtuvieron en la presente investigación fueron recolectados y transcritos en una base digital de Excel.

5.7 Fuentes de información

Como fuentes de información se utilizaron las fichas epidemiológicas que fueron otorgadas por del Ministerio de Salud Pública (Anexo N°2 y N°3), mismas que otorgarán información de los pacientes como lo referente al sexo de la población de estudio, la presencia de sintomatología y la referencia de haberse realizado con anterioridad RT-PCR, para SARS-CoV-2.

5.8 Consideraciones éticas

Se utilizó un consentimiento informado (Anexo N°1), en el cual se describe de forma detallada, clara y precisa los propósitos de la investigación, mismo que debe ser presentado con su respectiva firma para corroborar que ha decidido formar parte libre y voluntariamente en la investigación, además se va a salvaguardar la identidad y datos personales del usuario.

5.9 Criterios de inclusión

- A todas aquellas personas pertenecientes a la carrera de Laboratorio Clínico que se reintegraron al trabajo presencial como es el caso del personal administrativo y docente, así como también los estudiantes que acudieron a la realización de las prácticas preprofesionales y prácticas de unidad profesionalizante.
- A todos los pacientes que no presenten firmado su consentimiento informado y que no tengan llena la ficha epidemiológica.

5.10 Criterios de exclusión

- Al momento de verificar el código del paciente, este no coincida con el número asignado.
- Al momento de transportar las muestras, no se las movilece de forma correcta ocasionando que algunos especímenes pueden echarse perder.

5.11 Materiales y Métodos

5.11.1 Fase Preanalítica

- Consentimiento informado, básicamente es un documento donde se colocan los datos personales del paciente en estudio y se especifican las ventajas de estar incluido en el proyecto. (Anexo N°1)
- Ficha epidemiológica, documento donde se especifican datos personales del paciente, tales como: Nombres, domicilio, síntomas, entre otros. (Anexo N°2)
- Ficha de investigación, documento facilitados por parte del Ministerio de Salud Pública, donde se resumen los antecedentes del paciente, por ejemplo se especifican los posibles focos de contagio, fecha de inicio de síntomas etc. (Anexo N°3)
- Protocolo para la extracción de muestras sanguíneas en el Laboratorio del Centro de Diagnóstico Médico de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de

Loja, en el que se utilizan principalmente jeringuillas desechables de 5ml para los individuos voluntarios al proyecto. (Anexo N°4)

- Protocolo para el transporte de muestras sanguíneas desde el laboratorio del Centro de Diagnóstico Médico de la Facultad de la Salud Humana, hasta el laboratorio del Hospital Regional Isidro Ayora y viceversa, se utilizó un cooler y gradillas para resguardar el bienestar de las muestras y paquetes de hielo gel refrigerante. (Anexo N°5)

5.11.2 Fase Analítica

- Protocolo para la calibración del reactivo Anti-SARS-CoV-2, procedimiento que permite asegurar la consistencia en el desempeño de los procedimientos, garantizando la fiabilidad y trazabilidad de los resultados obtenidos. (Anexo N°6)
- Protocolo para el control del reactivo, procedimiento que nos permite monitorear la precisión del kit de reactivo, para asegurar la obtención de resultados (Anexo N°7)
- Protocolo para el análisis de anticuerpos totales frente al SARS- CoV-2 en el equipo Cobas e411, documento donde se especifica el procesamiento de muestras para la obtención de anticuerpos totales. (Anexo N°8)
- Protocolo de ELISA indirecto IgM anti-SARS-CoV-2 en el equipo Rayto RT-2100C, documento en el que se señala el procesamiento de muestras para la obtención IgM en muestras con anticuerpos totales positivos (Anexo N°9).
- Protocolo de ELISA indirecto IgG anti-SARS-CoV-2 en el equipo Rayto RT-2100C documento donde se expone el procesamiento de muestras para la obtención IgG en muestras con anticuerpos totales positivos(Guevara et al., 2020). (Anexo N°10)

5.11.3 Fase Postanalítica

- Subida de resultados en el programa de Excel. Se empleó el uso de una tabla, la cual estaba constituida por: el código del paciente, el sexo, el valor del anticuerpo total y el valor de las inmunoglobulinas IgG e IgM, en caso de que el paciente diera positivo para anticuerpos totales contra Covid-19 (Anexo N°11)
- Entrega de resultados al personal encargado de la carrera de Laboratorio Clínico, en hacer conocer los resultados de los pacientes.

6 Resultados

Los resultados que se presentan a continuación pertenecen a una población de 56 personas correspondientes a docentes, administrativos y estudiantes de la carrera del Laboratorio Clínico en el periodo académico octubre 2020- marzo 2021, de los cuales dos casos fueron diagnosticados positivos para COVID-19, a través de RT-PCR, donde se debe destacar que los dos pacientes antes mencionados se realizaron la prueba RT – PCR en casas de salud ajenas a la Facultad de Salud Humana, lo que fue evidenciado en las fichas epidemiológicas.

Tabla 1

Distribución de los elementos de la muestra

| Pacientes | Frecuencia | Porcentaje % |
|--------------------------|-------------------|---------------------|
| Docentes | 4 | 7,14 |
| Técnicos Docentes | 3 | 5,36 |
| Administrativos | 2 | 3,57 |
| Estudiantes | 47 | 83,93 |
| Total | 56 | 100 |

Análisis: Los elementos reflejados en la tabla, fueron utilizados para el desarrollo del presente proyecto, tomando en consideración que no se utilizó la fórmula de la muestra, sino que participaron docentes, técnicos docentes, administrativos y el cuerpo estudiantil que tenían la obligación de asistir ya sea por su labor, o por la realización de sus prácticas preprofesionales.

Tabla 2

Detección de anticuerpos totales positivos y negativos, por el método de Electroquimioluminiscencia.

| | Anticuerpos totales | Porcentaje % |
|------------------|----------------------------|---------------------|
| Positivos | 13 | 23,2 |
| Negativos | 43 | 76,8 |
| Total | 56 | 100 |

Análisis: Por método de electroquimioluminiscencia se entiende que es un tipo de luminiscencia producida durante las reacciones electroquímicas en soluciones, en la cual se aprovecha la habilidad de unión de antígeno-anticuerpo, donde se utilizaron dos antígenos (antígeno recombinante biotilado del SARS-CoV-2 y un antígeno recombinante del SARS-CoV-2 marcado con quelato de rutenio), así mismo se da a conocer que este proceso se efectuó en el equipo Cobas e 411, para interpretar el resultado se deberá tomar en cuenta que cuando la señal de la muestra o punto de corte (COI) es mayor o igual a 1.0, el resultado es reactivo (positivo), así mismo cuando el COI es menor a 1.0 el resultado es no reactivo (negativo).

Tabla 3

Resultados obtenidos en la determinación de anticuerpos IgG a través del método de ELISA a los pacientes con anticuerpos totales positivos.

| Anticuerpos Totales | | Inmunoglobulina G | | |
|----------------------------|--------------|--------------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Positivo | Frecuencia | 13 | 0 | 13 |
| | Porcentaje % | 100 | 0 | 100 |
| Total | Frecuencia | 13 | 0 | 13 |
| | Porcentaje% | 100 | 0 | 100 |

Análisis: Para la elaboración de la presente investigación se utilizó el método de ELISA cualitativo indirecto, este proceso se realizó en el equipo Rayto RT-2100C usando el Kit ELISA indirecto IgG Anti SARS-CoV-2, se emplearon placas inmunolon de 96 pocillos cubiertas de antígeno recombinante propio del virus en el cual se adiciona el suero para su testeo, dando como resultado el complejo antígeno/anticuerpo, así mismo mediante la adición de un sustrato colorimétrico que provoca una acumulación proporcional a la cantidad de anticuerpo unido se revela si es positivo o negativo para IgG.

Tabla 4

Resultados obtenidos en la determinación de anticuerpos IgM a través del método de ELISA a los pacientes con anticuerpos totales positivos.

| Anticuerpos Totales | | Inmunoglobulina M | | |
|----------------------------|--------------|--------------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Positivo | Frecuencia | 4 | 9 | 13 |
| | Porcentaje % | 30,8 | 69,2 | 100 |
| Total | Frecuencia | 4 | 9 | 13 |
| | Porcentaje% | 30,8 | 69,2 | 100 |

Nota. Esta tabla muestra que el resultado obtenido de las cuatro personas positivas para anticuerpos IgM, son también positivas para anticuerpos IgG.

Análisis: La tabla número 4, muestra los resultados obtenidos mediante el método de ELISA cualitativo indirecto, efectuado en el equipo Rayto RT-2100C, haciendo uso del Kit ELISA indirecto Anti SARS CoV-2 IgM, en el que se empleó el uso de placas de microtitulación recubiertas de antígenos específicos del virus en el que se unieron los anticuerpos de la muestra dando lugar al complejo antígeno/anticuerpo, así mismo mediante la adición de un sustrato colorimétrico que provoca una acumulación proporcional a la cantidad de anticuerpo unido se revela si es positivo o negativo para IgM.

