

Pruebas diagnósticas microbiológicas de la infección por el SARS-CoV-2

Utilidad en la clínica

José María Molero García

Grupo de Trabajo en Enfermedades Infecciosas de la semFYC

Introducción

Los coronavirus (CoV) son virus ARN monocatenario que causan infecciones principalmente respiratorias e intestinales en animales y humanos.

Existen 7 CoV capaces de infectar a los humanos, la mayoría de los cuales causan infecciones respiratorias catarrales, invernales, graves. En general, se estima que un 2% de la población es portadora sana de un CoV y que estos virus son responsables de, aproximadamente, un 5-10% de las infecciones respiratorias agudas.

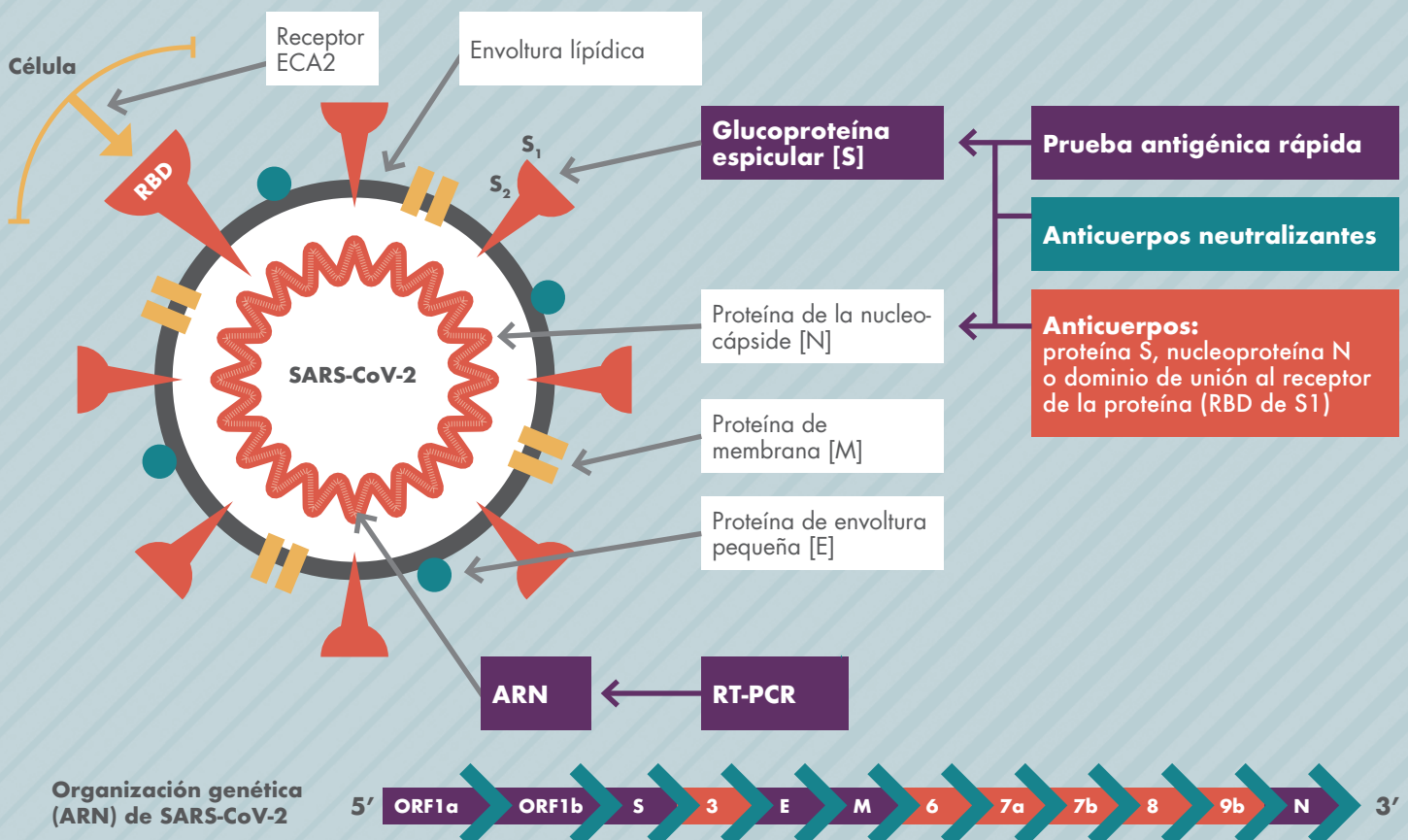
En los últimos 20 años, tres de ellos han causado brotes epidémicos que cursan con un síndrome respiratorio grave asociado a alta mortalidad: síndrome respiratorio agudo severo (SARS) en 2003, síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) en 2012 y síndrome respiratorio agudo grave 2 (SARS-CoV-2) o COVID-19 en 2020.