Tabla 5

Sexo de la población en estudio que posee mayor frecuencia de anticuerpos totales positivos

| Sexo | | Anticuerpos Totales | | |
|--------------|--------------|---------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Masculino | Frecuencia | 5 | 10 | 15 |
| | Porcentaje % | 8,93 | 17,86 | 26,79 |
| Femenino | Frecuencia | 8 | 33 | 41 |
| | Porcentaje % | 14,29 | 58,92 | 73,21 |
| Total | Frecuencia | 13 | 43 | 56 |
| | Porcentaje% | 23,21 | 76,79 | 100 |

Nota. $X^2=0,278^*$, $p>0,05$

Análisis: En la tabla 5 se indica que de 56 casos analizados, 15 casos corresponden al sexo masculino, de los cuales 5 son positivos, mismos que corresponden a 3 pacientes con IgG y 2 con IgM e IgG, lo que representa el 8,93%, en cambio que de los 41 casos del sexo femenino, 8 son positivos, de los cuales 6 son IgG y 2 son IgM e IgG, representando el 14,29% de casos positivos para anticuerpos totales para Covid-19.

El número de positivos para ambos sexos se analizaron mediante la prueba de Chi-cuadrado para determinar si existe diferencia significativas, obteniéndose un valor de la tabla de Chi-cuadrado de 0,278 mismo que resultó ser superior, al valor de $p>0,05$, lo cual demuestra que no existe efecto o relación entre los anticuerpos totales para Covid-19 y la variable sexo.

7 Discusión

Cuando surge un nuevo virus que causa brotes epidémicos, al principio se desconocen las características y su comportamiento, en donde las estrategias principales que se llevan a cabo se centran primordialmente en la realización de pruebas moleculares para medir las infecciones agudas y para la atención de los pacientes con enfermedad grave, que son los que buscan y necesitan atención médica, dejando pasar por alto las infecciones leves o asintomáticas, que en mucho de los casos no requieren atención sanitaria y más aún cuando al principio del brote se desconoce, como es que se desarrolla la inmunidad y como esta ayuda a proteger al huésped del patógeno (Organización Mundial de la Salud, 2020a).

Las pruebas serológicas permiten detectar la magnitud de un brote o la amplitud de una infección en una población dada (Ramos et al., 2020). Por lo que en la presente investigación que tuvo como objetivo principal la determinación de anticuerpos totales para Covid-19 en una población de 56 personas correspondientes al personal administrativo, docentes y estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico, a través del método de electroquimioluminiscencia en el equipo Cobas e411, utilizando el Kit Roche Elecsys® Anti-ARS-CoV-2 de la casa comercial Roche Diagnostic, obteniéndose un total de 13 pacientes positivos que corresponden al 23,2% y 43 casos negativos que representan el 76,8%.

Al comparar con un estudio realizado en el Cusco, Perú en el año 2020, en el que se analizaron 637 pruebas de anticuerpos del SARS-CoV-2, se obtuvieron como resultados que el 33,1% correspondían a casos reactivos y el 66,9% a casos no reactivos, de personas ambulatorias con una combinación de casos tratados y no tratados, así como individuos sintomáticos y asintomáticos (Huamaní et al., 2021). Se puede evidenciar que ambos estudios se han trabajado con el mismo Kit comercial y el equipo para la detección de casos de anticuerpos totales.

La diferencia en ambas investigaciones radica en la selección de la población, puesto que los pacientes seleccionados en Cusco pertenecían áreas urbanas y rurales de la ciudad, además que se conocían si los casos eran positivos o negativos para SARS-CoV-2, ya que por indicaciones del gobierno las pruebas se realizaban periódicamente en algunas poblaciones, para la detección del SARS-CoV-2. A diferencia que en el presente estudio solo dos de los pacientes habían sido positivos para RT-PCR para Covid-19, mientras que en el resto de los casos fueron pacientes con resultados anteriores desconocidos y asintomáticos, lo que se pudo corroborar con los datos referenciados por los pacientes en las fichas epidemiológicas.

En el presente estudio fue posible detectar anticuerpos en pacientes asintomáticos de los cuales no conocían el haber estado infectados por SARS-CoV-2, demostrándose la eficacia de la determinación de anticuerpos totales, como método complementario en el diagnóstico de la enfermedad por Covid-19 a través de la técnica electroquimioluminiscencia. Siendo esto de vital importancia para la vigilancia epidemiología de la enfermedad.

Lo cual se reafirma con un estudio llevado a cabo en Lima-Perú en el año 2020 por el Instituto Nacional de Salud y la casa comercial Roche, en el que se analizaron 60 muestras de sueros de pacientes con PCR positiva y 70 muestras de control, para la evaluación del desempeño analítico del inmunoensayo cualitativo Elecsys Anti-SARS-CoV-2, a través de la valoración de la sensibilidad, especificidad y reactividad cruzada, del kit comercial, obteniéndose como resultados una sensibilidad del 96.67%, una especificidad del 100%, con un índice de confianza del 95% y sin reactividad cruzada, demostrándose que este ensayo si tiene una alta sensibilidad y especificidad para la detección de anticuerpos totales frente al SARS-CoV-2 (Cucho, 2021).

En la presente investigación se detectaron la presencia de anticuerpos IgG e IgM a través del método de ELISA, a partir de las muestras que resultaron positivas para la detección de anticuerpos totales, en donde el 100% (n=13) de los casos fueron positivos para IgG, el 30,8%

(n=4) casos fueron positivos para IgM, lo que sugiere que la mayoría de los pacientes se encuentran en una fase de infección pasada, lo que coincide con lo descrito por Rodrigues et al., (2021) en el estudio realizado por estos autores en la Amazonía brasileña, en el año 2020, donde se identificó que la mayoría de las personas en estudio desarrollaron anticuerpos IgG frente al virus. Lo cual se debe a que los anticuerpos IgG alcanzan sus concentraciones máximas después del día 14 luego del inicio de la infección, en cambio que los IgM pueden ser detectados en el 85% de los pacientes confirmados por SARS-CoV-2 de 1 a 7 días después del inicio de la infección, alcanzando su punto máximo entre los días 5 y 12, los mismos que después caen lentamente (Ahmad et al., 2021).

Hay que tener en cuenta que las 4 personas que resultaron positivas para anticuerpos IgM, son también positiva para anticuerpos IgG. Lo cual al comparar con un estudio realizado en nuestro país en la ciudad de Cuenca en el año 2020, en una población de 2457 personas, se determinó que el 4% habían desarrollado la presencia de los dos anticuerpos IgM e IgG (Acurio et al., 2021). Lo que significa que los pacientes en ambos estudios se encuentra pasando por una infección relativamente recientemente y están empezando a desarrollar anticuerpos, lo que se conoce como infección subaguda en curso y en el caso de que solo se hubiera encontrado la presencia de IgM nos indicaría una fase aguda de la infección o solo la presencia de IgG que significa una infección pasada (García et al., 2020).

Por otra parte, se analizó la frecuencia con la que se presentan los anticuerpos frente al SARS-CoV-2 según el sexo, teniendo como resultados que en los hombres se presentan en un 8,93% y en las mujeres en un 14,29%, cuya diferencia no resultó significativa. Lo que coincide con los resultados obtenidos en un estudio realizado en Buenos Aires- Argentina, en el año 2020, donde se determinó que la mayoría eran las mujeres las que habían desarrollado anticuerpos, pero que tampoco existía una diferencia significativa en lo que tiene que ver con la presencia de anticuerpos y el sexo (Pifano et al., 2020).

Estudios inmunológicos detallan que tanto los hombres como las mujeres difieren en su susceptibilidad y respuesta frente a las infecciones virales, ya que el reconocimiento innato y adaptativo, que surge durante las mismas no es idéntico, lo que conlleva a diferencias sexuales en la incidencia y gravedad de la enfermedad. En donde las mujeres presentan un mayor número de células inmunitarias innatas como monocitos, macrófagos y células dendríticas, así como respuestas adaptativas fuertes, debido al número mayor de células T CD4+ y mayores proporciones de CD4+: CD8+, de células T activas, células T citotóxicas y células B en comparación con los hombres, lo que les confiere al sexo femenino una pronta respuesta a la presencia de agentes infecciosos, existiendo un aumento de la producción de anticuerpos y la eficacia de la respuesta a las vacunas (Haito et al., 2020).

En cambio, en los hombres existen evidencias en las que se demuestran que poseen una activación deficiente de células T y con esto menos inducción de células CD8 que expresan CD38 y HLA-DR que son biomarcadores de activación de células T que ayudan en el control viral durante las infecciones agudas virales (Takahashi et al., 2021).

No en todos los países existe la disponibilidad de los datos desglosados por sexo y en muchos se encuentra de manera incompleta, lo que dificulta el análisis de las repercusiones de la enfermedad del Covid-19 en función del sexo. La OMS pide a sus Estados Miembros y a todos los actores mundiales para que motiven la realización de inversiones en investigaciones de calidad y con un enfoque mayor en el sexo sobre las repercusiones sanitarias, con el fin de asegurarse de que las políticas y medidas de salud pública que se lleven a cabo para frenar la pandemia tengan en cuenta el sexo y la forma en que este interactúa en el desarrollo de la enfermedad (Organización Mundial de la Salud., 2020).

8 Conclusiones

- Se identificaron un total de 13 pacientes positivos para anticuerpos totales a Covid-19, que corresponde al 23,2% del total de la población comprendida entre el personal administrativo, docentes y estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico.
- La frecuencia con la que se presentan los anticuerpos IgG, en aquellos pacientes que resultaron positivos para anticuerpos totales, fue del 100% y de un 30,8% para los anticuerpos IgM.
- El sexo femenino presenta mayor frecuencia de anticuerpos totales para Covid-19, con un 14,29%, sin embargo no existen diferencias significativas para ambos sexos.

9 Recomendaciones

- Se sugiere realizar un seguimiento a los pacientes con anticuerpos totales positivos contra el SARS-CoV-2, ya que esto va a permitir conocer más acerca de la cinética de los anticuerpos que se presentan en los pacientes con infección de la enfermedad del COVID-19, de modo que se pueda conocer el tiempo de duración de la inmunidad adquirida.
- Realizar más estudios sobre el comportamiento de la enfermedad mediante la utilización de pruebas serológicas acompañada de la prueba RT-PCR, ya que esto nos va a facilitar el seguimiento longitudinal de la respuesta de anticuerpos que desarrollan las personas contagiadas.
- Profundizar en estudios acerca de la relación del sexo y las respuestas inmunitarias producidas por el SARS-CoV-2, para poder lograr identificar cuáles son las causas o predictores para el desarrollo de la enfermedad de acuerdo al sexo, debido a que el virus se comporta de manera muy diferente en hombres y mujeres.

10 Referencias Bibliográficas

- Accinelli, R., Zhang, C., Ju Wang, J., Yachachin, J. M., Cáceres, J., Tafur-Bances, K. B., Flores, R., & Paiva, A. (2020). COVID-19: La pandemia por el nuevo virus SARS-CoV-2. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 37(2), 302-311. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.372.5411>
- Acurio, D., Vega, B., Orellana, D., Charry, R., Gómez, A., Obimpeh, M., Verhoeven, V., & Colebunders, R. (2021). Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection and adherence to preventive measures in Cuenca, Ecuador, October 2020, a cross-sectional study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(9). <https://doi.org/10.3390/ijerph18094657>
- Adhikari, S., Meng, S., Wu, Y., Mao, Y., Ye, R., Wang, Q., Sun, C., Sylvia, S., Rozelle, S., Raat, H., & Zhou, H. (2020). Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control. *Infectious Diseases of Poverty*, 9(29), 1-12. <https://doi.org/10.21203/rs.2.24474/v1>
- Aguilar, P., Enriquez, Y., Quiroz, C., Valencia, E., Delgado, J., & Pareja, C. (2020). Pruebas diagnósticas para la COVID-19: la importancia del antes y el después. *Horizonte medico*, 20(2), e1231. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2020.v20n2.14>
- Ahmad, K., Rezvanizadeh, V., Dahal, S., Kinninger, A., Ghanem, A. K., Lakshmanan, S., Hamal, S., Flores, F., Dailing, C., Roy, S. K., & Budoff, M. J. (2021). COVID-19 IgG/IgM antibody testing in Los Angeles County, California. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 40(2), 457-459. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04111-3>
- Aldámiz, M., Aledo, Á., Carod, J., Catalán, P., & Diez, C. (2020). *Manual COVID-19 para el neurólogo general* (D. EZpeleta & D. García (eds.); Número April). Ediciones SEN. https://www.sen.es/attachments/article/2677/Manual_neuroCOVID-19_SEN.pdf

- Calvo, C., García, M., De Carlos, J. C., Vázquez, J., Ramos, J., Baquero, F., Navarro, M., Rodrigo, C., Fumadó, V., Menendez, J., Slocker, M., Bustinza, A., Jordán, I., & Pilar, J. (2020). Recommendations on the clinical management of the COVID-19 infection by the «new coronavirus» SARS-CoV2. Spanish Paediatric Association working group. *Anales de Pediatría*, 92(4), 241.e1-241.e11. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2020.02.001>
- Casares, M. H. (2020). Microbiological diagnosis of SARS-VOC 2 Introducción. *Revista Cubana de Medicina.*, 59(2), 1-6. <http://scielo.sld.cu/pdf/med/v59n2/1561-302X-med-59-02-e1344.pdf>
- Chaparro, N., & Franco, A. (2020). Aspectos clínicos e inmunológicos de la infección por SARS-CoV-2. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 52(3), 295-309. <https://doi.org/10.18273/revsal.v52n3-2020010>
- Comité Internacional de Taxonomía de Virus. (2019). *Coronaviridae - Virus de ARN de sentido positivo - Virus de ARN de sentido positivo (2011) - ICTV*. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae
- Cucho, G. O. (2021). *Verificación del desempeño analítico de la prueba Elecsys AntiSARS-CoV-2 para la detección cualitativa de anticuerpos en el analizador inmunológico automatizado Cobas e 411, Lima 2020*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Dashraath, P., Wong, J., Lim, M. X. K., Lim, L. M., Li, S., Biswas, A., Choolani, M., Mattar, C., & Su, L. L. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 222(6), 521-531. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.03.021>
- Fu, Y., Pan, Y., Li, Z., & Li, Y. (2021). The Utility of Specific Antibodies Against SARS-CoV-2 in Laboratory Diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, 11(60), 6-7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.603058>

- Gamboa, A., Escobar, E., & Ramírez, M. (2020). El origen, las características moleculares, el mecanismo de infección, la evasión de la inmunidad innata y adaptativa frente al SARS-CoV-2, la sintomatología y los marcadores moleculares de la COVID-19. *Alianzas y Tendencias*, 5(19), 105-120.
- García, M., García, D., Carbajal, J., Hernandez, M., & Salinas, M. (2020). Diagnóstico por el laboratorio del virus SARS-CoV-2 Agente de la infección COVID-19. *Farmacéuticos. Vocalid Nacional de Farmaceúticos de Análisis Clínicos*, 1(4), 9-11.
- Gestoso, L., García, Y., González, P., & Marrero, J. (2021). Recomendaciones y uso de los diferentes tipos de test para detección de infección por SARS-COV-2. *Enfermería Clínica*, 31(January), S40-S48. <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2020.10.001>
- Gestoso, L., García, Y., González, P., & Marrero, J. L. (2020). Recommendations for use of the diverse tests for detection of SARS-COV-2 infection. *Enfermeria Clinica*, 30(6). <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2020.10.001>
- Góngora, O., & Gámez, L. (2020). Manifestaciones extrapulmonares de la infección por el nuevo Coronavirus SARS-CoV-2. *Revista Habanera De Ciencias Medicas*, 19(5), 1-15. <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/3378>
- Guevara, Á., Vivero, S., Nipaz, V., Guaraca, V., & Coloma, J. (2020). A low cost SARS-CoV-2 rRBD ELISA to detect serostatus in Ecuadorian population with COVID-19. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, 104(4), 1513-1515. <https://doi.org/https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-1420>
- Gutiérrez, C. (2020). SARS-Cov-2: aspectos biológicos, epidemiológicos y diagnósticos. *Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanaliista Especialistas*, 23(1), 3-13.
- Haito, T., Vermut, J., Abeykoon, J., Ghamrawi, R., Gunaratne, M., Narang, K., Parashuram, S., Suvakov, S., & Garovic, V. (2020). COVID-19 and Sex Differences: Mechanisms and

- Biomarkers. *Mayo CLINIC*, 95(10), 2819-2203. [https://doi.org/10.1016 / j.mayocp.2020.07.024](https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.07.024)
- Harrison, A., Lin, T., & Wang, P. (2020). Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in Immunology*, 41(12), 1100-1115. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.004>
- Hernández, J. (2020). Aspectos clínicos relacionados con el Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2). *Revista Habanera De Ciencias Medicas*, 6(5), 1-18. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2008000300003&script=sci_arttext
- Huamaní, C., Velásquez, L., Montes, S., Mayanga, A., & Bernabé, A. (2021). SARS-CoV-2 seroprevalence in a high-altitude setting in Peru: Adult population-based cross-sectional study. *PeerJ*, 9, 1-18. <https://doi.org/10.7717/peerj.12149>
- Kalergis, A., Goonetilleke, N., Estrada, P., Graham, R., Kumar Shah, V., Firmal, P., Alam, A., Ganguly, D., & Chattopadhyay, S. (2020). Overview of Immune Response During SARS-CoV-2 Infection: Lessons From the Past. *Frontiers in Immunology*, 1(11), 1949. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01949>
- Kim, D., Lee, J. Y., Yang, J. S., Kim, J. W., Kim, V. N., & Chang, H. (2020). The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*, 181(4), 914-921.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>
- Kim, K. Do, Hwang, I., Ku, K. B., Lee, S., Kim, S. J., & Kim, C. (2020). Progress and challenges in the development of COVID-19 vaccines and current understanding of SARS-CoV-2-specific immune responses. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(8), 1009-1015. <https://doi.org/10.4014/jmb.2006.06006>
- Lauer, S., Grantz, K., Bi, Q., Jones, F., Zheng, Q., Meredith, H., Azman, A., Reich, N., & Lessler, J. (2020). The incubation period of coronavirus disease 2019 (CoVID-19) from publicly