1. Morfología y estructura del SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 es un nuevo betacoronavirus (subgénero Sarbecovirus), de morfología circular, de un tamaño de 60-140 nm de diámetro, envuelto por una bicapa lipídica formada por las membranas de las células del huésped al que infectan. Contiene un ARN de hebra simple que codifica proteínas no estructurales (proteasas, helicasas, ARN polimerasas) y estructurales (de membrana [M], de envoltura [E], nucleocápside [N] y la proteína espiga [S]). Las proteínas S, M y E están ubicadas en la envoltura¹. Además, se han identificado 15 proteínas no estructurales y 8 proteínas accesorias que intervienen en diversos procesos.

El SARS-CoV-2 utiliza la proteína espiga (S) para infectar a las células epiteliales del pulmón e intestino a través de una proteína receptora de membrana, la enzima convertidora de la angiotensina 2 (ECA2)^{1,2}. También se encuentra en otras células del organismo: enterocitos, túbulos renales, vesícula biliar, cardiomiocitos, células reproductoras masculinas, trofoblastos placentarios, células ductales, ojos y vasculatura².

Pruebas diagnósticas



2. Transmisión

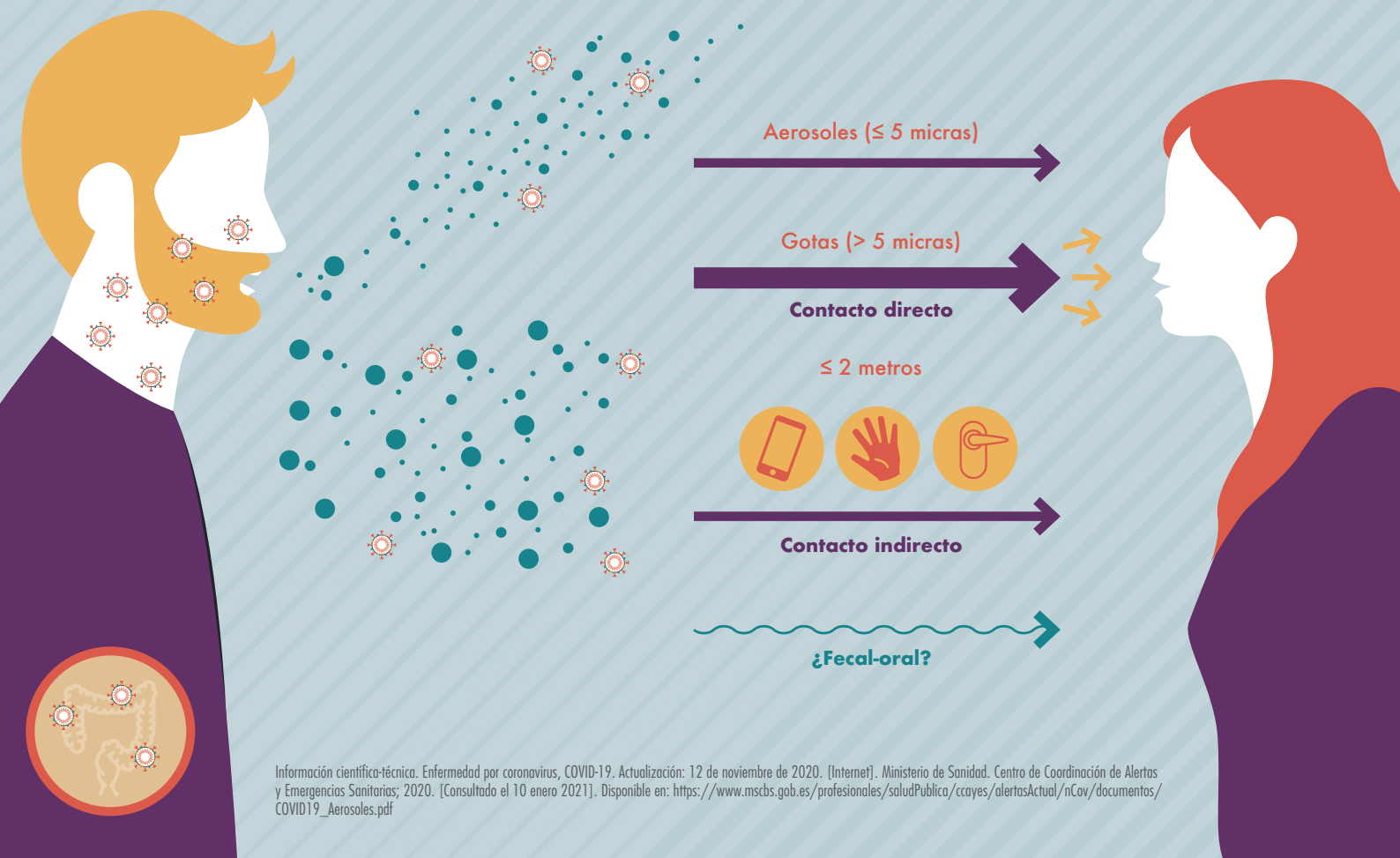
Principal

Contacto directo de la conjuntiva y mucosa de la boca y la nariz con las gotas respiratorias ≥ 5 micras emitidas por un enfermo que se transmiten a distancias de hasta 2 metros y se mantienen < 17 minutos en el aire³.

Otras vías menos frecuentes de transmisión

➤ **Aerosoles:** por el contacto e inhalación de aerosoles respiratorios (< 5 micras) que se suspenden en el aire a largas distancia (> 2 metros) y en el tiempo e impactan y se depositan en las conjuntivas y la mucosa del tracto respiratorio superior o son inhalados llegando a cualquier tramo del tracto respiratorio. El riesgo de esta transmisión aumenta en la distancia corta, en entornos cerrados y concurridos, especialmente mal ventilados, y si se realizan actividades que aumenten la generación de aerosoles, como hacer ejercicio físico, hablar alto, gritar o cantar. Además, los aerosoles se generan en procedimientos clínicos invasivos como la intubación endotraqueal, la aspiración de secreciones y la toma de exámenes respiratorios⁴. Este tipo de transmisión no significa un alto nivel de contagiosidad.

Mecanismos de transmisión del SARS-CoV-2



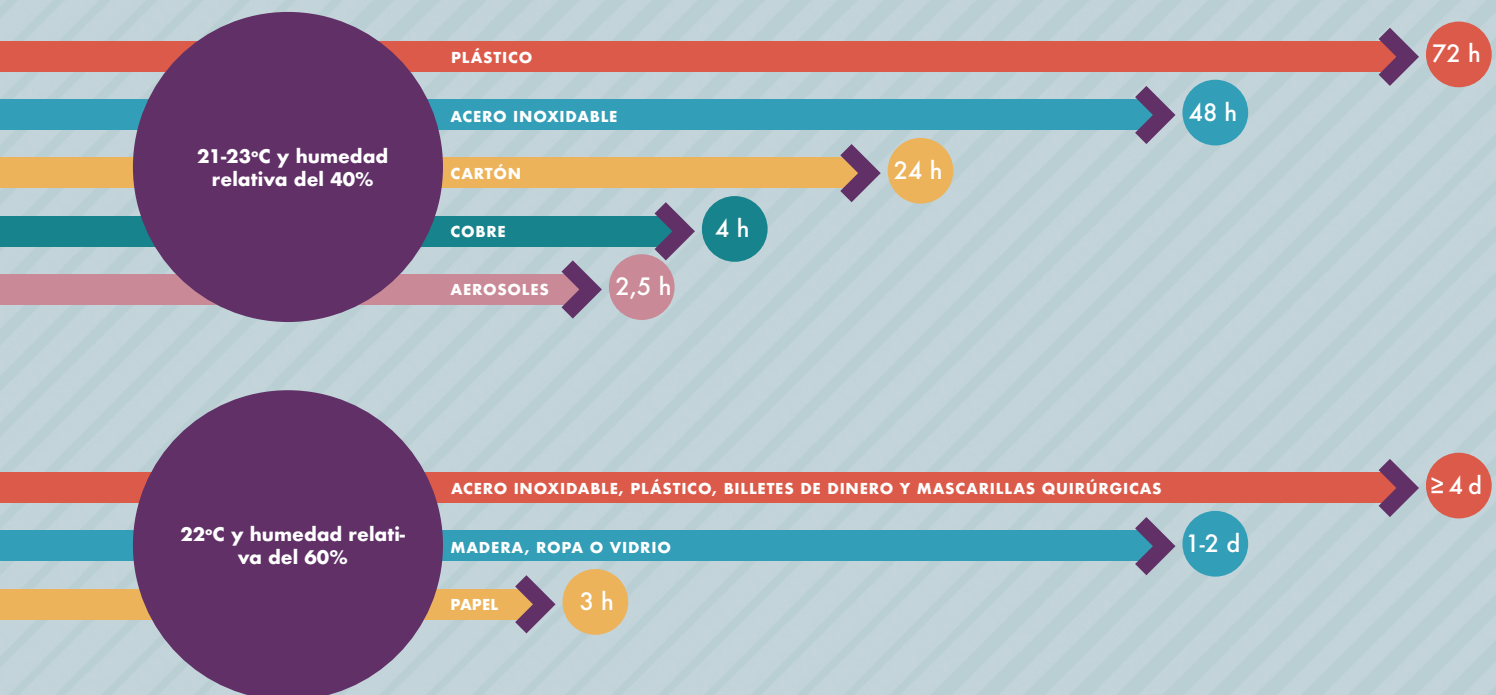
- **Contacto directo de la conjuntiva y mucosa de la boca y la nariz con las manos u objetos contaminados por las secreciones respiratorias del enfermo:**
 - ▶ A 21-23°C y con un 40% de humedad relativa, el SARS-CoV-2 puede mantenerse infeccioso 4 horas sobre cobre, 24 horas sobre cartón, 48 horas sobre acero inoxidable, y hasta 72 horas sobre plástico⁵.
 - ▶ A 22°C y con un 60% de humedad, el virus permanece 3 horas sobre superficie de papel (de imprimir o pañuelo de papel), 24-48 horas sobre madera, ropa o vidrio, y más de 4 días sobre acero inoxidable, plástico, billetes de dinero y mascarillas quirúrgicas⁵.
 - ▶ Sobre la piel puede permanecer estable durante 14 días a 4°C, 4 días a 22°C y al menos 8 horas a 37°C⁶.
 - ▶ El virus es sensible a desinfectantes y antisépticos como el etanol al 70%, hipoclorito de sodio al 0,1-0,5% (lejía casera), glutaraldehído al 2%, jabón líquido, clorhexidina y povidona yodada⁷.
- **Transmisión vertical por contacto estrecho entre ellos tras el nacimiento del niño con las secreciones respiratorias de la madre³.**

No existe evidencia de transmisión por las heces ni por la orina.