- reported confirmed cases: Estimation and application. *Annals of Internal Medicine*, 172(9), 577-582. <https://doi.org/10.7326/M20-0504>
- Ministerio de Salud Pública. (2021). *Actualización de casos de coronavirus en Ecuador – Ministerio de Salud Pública*. <https://www.salud.gob.ec/actualizacion-de-casos-de-coronavirus-en-ecuador/>
- Moreno, F., Moreno, F., & Orozco, R. (2020). Cardiovascular effects of new coronavirus infection SARS-CoV-2 (COVID-19). *Sociedad Cubana de Cardiología*, 12(1), 3-17.
- Motley, M., Bennett, E., Fries, B., & Spitzer, E. (2020). Review of Viral Testing (Polymerase Chain Reaction) and Antibody/Serology Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 for the Intensivist. *Critical Care Explorations*, 2(6), e0154. <https://doi.org/10.1097/cce.0000000000000154>
- Ochoa, F. (2015). *Técnicas Inmunoenzimáticas Para Ensayos Clínicos De Vacunas Y Estudios Inmunoepidemiológicos*. [http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/investigaciones/Tecnicas inmunoenzimaticas para ensayos clinicos de vacunas y estudios inmunoepidemiologicos.pdf](http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/investigaciones/Tecnicas%20inmunoenzimaticas%20para%20ensayos%20clnicos%20de%20vacunas%20y%20estudios%20inmunoepidemiologicos.pdf)
- Oliva, J. (2020). SARS-CoV-2: origen, estructura, replicación y patogénesis. *Alerta*, 3(2), 79-86. <https://doi.org/https://doi.org/10.5377/alerta.v3i2.9619>
- Oña, M., Oña, C., Moreta, E., & Oña, H. (2019). Serie de Casos de Sars-cov-2: Aspectos y Características de la Enfermedad Covid-19. *Revista Científica Hallazgos*, 5(3), 380-390. <http://revistas.pucese.edu.ec/hallazgos21/>
- Organización Mundial de la Salud. (2020). *El género y la COVID-19*. World Health Organization. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332242/WHO-2019-nCoV-Advocacy_brief-Gender-2020.1-spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Organización Mundial de la Salud. (2020a). *COVID-19: serología, anticuerpos e inmunidad*. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news-room/q-a-detail/coronavirus->

disease-covid-19-serology

- Organización Mundial de la Salud. (2020b). *Detección de antígenos para el diagnóstico de la infección por el SARS-CoV-2 mediante inmunoanálisis rápidos*. World Health Organization. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336028/WHO-2019-nCoV-Antigen_Detection-2020.1-spa.pdf
- Organización Mundial de la Salud. (2020c). *Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2*. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/335830/WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.6-spa.pdf>
- Özçürümez, M., Ambrosch, A., Frey, O., Haselmann, V., Holdenrieder, S., Kiehntopf, M., Neumaier, M., Walter, M., Wenzel, F., Wölfel, R., & Renz, H. (2020). SARS-CoV-2 antibody testing—questions to be asked. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *146*(1), 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.020>
- Padrón, A., & Dorta, A. (2020). Pathogenesis of neurological manifestations associated with SARS-CoV-2 [Patogenia de las manifestaciones neurológicas asociadas al SARS-CoV-2]. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, *39*(3), 1-16. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85088969338&partnerID=40&md5=e7cdd4cfd9c483e599ce4c696254349f>
- Palacios, M., Santos, E., Velázquez, M., & León, M. (2020). COVID-19, a worldwide public health emergency. *Revista Clínica Española*, *221*(1), 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2020.03.001>
- Pérez, M., Gómez, J., & Dieguez, R. (2020). Características clínico-epidemiológicas de la COVID-19. *Revista Habanera De Ciencias Medicas*, *19*(2), 0-0.
- Pifano, M., Fischerman, L., Ercole, R., Muñoz, L., Kreplak, N., Garcia, E., Comes, Y., & Bologna, R. (2020). Persistencia de anticuerpos IgG contra SARS-CoV2 en personal de salud -

provincia de Buenos Aires . *SCIELO Preprints*, 1-19.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.1634>

Pizarro, M. (2020). Clínica y diagnóstico sars-cov-2. *Neumología Pediátrica*, 15(2), 324-329.

Poland, G., Ovsyannikova, I., & Kennedy, R. (2020). SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. *The Lancet*, 396(10262), 1595-1606.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32137-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32137-1)

Ramos, M., Carreto, L. E., & Salcedo, M. (2020). Métodos diagnósticos. *Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica*, 33(s1), 33-41. <https://doi.org/10.35366/96669>

Rodrigues, E., Abreu, I., Lima, C., da Fonseca, D., Pereira, S., dos Reis, L., Vallinoto, I., Guerreiro, J., & Vallinoto, A. (2021). High prevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibody in the Xikrin of Bacajá (Kayapó) indigenous population in the Brazilian Amazon. *International Journal for Equity in Health*, 20(1), 1-4. <https://doi.org/10.1186/s12939-021-01392-8>

Rodríguez, A., & Camacho, J. (2018). Enfermedad por Coronavirus 2019: Diagnóstico por el laboratorio. *Revista salud y sociedad Uptc*, 5(1), 4-12.

Salas, R., Iannacone, J., Guillén, A., Tantaléan, J., Alvarino, L., Castañeda, L., & Cuellar, L. (2020). Coronavirus Covid-19: Conociendo Al Causante De La Pandemia. *The Biologist*, 18(1), 9-27. <https://doi.org/10.24039/rb2020181442>

Saltigeral, P., & León, X. (2020). Virus SARS-CoV-2 ¿Qué se sabe al momento? *Acta Pediátrica de México*, 41(4S1), 3. <https://doi.org/10.18233/apm41no4s1pps3-s72061>

Sethuraman, N., Jeremiah, S., & Ryo, A. (2020). Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(22), 2249-2251. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>

Takahashi, T., Wong, P., Ellingson, M., Lucas, C., Klein, J., Israelow, B., Silva, J., & Mao, T. (2021). Sex differences in immune responses to SARS-CoV-2 that underlie disease outcomes.

medRxiv, 165, 1-13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.06.06.20123414>

- Udugama, B., Kadhiresan, P., Kozlowski, H., Malekjahani, A., Osborne, M., Li, V., Chen, H., Mubareka, S., Gubbay, J., & Chan, W. (2020). Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano*, 14(4), 3822-3835. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02624>
- Valero, D., Obando, L., & Reyes, S. (2021). El alcance del diagnóstico en la infección por SARS-COV-2 The scope of diagnosis in SARS-COV-2 infection. *Revista Investigación Y Desarrollo I+D*, 13(1), 11-14.
- Vega, O., Arvizu, M., Domínguez, J., Sierra, J., & Correa, R. (2020). Prevention and control of SARS-CoV-2 (Covid-19) coronavirus infection in hemodialysis units. *Salud Publica de Mexico*, 62(3), 341-347. <https://doi.org/10.21149/11330>
- Zhand, S., Jazi, M., Mohammadi, S., Rasekhi, R., Rostamian, G., Kalani, M., Rostamian, A., George, J., & Douglas, M. (2020). COVID-19: The Immune Responses and ClinicalTherapy Candidates. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5559. <https://doi.org/10.3390/ijms21155559>
- Zhang, Y. Z., & Holmes, E. C. (2020). A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. *Cell*, 181(2), 223-227. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.035>

11. Anexos

11.1. Anexo 1: Consentimiento Informado



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Número de cédula.....

Fecha:.....

Hora:.....

| APELLIDO PATERNO | APELLIDO MATERNO | NOMBRES | EDAD |
|------------------|------------------|-----------|------|
| | | | |
| ESTADO CIVIL | NACIONALIDAD | DOMICILIO | |
| | | | |

En el marco de los proyectos de tesis de estudiantes de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja los cuales buscan como fin último el “MONITOREO DE ANTICUERPOS SARS COV-2 EN EL PERSONAL ADMINISTRATIVO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA, DOCENTES, Y ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA” bajo la coordinación de la Gestión de Carrera de Laboratorio Clínico y Red de microbiología de la Facultad de la Salud Humana, se realizarán investigaciones con diversos enfoques, que permitirán la graduación de los estudiantes de la Facultad, la contribución científica a nivel nacional e internacional con la publicación de artículos de los temas investigativos y finalmente aportar al perfil epidemiológico local.

Para la ejecución del mismo, se necesita la recolección de muestras de sangre de personal administrativo y trabajadores de la Universidad Nacional de Loja, docentes y estudiantes de la Facultad de la Salud Humana que se van reintegrando de forma progresiva a las actividades presenciales a la Institución y hospitales, centros de salud, laboratorios docentes, e instalaciones de la FSH, y que en adelante se denominarán: ‘pacientes’.

Los participantes del proyecto pertenecientes a la carrera de medicina recolectarán la información requerida por la ficha EPI-1 de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud Pública, para la obtención de datos personales y de contacto; y para el seguimiento de datos, la toma de muestra será realizada por Técnicos Docentes de la Facultad de la Salud Humana y estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico que posteriormente la procesarán y la analizan. El análisis de las muestras se llevará a cabo en el laboratorio del Hospital General Isidro Ayora y el Centro de Diagnóstico Médico de la Facultad de la Salud Humana.

Considerando que la muestra de sangre será recolectada mediante una venopunción, el paciente podrá sentir un ligero dolor cuando se introduce la aguja y puede experimentar una sensación pulsátil en el sitio, después de que se extrae la sangre, siendo este procedimiento de muy bajo riesgo para el paciente.



Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

Los resultados de las pruebas, serán informados en medida del procesamiento y análisis de las muestras a las instancias correspondientes de la Universidad Nacional de Loja Departamento de Riesgos Laborales y Bienestar Universitario y posteriormente a los “pacientes” y serán registrados para su monitoreo posterior.

Toda la información recolectada se recopilará y procesará con estricta confidencialidad para asegurar la privacidad del personal docente, administrativo y estudiantes de la Facultad de la Salud Humana.

DECLARACION DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRA

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna; en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente que, he facilitado la información completa hasta mi conocimiento sobre mi estado de salud; que he sido informado de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores, de todos los aspectos relacionados con el proyecto y estoy de acuerdo con el procedimiento que se me ha propuesto; que está claro, que mi participación en dicho proyecto consiste en entregar una muestra de sangre para que sea procesada y que dicha muestra no será empleada para otros fines sin mi consentimiento.

Declaro que he sido informado de las ventajas e inconvenientes de mi participación en el proyecto. Que he escuchado, leído y comprendido toda la información recibida y se me ha dado la oportunidad de preguntar lo que he necesitado sobre el proyecto.