La transmisión es más frecuente en ambientes cerrados, con mucho contacto interpersonal.

La transmisión es mayor entre convivientes familiares (la más habitual), en eventos sociales y centros sociosanitarios residenciales³.

Permanencia del SARS-CoV-2 en aerosol y fómites



3. Evolución clínica de la COVID-19^{3,8}

PERÍODO	DURACIÓN
Período de incubación	Mediana: 5,1 días (rango 1-14 días) 95% a los 11,7 días (IC 95%: 9,7-14,2)
Período de transmisibilidad La mitad en período asintomático en el momento de la transmisión (presintomático o asintomático verdaderos)	Casos leves a moderados: desde 2-3 días antes del inicio de los síntomas hasta 7-8 días después
	Casos graves a críticos: hasta 18-20 días después
Tasa de ataque secundaria para convivientes de una misma familia	10-30%
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la hospitalización	6 días ³⁻⁹
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta el ingreso en la UCI	9 días ⁶⁻¹²
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta que se produce el fallecimiento	19 días (mediana) 2-8 semanas
Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la recuperación	Leve a moderada: 1-3 semanas Grave-crítica: 3-6 semanas

4. Manifestaciones clínicas

El cuadro clínico es el característico de una infección respiratoria aguda de aparición súbita que cursa con fiebre, tos seca o productiva o sensación de falta de aire, acompañado de otros síntomas como dolor muscular o articular, fatiga o cansancio, dolor de cabeza, odinofagia, anosmia, ageusia, dolor torácico y síntomas digestivos (náuseas, vómitos, diarrea), conjuntivitis o erupciones cutáneas o pérdida del color en los dedos de las manos o de los pies^{3,8}.

GRAVEDAD	PREVALENCIA (%)	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	HOSPITALIZACIÓN
Leve a moderado	80-85	Asintomáticos (17-25%) Infección respiratoria alta no complicada Neumonía sin signos de neumonía grave, ni necesidad de oxígeno	No
Grave	10-14	Neumonía grave con dificultad respiratoria grave y necesidad de oxigenoterapia	Sí (planta)
Críticos	5	Insuficiencia respiratoria (síndrome de distrés respiratorio agudo) Sepsis Shock séptico y fallo multiorgánico Elevada mortalidad (40-50%)	Sí (UCI)

En niños y adolescentes la infección es con mayor frecuencia asintomática y más leve⁹.

Si bien la mayoría de los pacientes se recuperan completamente de la infección, aproximadamente un 10% de los infectados prolongan sus síntomas más allá de 2-3 meses. Generalmente, estos síntomas se manifiestan como fatiga o cansancio, dificultad respiratoria, tos, dolores musculares o articulares y dolor torácico¹⁰.

La edad avanzada, el sexo masculino y la presencia de enfermedades crónicas tienen un gran impacto en la gravedad y la mortalidad de la infección.

Los grupos con **mayor riesgo de desarrollar enfermedad grave** por COVID-19 son personas con¹¹:

- ▶ Edad > 65 años
- ▶ Cardiopatías graves (insuficiencia cardíaca, cardiopatía isquémica, miocardiopatías) e hipertensión arterial
- ▶ DM tipo 2
- ▶ EPOC
- ▶ Enfermedad renal crónica
- ▶ Cáncer activo
- ▶ Inmunodepresión
- ▶ Embarazo
- ▶ Obesidad (IMC > 30)

5. Respuesta inmune en la infección por SARS-CoV-2

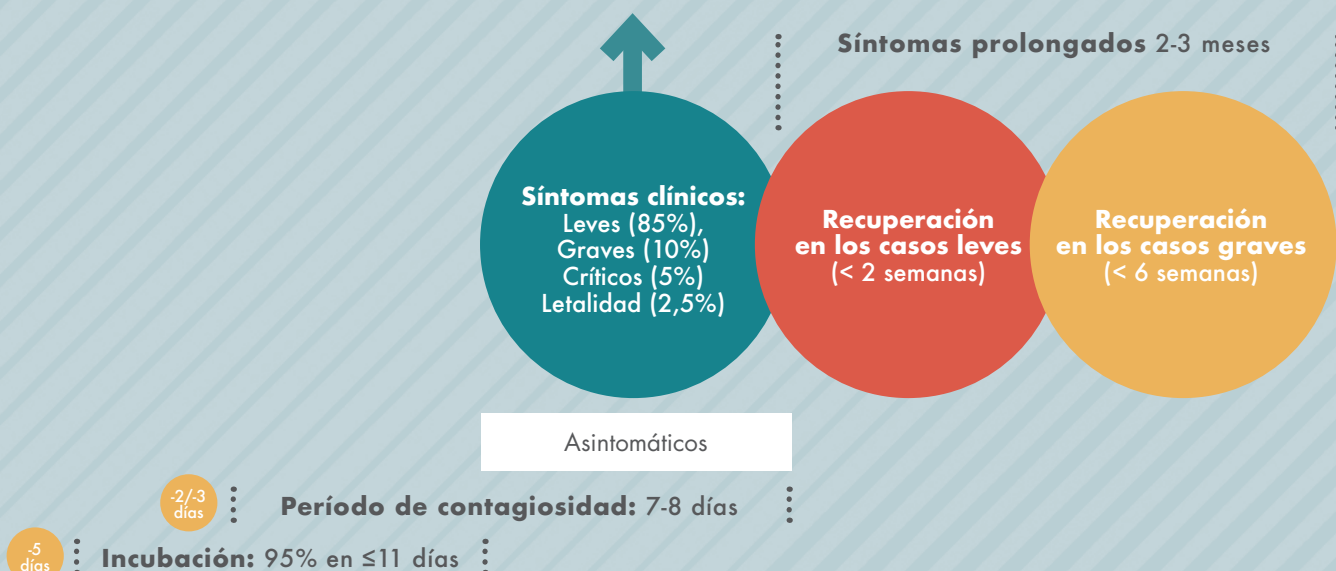
La infección por SARS-CoV-2 activa el sistema inmunitario innato y desencadena una reacción inmunitaria celular y humoral, mediada por anticuerpos. Los infectados, con independencia de la gravedad de la COVID-19, generan anticuerpos, incluidos los neutralizantes (IgG). Los títulos de anticuerpos son bajos durante los primeros 7 a 10 días después del inicio de los síntomas y aumentan después de 2 a 3 semanas, coincidiendo con la bajada en carga del ARN viral, y persisten durante semanas o meses después de la infección y el aclaramiento viral. Los individuos asintomáticos o con enfermedades leves y los más jóvenes tienen menor respuesta inmune¹².

Los anticuerpos se dirigen, principalmente, frente a la glucoproteína de superficie (S) y la proteína de la nucleocápside (N). La mayoría de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 se dirigen hacia una zona de la proteína S1 que coincide con la región de unión a las células humanas con el receptor ECA2 o dominio de unión al receptor de la proteína (RBD). La reactividad de anticuerpos a la proteína de la nucleocápside (N) indica exposición previa al SARS-CoV-2, pero los anticuerpos anti-S indican actividad neutralizante¹³.