Que el grupo de investigadores coordinados por la Dra. Sandra Freire, me ha garantizado la total confidencialidad relacionada a mi identidad como a cualquier información relacionada a mi persona, a la que tengan acceso para el desarrollo de este proyecto.

Que bajo ningún aspecto podré restringir el uso académico de los resultados obtenidos en el presente estudio.

Que bajo ningún aspecto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

Que puedo retirarme del proyecto en caso de considerar que el mismo ya no es de mi interés o conveniencia.

Nombre, firma y número de
cédula del paciente

Nombre, firma y número de
cédula del testigo



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

NEGATIVA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha:

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna, NO autorizo y me niego a que se me realice el procedimiento propuesto, responsabilidades futuras de cualquier índole al servicio de salud y a la intervención sugerida.

Nombre y cédula del paciente

Firma del paciente

REVOCATORIA DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin presión, coacción ni violencia alguna, REVOCO el consentimiento realizado en fecha.....y no deseo que se prosiga con el procesamiento de la muestra entregada o el uso de mis datos. Doy por finalizado en esta fecha.....mi consentimiento.

Nombre y cédula del paciente

Firma del paciente

Nota. Documento que informa la finalidad de la investigación al paciente y así conocer si desea participar en el proyecto.

| CIERRE DEL CASO | | EPI_1 | |
|-------------------------|-------------------------------------|--|--|
| | | V. Lat | |
| VII. Evolución del Caso | 24.- Resultado: | Positivo <input type="checkbox"/> | Negativo <input type="checkbox"/> Indudados |
| | 25.- Resultado: (agente | 1.- <input type="text"/> 2.- <input type="text"/> | |
| VIII. Cierre del Caso | Observaciones: <input type="text"/> | | |
| | 26.- Se realizó Investigación: | SI <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> | |
| | 27.- Fecha de investigación: | <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/> Día Mes Año | |
| VII. Evolución del Caso | 28.- N° de Contactos Sintomáticos: | <input type="text"/> | |
| | 29.- Evolución del Caso: | Ambulatorio <input type="checkbox"/> Hospitalización <input type="checkbox"/> UCI <input type="checkbox"/> | 30.- Condición final de Caso Vivo <input type="checkbox"/> Con Discapacidad <input type="checkbox"/> UCI <input type="checkbox"/> |
| VIII. Cierre del Caso | 31.- Fecha de Fallecimiento: | <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/> Día Mes Año | |
| | 32.- Clasificación Final del Caso: | Confirmado: <input type="checkbox"/> Descartado: <input type="checkbox"/> No Concluyente: <input type="checkbox"/> | |
| | 33.- Confirmado por: | Laboratorio <input type="checkbox"/> Clínico <input type="checkbox"/> Nexo Epid. <input type="checkbox"/> | 34.- Diagnóstico <input type="text"/> |
| | | 35.- Fecha Cierre de: | <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/> Día Mes Año |
| | | 36.- Nombre Respor | <input type="text"/> |

Nota. Ficha que debe ser rellena por las casas de salud en caso de detectar un posible caso de Covid-19. Tomado del Ministerio de Salud Pública.

Ficha_Investigacion

| | | | | | | |
|----|--|----|--|----|---------|--|
| IV | | el | | No | síntoma | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

| | | | | | |
|---------------|----|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| V.Laboratorio | 34 | Se tomó muestra de laboratorio | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | 36 | Tipo de muestra | _____ | | |
| | 37 | Resultado de laboratorio | _____ | | |

| | | | | | |
|------------------------|----|------------------------|-----------------|----------------------------------|--------------------------|
| VI.Clasificación final | 38 | Diagnóstico definitivo | Confirmado por: | <input type="checkbox"/> Clínica | <input type="checkbox"/> |
| | 39 | Es caso aislado | _____ | | |

| | | | | | | |
|---------------------------------------|-------|---|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| VII.Actividades de control ejecutadas | 40 | Actividades generales: | Si | No | año | Observaciones |
| | | Visita domiciliaria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____ |
| | | Búsqueda activa de casos | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | N° de casos sospechosos enc: _____ |
| | | Seguimiento de contactos | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Fecha de último día de seguim: _____ |
| | 41 | Actividades específicas: | Si | año | Observaciones | |
| | | Vacunación de bloqueo | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____ | |
| | | Profilaxis a los contactos | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____ | |
| | | Monitoreo rápido de cobertura | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | % de vacunados que se encon _____ | |
| | | Tratamiento de criadero de Vectores | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | _____ | |
| | | Describe otras actividades de control realizadas: | | | | |
| | _____ | | | | | |
| | _____ | | | | | |
| | _____ | | | | | |
| | _____ | | | | | |

| | | | |
|-----------------|--------------------------|--------|--|
| 42 Responsable: | Nombre: DR SERGIO TACURY | Firma: | |
|-----------------|--------------------------|--------|--|

Nota. Ficha informativa donde se especifican los datos personales del paciente y antecedentes en cuanto a los síntomas del Covid-19. Tomado del Ministerio de Salud Pública.

11.4. Anexo 4: Protocolo para la obtención de muestra sanguínea

| | | |
|---|--|---|
|  <p>1859</p> | <p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Extracción de muestra sanguínea</p> | <p>Protocolo para la obtención de muestra sanguínea</p> |
| <p>Fecha de elaboración: 12 Septiembre del 2020</p> | <p>Lista de distribución del documento Tutor de proyecto de tesis: Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc.</p> | <p>Código: 0001 Versión: 001</p> |

| | | | |
|---|--|--------------------------|---|
| <p>Equipo/ Área</p> | <p>Laboratorio del Centro Médico de la Facultad de la Salud Humana</p> | | |
| <p>Responsable del laboratorio</p> | <p>Lic. Diana Ramón</p> | | |
| <p>Frecuencia</p> | <p>Cada vez que se vayan a reintegrar personal docente y administrativo a sus labores académicas y estudiantes a prácticas preprofesionales.</p> | | |
| <p>Acciones preliminares</p> | <p>Verificar que todos los materiales necesarios estén a la mano</p> | <p>Materiales</p> | <ul style="list-style-type: none"> – Jeringuillas de 5ml – Tubos tapa roja – Torniquete – Alcohol y algodón – Curitas – Lápiz graso y libreta – Kit de bioseguridad personal (mascarilla, gorro y traje protector interno) – Guantes de nitrilo |

| | |
|---|--|
| Procedimiento para la obtención de muestra sanguínea | <ol style="list-style-type: none">1. Primero el analista procede a lavarse correctamente las manos con agua y jabón.2. El analista debe colocarse todos los implementos de bioseguridad, el cual consta del traje protector interno, la bata quirúrgica, gorro, mascarilla, guantes y visor, para realizar la toma de muestra venosa.3. Preparar todo el material que va a ser utilizado sobre la mesa de trabajo4. Desinfectar correctamente el espacio en donde se va a realizar la toma de muestra.5. Se procederá a hacer pasar al paciente, se le rociara alcohol en las manos para su desinfección y luego se le pedirá que se sienta en una posición cómoda explicándole el procedimiento de la toma de muestra, no sin antes pedirle el consentimiento informado y la ficha epidemiología, para revisar que este todo completo y con su respectiva firma.6. Se procede a rotular el tubo con el código que se le designe al paciente y su nombre; y se procede a preparar la aguja vacutainer y la campana, para la extracción de la muestra.7. Luego se le pide al paciente extienda el brazo y se le coloca el torniquete no más de 5 minutos y empezamos a palpar para localizar la vena que facilite la venopunción.8. Una vez localizado, se procede a desinfectar el área con un algodón con alcohol al 70%, recordando que no se debe volver a tocar el área desinfectada.9. Colocar la punta de la aguja en un ángulo de 15 a 30 grados sobre la superficie de la vena escogida y procedemos a realizar la punción con un movimiento firme y seguro, hasta el lumen de la vena10. Se ingresa el tubo tapa roja, recolectando la cantidad de sangre necesaria y aflojamos el torniquete. |
|---|--|

| | |
|--|---|
| | <ol style="list-style-type: none">11. Retiramos el tubo una vez recogida la muestra, procedemos a sacar la aguja con un movimiento suave y colocamos una torunda de algodón hasta que se detenga el sangrado.12. Posteriormente se coloca una curita al paciente.13. Realizamos una desinfección en el área de toma de muestra, una vez que el paciente se haya retirado14. Finalmente se desecha los guantes y se procede a colocarse unos nuevos, esto debe ser realizado después de la toma de muestra de cada paciente |
|--|---|

Nota. Protocolo que indica pasos y recomendaciones para la extracción de sangre. Elaborado por la autora en base a los conocimientos adquiridos en la carrera de Laboratorio Clínico.

11.5. Anexo 5: Protocolo para el transporte de muestras sanguíneas

| | | |
|---|--|---|
|  | <p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio clínico Transporte de muestras biológicas</p> | Protocolo para el transporte de muestras sanguíneas |
| Fecha de elaboración: 12 de septiembre del 2020 | Lista de distribución del documento Tutor de proyecto de tesis: Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc. | Código: 0002 Versión: 001 |

| | | | |
|---|---|-------------------|--|
| Equipo/ Área | Centro de Diagnóstico Médico/Hospital Isidro Ayora | | |
| Responsable del laboratorio | Licda. Diana Ramón/ Lic. Ángel Luzón | | |
| Frecuencia | Cada vez que se vaya a testear las muestras de los pacientes. | | |
| Acciones preliminares | Verificar que todos los materiales necesarios estén disponibles y la temperatura sea la adecuada | Materiales | <ul style="list-style-type: none"> – Tubos eppendorf – Cooler – Gradilla – Paquetes de hielo gel refrigerante – Pipetas automatizadas |
| Procedimiento para el transporte de muestras | <ol style="list-style-type: none"> 1. Una vez obtenido el suero de cada paciente, por medio de centrifugación 2. Seguido de ello, se procede a rotular los tubos eppendorf con el código de la muestra correspondiente 3. Luego con el empleo de una pipeta automatizada se traspasa el suero a un tubo eppendorf de acuerdo al código que posee la muestra original | | |

| | |
|--|---|
| | <ol style="list-style-type: none">4. Después se prepara el cooler con hielo gel refrigerante, para mantener una temperatura de 2 a 8°C y se conserve la cadena de frío y evitar que la muestra pierda sus propiedades5. Las muestras son ubicadas verticalmente en la gradilla, para posteriormente ser colocadas en la cadena de frío6. Por último, se realiza el sellado del cooler y se realiza el transporte de las muestras para su respectivo análisis. |
|--|---|

Nota. Evitar los movimientos bruscos de las muestras, las mismas siempre debe ir de forma vertical evitando posibles derrames y por consecuente pérdida y contaminación. Elaborado por la autora en base a los conocimientos adquiridos.

11.6. Anexo 6: Protocolo para la calibración del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2

| | | |
|---|---|--|
|  <p>1859</p> | Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio clínico Calibración del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2 | Protocolo para la calibración del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2 |
| Fecha de elaboración: 12 de septiembre del 2020 | Lista de distribución del documento Tutor de proyecto de tesis: Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc. | Código: 0003 Versión: 001 |

| | | | |
|---|--|-------------------|---|
| Equipo/ Área | Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora | | |
| Responsable del laboratorio | Lic. Ángel Luzón | | |
| Frecuencia | Una vez por lote de reactivo. | | |
| Acciones preliminares | Verificar que todos los materiales necesarios estén disponibles y la temperatura sea la adecuada | Materiales | <ul style="list-style-type: none"> – Kit de calibradores – Equipo cobas e 411 – Tarjeta con el código de barras del reactivo – Puntas blancas y negras – Agua destilada – Kit de reactivo Anti-SARS-CoV-2 |
| Procedimiento para la calibración del reactivo | <ol style="list-style-type: none"> 1. Para realizar la calibración del reactivo se utilizan dos calibradores, calibrador 1 (tapa blanca) y calibrador 2 (tapa negra) 2. Primero se debe instalar la prueba por medio de la tarjeta del código de barras del reactivo Anti-SARS-CoV-2, para lo cual se va a seleccionar en la pantalla del equipo la opción calibración, después se | | |

| | |
|--|---|
| | <p>procede a colocar la tarjeta de código de barras y elegimos la opción escanear código de barras</p> <ol style="list-style-type: none">3. Después se debe asegurar que se encuentre instalado el kit de reactivo que se desea calibrar, en caso de que no se encuentre instalado, se dirige a la parte de instalar y procedemos a descargar en el Cobas link, que es una base de datos de la casa comercial ROCHE.4. Seguido de ello, seleccionar en el equipo la prueba que se desea calibrar5. Se procede a destapar y colocar los reactivos en el rotor de muestras y se lee los códigos de barras de ACOV2 Cal1 y ACOV2 Cal26. Luego se procede a seleccionar la opción que dice (calibrar)7. Por último, se da clic en la opción inicio para proceder a realizar la calibración. |
|--|---|

Nota. Protocolo que permite realizar la calibración del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2.

Tomado de Roche cobas e 411. Manual de usuario.

11.7. Anexo 7: Protocolo para el control de calidad del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2

| | | |
|---|--|---|
|  | Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio clínico Control de calidad del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2 | Protocolo para el control de calidad del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2 |
| Fecha de elaboración: 12 de septiembre del 2020 | Lista de distribución del documento Tutor de proyecto de tesis: Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc. | Código: 0004 Versión: 001 |

| | | | |
|---|---|-------------------|--|
| Equipo/ Área | Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora | | |
| Responsable del laboratorio | Lic. Ángel Luzón | | |
| Frecuencia | Una vez por lote de reactivo. | | |
| Acciones preliminares | Verificar que todos los materiales necesarios estén disponibles y la temperatura sea la adecuada | Materiales | <ul style="list-style-type: none"> – Kit de controles – Equipo cobas e 411 – Tarjeta con el código de barras del reactivo – Puntas blancas y negras – Agua destilada – Kit de reactivo Anti-SARS-CoV-2 |
| Procedimiento para la calibración del reactivo | <ol style="list-style-type: none"> 1. Para realizar el control de calidad del reactivo, se utilizan dos niveles de PreciControles: PC ACOV2 1 (tapa marrón claro) y PC ACOV2 2 (tapa marrón oscura) 2. Primero se debe instalar la prueba por medio de la tarjeta del código de barras de los controles para el reactivo Anti-SARS-CoV-2, para lo cual se va a seleccionar en la pantalla del equipo la opción CC (control de calidad), se procede a colocar la tarjeta de código de barras | | |

| | |
|--|--|
| | <p>y elegimos la opción escanear código de barras. Repetir este pasó con las dos tarjetas de códigos.</p> <ol style="list-style-type: none">3. Seguido de ello, seleccionar en el equipo la prueba que se desea pasar el control de calidad4. Se procede a destapar y colocar los reactivos de forma vertical en el rotor de muestras, de tal manera que el códigos de barras de PC ACOV2 1 y PC ACOV2 2, mirando hacia la parte del lector de barras del equipo.5. Luego se procede a seleccionar la opción que dice control de calidad (CC).6. Por último, se da clic en la opción inicio para proceder a realizar el control de calidad del kit de reactivo. |
|--|--|

Nota. Protocolo que permite conocer y controlar la calidad del reactivo Elecsys Anti-SARS-CoV-2. Tomado de Roche cobas e 411. Manual de usuario.

11.8. Anexo 8: Protocolo para el análisis de anticuerpos totales

| | | |
|---|--|--|
|  | Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio clínico Análisis de anticuerpos totales frente a SARS-CoV-2 | Protocolo para el análisis de anticuerpos totales en el equipo cobas e 411 |
| Fecha de elaboración: 12 Octubre del 2020 | Lista de distribución del documento Tutor de proyecto de tesis: Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc. | Código: 0005 Versión: 001 |

| | | | |
|--|--|-------------------|--|
| Equipo/ Área | Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora | | |
| Responsable del laboratorio | Lic. Ángel Luzón | | |
| Frecuencia | Una vez obtenidas las muestras de los pacientes | | |
| Acciones preliminares | Verificar que se le han pasado al equipo controles y calibradores | Materiales | <ul style="list-style-type: none"> – Kit de Anti SARS COV-2 – Micropuntas – Microcopillas – Tubos eppendorf – Cooler – Gradilla – Lápiz Graso – Copillas de plástico |
| Procedimiento para el análisis de anticuerpos totales | <ol style="list-style-type: none"> 1. Una vez obtenida la muestra sanguínea, se la somete a un proceso de centrifugación de 4500 rpm por 5 minutos, para la obtención de suero. 2. Seguidamente se separa el suero y se lo coloca en un tubo eppendorf con su respectivo código de identificación. | | |

| | |
|--|---|
| | <ol style="list-style-type: none">3. Luego se coloca las muestras en el cooler con hielo a una temperatura de 2 a 8°C, para su respectivo transporte al laboratorio.4. En laboratorio esperamos que la muestras se estabilicen a temperatura ambiente, después el suero lo traspasamos a copillas con su respectiva identificación para su procesamiento.5. Se escanea el código de barras del reactivo Anti SARS COV-2 en el equipo cobas e 411, para su respectiva identificación.6. Después se pasan los calibradores del reactivo Anti SARS COV-2, ACOV2 Cal1 y ACOV2 Cal2, y luego los controles tanto positivo como negativo.7. Finalmente se digita el código de cada paciente en el equipo, seleccionando la prueba a realizar y se procede a colocar la muestra en el lugar correspondiente, dando inicio al análisis. |
|--|---|

Nota. Protocolo que indica los pasos a seguir para la obtención de anticuerpos totales, comercial. Trabajo realizado en el equipo cobas e411.

11.9. Anexo 9: Protocolo para el análisis de inmunoglobulinas IgM

| | | |
|---|--|---|
|  | Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico Análisis de Inmunoglobulinas IgM frente a SARS-Cov2 | Protocolo para el análisis de inmunoglobulinas IgM en el equipo Rayto-2100c |
| Fecha de elaboración: 03 marzo del 2021 | Lista de distribución del documento Tutor de proyecto de tesis: Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc. | Código: 0006 |
| | | Versión: 001 |

| | | | |
|------------------------------------|---|-------------------|--|
| Equipo/ Área | Centro de diagnóstico Médico (CDM), Facultad de la Salud Humana | | |
| Responsable del laboratorio | Lic. Diana Ramón | | |
| Frecuencia | Una vez obtenidas las muestras de los pacientes | | |
| Acciones preliminares | Verificar que se disponga de todos los materiales necesarios. | Materiales | <ul style="list-style-type: none"> – Kit de IgM anti SARS COV-2 – Placa de microtitulación – Lámina autoadhesiva – Pipeta multicanal – Incubadora – Micropipetas – Mezcladora Vortex – Agua destilada – Puntas amarillas – Puntas azules – Tubos eppendorf – Gradilla – Lápiz Graso |

| | |
|--------------------------------|--|
| Reactivos suministrados | <ul style="list-style-type: none"> – Placas de Microtitulación: 12 tiras de 8 pocillos rompibles, recubiertos con antígenos del SARS-CocV-2, en bolsa de aluminio – Tampón de dilución de muestras IgM: 1 botella de 100 mL de solución de tampón de fosfato para diluir la muestra; pH $7,2 \pm 0,2$, color verde – Solución de parada: 1 botella de 15 mL de ácido sulfúrico, 0,2 mol/L, listo para ser utilizado, tapa roja. – Tampón de lavado (20xconc): 1 botella de 50 mL de una solución de tampón de fosfato 20x concentrado (0,2M) para lavar los pocillos; pH $7,2 \pm 0,2$, tapa blanca – Conjugado: 1 botella de 20 mL de conjugado de anticuerpos IgM anti-humano con peroxidasa en tampón de fosfato; color rojo, tapa negra y listo para ser utilizado. – Solución de sustrato de TMB: 1 botella de 15 mL 3,3',5,5'-tetrametilbenzindina (TMB), < 0,1 %; listo para ser utilizado, tapa amarilla – Control positivo: 1 botella de 2 mL control, tapa roja – Cut-off: 1 botella de 3 mL, tapa verde – Control negativo: 1 botella de 2 mL control, tapa azul. |
| Procedimiento | <ol style="list-style-type: none"> 1. La muestra sanguínea obtenida por venopunción se la somete a un proceso de centrifugación de 4500 rpm por 5 minutos, para la obtención de suero. 2. Seguidamente se separa el suero y se lo coloca en un tubo eppendorf con su respectivo código de identificación. 3. Se realiza la preparación de los reactivos: <ol style="list-style-type: none"> 3.1 Tampón de Lavado (20x conc): Diluir el tampón de lavado 1+19; 6600 ml de WASH + 125,400 ml de agua destilada. Mezclar bien antes de la dilución. 3.2 Solución de sustrato de TMB: viene listo para su uso, almacenada a 2-8 °C y protegida de la luz. |

4. Dilución de las muestras, antes del ensayo las muestra tienen que estar diluidas 1+100 con el Tampón de dilución de muestras IgM; 10 μ L de muestra + 1 mL de Tampón de dilución de muestras IgM y luego mezclar bien con la mezcladora de Vortex.

5. Procedimiento:

5.1 Pipetear 100 μ L de estándares/controles (control negativo, cut-off y control positivo) y muestras en los pocillos respectivos, dejar el pocillo A1 para el Blanco.

5.2 Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.

5.3 Incubar 1 h \pm 5 min a 37 \pm 1 $^{\circ}$ C

5.4 Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla tres veces con 300 μ L del Tampón de lavado, evitar el rebosamiento de los pocillos. El intervalo entre lavado y aspiración debe ser mayor a 5 segundos.

5.5 Pipetear 100 μ L de Conjugado en cada pocillo con excepción del blanco substrato A1.

5.6 Incubar 30 min a temperatura ambiente y evitar la luz solar directa

5.7 Repetir el lavado como en el paso número 5.4

5.8 Pipetear 100 μ L de Solución de sustrato de TMB en todos los pocillos

5.9 Incubar 15 min en oscuridad a temperatura ambiente.

5.10 Pipetear en todos los pocillos 100 μ L de la Solución de parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con el Solución de sustrato de TMB.

5.11 Medir la extinción con 450/620 nm en un periodo de 30 min después de añadir la solución de parada.

6. Para la medición se debe ajustar el fotómetro de Placa de microtitulación ELISA al cero utilizando el blanco

6.1 Se procede a medir la extinción de todos los pocillos con 450 nm y anotar los resultados obtenidos.

| | |
|----------------------------------|---|
| Cálculo de los resultados | <p>7. Criterios de validez del ensayo:</p> <ul style="list-style-type: none">7.1 Blanco: valor de la extinción $<0,100$7.2 Control negativo: valor de la extinción $<0,200$ y $< \text{Cut-off}$7.3 Control del Cut-off: valor de la extinción de $0,150-1,300$7.4 Control positivo: valor de la extinción Cut-off <p>8. Cálculo del valor de la medición:</p> <p>El Cut-off se obtiene de los valores de la extinción de los dos controles Cut-off</p> |
|----------------------------------|---|

Nota. Protocolo comercial, sirve para determinar los anticuerpos IgM. Tomado del Inserto de NovaLisa SARS-CoV-2 (COVID-19) IgM de la casa comercial Nova Tec Immundiagnostica (p.26)

11.10. Anexo 10: Protocolo para el análisis de inmunoglobulinas IgG

| | | |
|---|--|--|
|  <p>1859</p> | <p align="center">Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio clínico Análisis de Inmunoglobulinas IgG frente a SARS-Cov2</p> | <p>Protocolo para el análisis de inmunoglobulinas IgG en el equipo Rayto-2100c</p> |
| <p>Fecha de elaboración: 03 marzo del 2021</p> | <p>Lista de distribución del documento</p> <p>Tutor de proyecto de tesis: Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc.</p> | <p>Código: 0007</p> <p>Versión: 001</p> |

| | | | |
|------------------------------------|---|-------------------|--|
| Equipo/ Área | Centro de diagnóstico Médico (CDM), Facultad de la Salud Humana | | |
| Responsable del laboratorio | Lic. Diana Ramón | | |
| Frecuencia | Una vez obtenidas las muestras de los pacientes | | |
| Acciones preliminares | Verificar que se disponga con todo el material necesario. | Materiales | <ul style="list-style-type: none"> - Kit de IgG anti SARS COV-2 - Placa de microtitulación - Lámina autoadhesiva - Pipeta multicanal - Incubadora - Micropipetas - Mezcladora Vortex - Agua destilada - Puntas amarillas - Puntas azules - Tubos eppendorf - Gradilla - Lápiz Graso |

| | |
|----------------------|--|
| Procedimiento | <ol style="list-style-type: none">1. La muestra sanguínea se obtiene por venopunción se la somete a un proceso de centrifugación de 4500 rpm por 5 minutos, para la obtención de suero.2. Diluir el antígeno a 2.5 µg/ml, para lo cual se tomó 12.5 µl de stock y añadir 4987.5 µl PBS 1X.3. Luego recubrir una placa Immunolon de 96 pocillos con 50 µ/pocillo del antígeno diluido durante toda la noche a temperatura ambiente.4. Preparación de la solución de lavado: 50 ml de PBS 10x + 450 ml de agua destilada = 500 ml de solución de lavado.5. Desechar la solución de antígeno no fijada y lavar la placa una vez con 270 µl por pocillo de PBS-Tween20 al 0,1% (PBS-T)6. Preparar la solución de bloqueo agregando 0,44 g de BSA y 11 ml de PBS-T20 0,1%7. Bloquear la placa con 100 µl/pocillo de solución de bloqueo durante 30 min a 37 °C |
| | <ol style="list-style-type: none">8. Desechar la solución de bloqueo y lavar la placa manualmente con una pipeta multicanal 5 veces con 270 µl/pocillo de la solución de lavado.9. Preparar el buffer de dilución con 50 ml de PBS-T y 2,5 g de leche descremada.10. Diluir en tubos eppendorf los sueros y controles 1/100 en el buffer de dilución para ello se toma 5 µl de cada muestra y/o control y añadir 495 µl del buffer de dilución.11. Añadir 100 µl de las muestras y controles positivos y negativos previamente diluidos e incubamos la placa a 37 °C durante 1 hora.12. Lavar la placa manualmente 5 veces con 270 µl/pocillo de la solución de lavado como en el paso 713. Diluir 1/8000 el goat anti IgG humana-HRP en buffer de dilución, tomar 1,37 µl del conjugado y agregar 11 ml del buffer de dilución e incubar a 37 °C por 30 min.14. Lavar la placa manualmente 7 veces con 270 µl/pocillo de la solución de lavado. |

| | |
|---|--|
| | <p>15. Preparar sustrato o-Phenylenediamine dihydrochloride (OPD), primero disolver la pastilla dorada en 20 ml de agua pura y antes de utilizar el sustrato añadir la pastilla plateada y proceder a disolver.</p> <p>16. Añadir 100 µl por pocillo del sustrato OPD e incubar por 10 min a temperatura ambiente y en un lugar oscuro.</p> <p>17. Detener la reacción con 100 µl por pocillo de ácido clorhídrico 3N</p> <p>18. Po último, se procede a leer las placas en un lector de ELISA a 490nm</p> |
| <p>Cálculo de los resultados</p> | <p>19. Criterios de validez del ensayo:</p> <p>19.1 Control negativo: Valor de absorbancia siempre menor a 0,300</p> <p>19.2 Control positivo: valor de absorbancia siempre superior a 1,00</p> <p>19.3 Nivel de corte temporal: promedio de sueros Inbiomed18 + 2SD + 3SD + 4SD (cut off= mean o + 2SD o + 3SD o + 4SD)</p> <p>Cálculo del Cut off del ensayo:</p> <p>Cut off= 1, 0777</p> |

Nota. Protocolo elaborado para determinar los anticuerpos IgG, no comercial. Tomado de <https://doi.org/https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-1420>

11.11. Anexo 11: Nomina de registro de datos obtenidos



UNL

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

NOMINA DE REGISTRO DE LA DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA SARS-COV-2 DE ESTUDIANTES, DOCENTES Y ADMINISTRATIVOS DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

| CODIGO DEL PACIENTE | NOMBRES COMPLETOS | SEXO | RESULTADO DE LOS ANTICUERPOS TOTALES | RESULTADOS DE LAS INMUNOGLOBULINAS | |
|---------------------|-------------------|------|--------------------------------------|------------------------------------|-----|
| | | | | IgG | IgM |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

Nota. Documento de registro, donde se resumieron los resultados obtenidos. Elaborado por la autora.

11.12. Anexo 12: Certificado del Hospital Isidro Ayora sobre la detección de anticuerpos totales



HOSPITAL ISIDRO AYORA LOJA

LABORATORIO CLINICO

Loja, 13 de enero del 2021

CERTIFICADO

La presente tiene como finalidad de otorgar a la Srta. **Jennifer Alexandra Riera Yanza** portadora de la cédula de identidad **1105699753**, certificación de haber **ASISTIDO Y REALIZADO** el análisis de anticuerpos totales para Covid-19 en el equipo Cobas e411 por medio de la técnica electroquimioluminiscencia llevado a cabo en el Laboratorio Clínico del Hospital Isidro Ayora de la ciudad de Loja durante los meses de octubre, noviembre y diciembre del año 2020.



Lcdo. Ángel Luzón Ramírez

DEPARTAMENTO DE DOCENCIA DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA LOJA

Nota. Documento que respalda la asistencia de la autora mediante el proceso de análisis de anticuerpos totales. Emitido por el Lcdo. Ángel Luzón Ramírez integrante del departamento de docencia del Hospital General Isidro Ayora.

11.13. Anexo 13: Certificado de la realización de las Inmunoglobulinas IgG e IgM



unl

Universidad
Nacional
de Loja

Facultad
de la Salud
Humana

En mi calidad como técnico docente y responsable de Laboratorio de Centro de Diagnóstico Médico permito certificar que la estudiante egresada de la carrera de Laboratorio Clínico, Jennifer Alexandra Riera Yanza con CI. 1105699753 con tema de tesis “DETECCIÓN DE ANTICUERPOS TOTALES PARA COVID-19 AL PERSONAL DOCENTE, ADMINISTRATIVO Y ESTUDIANTIL DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA UNL” procesó 13 muestras IgG y 13 muestras IgM en el periodo comprendido del 17 de marzo hasta 6 de abril del presente año.

Faculto a la interesada hacer uso de la presente certificación como a bien tuviere. Lo certifico en honor a la verdad.

Loja, 11 de octubre del 2021



Lic. Diana Ramón M.

TÉCNICO DOCENTE Y RESPONSABLE DE LABORATORIO DE CENTRO DE DIAGNÓSTICO
MÉDICO

072 -57 1379 Ext. 102
Calle Manuel Monteros,
tras el Hospital Isidro Ayora · Loja - Ecuador

Nota. Documento que respalda la veracidad del procesamiento de muestras. Emitido por la Lic. Diana Ramón, responsable del laboratorio del centro de diagnóstico Médico.

11.14. Anexo 14: Certificación de traducción

Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc.

Docente de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja.

CERTIFICA

Haber revisado la traducción al inglés del resumen de la Tesis, titulada **“Detección de anticuerpos totales para Covid-19 al personal docente, administrativo y estudiantil de la carrera de Laboratorio Clínico de la UNL”**, el cual es correcto y hace referencia al contenido del citado trabajo.

Loja, 26 de agosto del 2021



Firmado electrónicamente por:

**LOIDY
ZAMORA**

Lic. Loidy Zamora Gutiérrez, Mg. Sc.

Docente de la Carrera de Laboratorio Clínico

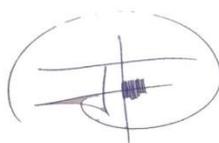
Nota: Documento que respalda la veracidad del resumen del presente trabajo. Entregado por parte de la Lic. Loidy Zamora, docente de la carrera de Laboratorio Clínico.

11.15. Anexo 15: Certificación original de la traducción del resumen

CERTIFICACION

Yo, **JUAN PABLO QUEZADA ROSALES**, con cedula de identidad 1104039621 , Licenciado En ciencias de la Educación mención Inglés, manifiesto que; el presente documento de (abstract) de la señorita **JENNIFER ALEXANDRA RIERA YANZA**, con cedula de identidad 1105699753, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja , ha sido traducido por mi persona, de manera legal y completa. Por tanto, se autoriza la impresión del mismo para los fines pertinentes.

Atentamente.



Checked by:
Juan Pablo Quezada R.
E.F.L. Teacher

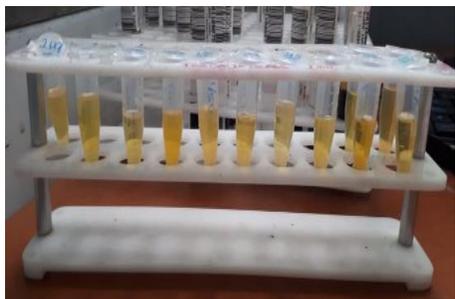
Lic. Juan Pablo Quezada Rosales.
DOCENTE DE INGLÉS EDUCACIÓN SUPERIOR

Nota: Certificado que respalda la veracidad de la traducción del resumen del presente trabajo.

Entregado por parte del Lic. Juan Pablo Quezada, docente de inglés de Educación Superior.

11.16. Anexo 16: Evidencias

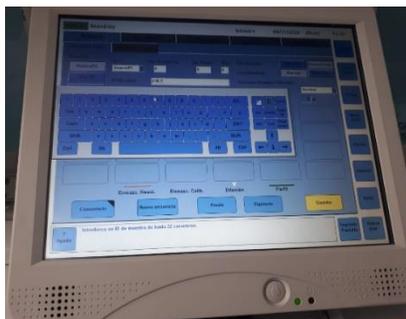
Detección de anticuerpos totales



Evidencia 1: Sueros de los pacientes, con su respectivo código.



Evidencia 2: Equipo cobas e411, para la detección de anticuerpos totales.



Evidencia 3: Programación de cada suero del paciente con su respectivo código en el equipo



Evidencia 4: Muestras colocadas en el equipo.

Detección de anticuerpo IgM

NOVATEC
IMMUNDIAGNOSTICA GMBH

Raumtemperatur zu Testbeginn (max. 25°C):

Test: Lot/Chargen-Bez.:

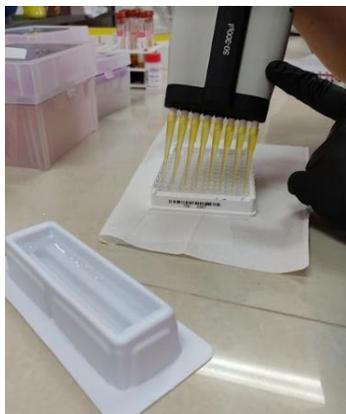
Operator/Untersucher: Date/Datum:

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|
| A | | 185 | 263 | 360 | 394 | 410 | 511 | 11 | 401 | | | |
| B | | 280 | 384 | 364 | 406 | 431 | 515 | 18 | 311 | | | |
| C | | 198 | 385 | 347 | 401 | 460 | 515 | 15 | 15 | | | |
| D | | 310 | 383 | 393 | 415 | 494 | 510 | 74 | 38 | | | |
| E | | 334 | 384 | 384 | 376 | 404 | 481 | 515 | 534 | CU | | |
| F | | 119 | 325 | 314 | 338 | 411 | 404 | 46 | 531 | 194 | | |
| G | | 180 | 284 | 323 | 332 | 411 | 493 | 44 | 465 | 132 | | |
| H | | 180 | 288 | 358 | 383 | 415 | 505 | 14 | 494 | 102 | | |

Evidencia 1: Colocación de cómo van a ir las muestras en la placa.



Evidencia 2: Preparación de las muestras antes de ser colocadas en la placa.



Evidencia 3: Realización de los lavados a la placa.



Evidencia 4: Colocación del reactivo de stop en las muestras.



Evidencia 5: Incubación de las muestras a 37°C por 30 minutos.



Evidencia 6: Programación de las muestras en el equipo.



Evidencia 7: Resultados de las absorbancias obtenidas.

Detección de anticuerpos IgG

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| A | Blank | 432 | 433 | 430 | 460 | 485 | 490 | 499 | 240 | 244 | 225 | Blank |
| B | Wg Pos | 244 | 245 | 263 | 269 | 265 | 293 | 257 | 244 | 220 | 220 | 360 |
| C | Wg Neg | 264 | 263 | 342 | 344 | 346 | 292 | 293 | 254 | 406 | 444 | 440 |
| D | Control W | 448 | 442 | 423 | 405 | 440 | 434 | 440 | 449 | 433 | 453 | 433 |
| E | Blank W | 452 | 444 | 445 | 543 | 540 | 493 | 524 | 539 | 549 | | |
| F | Blank W | | | | | | | | | | | |
| G | Blank W | | | | | | | | | | | |
| H | Blank W | | | | | | | | | | | Blank |

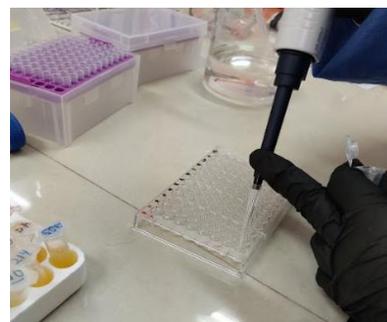
Evidencia 1: Colocación de cómo van ir las muestras en la placa.



Evidencia 3: Lavado de la placa con la solución de lavado.



Evidencia 5: Colocación de la placa en el equipo de ELISA, para la realización de las absorbancias de las muestras.



Evidencia 2: Colocación de las muestras en la placa, en su respectivo lugar.



Evidencia 4: Colocación del HCL que es el reactivo de parada a las muestras en la placa.



Evidencia 6: Absorbancias obtenidas de las muestras.