Evolución clínica de la infección por el SARS-CoV-2

Infección respiratoria aguda de aparición súbita que puede cursar con:

- Fiebre
- Tos seca o productiva
- Sensación de falta de aire
- Mialgias y/o artralgias
- Fatiga o cansancio
- Alteraciones del olfato y/o del gusto
- Dolor de cabeza
- Dolor de garganta
- Dolor torácico
- Síntomas digestivos (náuseas, vómitos, diarrea)
- Conjuntivitis
- Erupciones cutáneas o pérdida del color en los dedos de las manos o de los pies



5.1 Seroconversión

La seroconversión consiste en la aparición de una respuesta de anticuerpos medibles a raíz de la infección. Influye en el resultado de las pruebas de detección serológicas, pues estas detectan la presencia de anticuerpos totales (Ab), IgM o IgG. La seroconversión es más intensa y rápida en los pacientes graves que en los que tienen síntomas más leves o infecciones asintomáticas; en caso de infección subclínica o leve, pueden tardar semanas en aparecer¹⁴. Los anticuerpos frente a SARS-CoV-2 comienzan a producirse al final de la primera semana del inicio de los síntomas. El primer marcador serológico detectable son los Ab, seguido de IgM e IgG. Los niveles máximos de anticuerpos suelen producirse en la tercera o cuarta semanas después de la aparición de los síntomas (tabla)¹⁵⁻¹⁷. La seroconversión IgM no aparece mucho antes que la IgG, y en muchos casos es simultánea¹⁴.

ANTICUERPOS	MEDIANA DE TIEMPO DE SEROCONVERSIÓN	PORCENTAJE DE SEROCONVERSIÓN		
		< 14 DÍAS	7-14 DÍAS	> 14 DÍAS
Totales (Ab)	9 días	40-50%	95-100%	100%
IgM	12 días	40-50%	54-87%	74-98%
IgG	14 días	3,5-50%	57-77%	93-100%

5.2 Duración de la inmunidad

Aunque se desconoce cuánto tiempo dura la inmunidad postinfección aguda, cada vez existe más evidencia a favor de esta protección duradera. Se reconoce que los niveles de IgG específicos (anti-S y anti-N) disminuyen después de la fase aguda, en algunos casos por debajo del umbral de detección de las pruebas. El descenso es más rápido en jóvenes y en casos asintomáticos o con síntomas leves¹⁹. A pesar de este descenso, se ha comprobado que, en la mayoría de los casos, las IgG anti-S permanecen estables durante 6-8 meses tras la infección. Estos anticuerpos protegen de forma efectiva frente a la reinfección^{20,21}. Además, los anticuerpos no son el único componente de la memoria inmunitaria, y el hecho de no detectar anticuerpos en suero después de una infección o vacunación no significa que no se produzcan anticuerpos después de la reexposición al patógeno. Se ha comprobado que otros componentes como las células B de memoria, las respuestas de anticuerpos persistentes y de producción de anticuerpos después de la reexposición, mantienen una elevada estabilidad 6-8 meses después de la infección aguda²².

En la actualidad las reinfecciones notificadas por el SARS-CoV-2 han sido raras, especialmente en infectados con anticuerpos neutralizantes anti-RBD, por lo que parece muy probable que la producción de anticuerpos postinfección prevenga la reinfección sintomática^{23,24}.

5.3 Pruebas de detección de la COVID-19

a) Tipos

Hay dos tipos de pruebas para la detección de la infección por el SARS-CoV-2 disponibles^{14,25}:

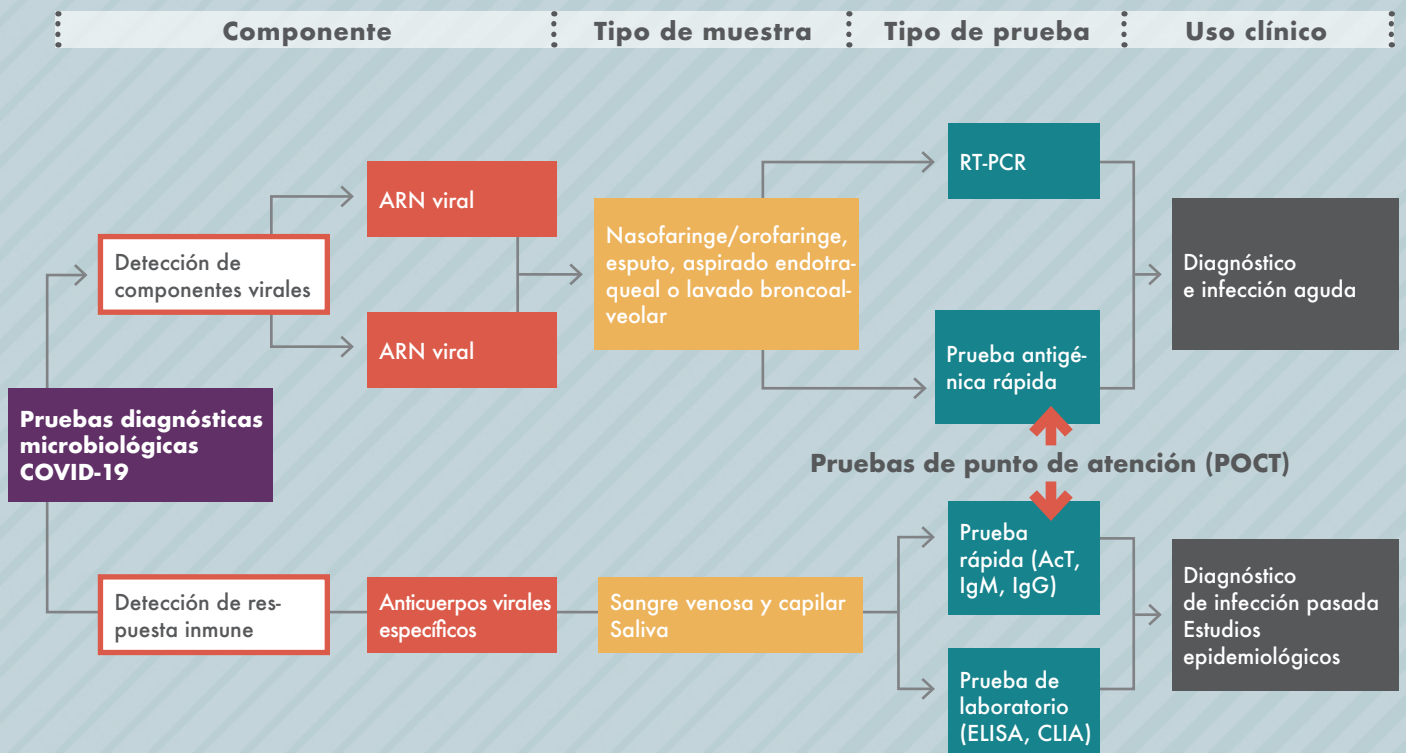
➤ Pruebas virales

- ▶ Detección del ARN viral mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa Inversa (RT-PCR).
- ▶ Detección en el punto de atención (*point of care testing* [POCT]) de antígenos virales mediante técnica de inmunocromatografía de difusión (*lateral-flow*).

➤ Técnicas de detección de anticuerpos. Miden los anticuerpos aglutinantes (inmunoglobulinas totales [Ab], IgG, IgM y/o IgA en diferentes combinaciones) utilizando diversas técnicas:

- ▶ Pruebas cuantitativas automatizadas de laboratorio que utilizan técnicas de análisis de inmunoadsorción ligada a enzimas (ELISA) y el inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA).
- ▶ Pruebas cualitativas inmunocromatográficas de flujo lateral (LFA) en el punto de atención (POCT).

Tipos de pruebas



CARACTERÍSTICAS	RT-PCR	PRUEBA DE ANTÍGENOS	DETECCIÓN DE ANTICUERPOS	
			LABORATORIO (ELISA, CLIA)	RÁPIDA
Muestras	Nasofaríngea/ orofaríngea	Nasofaríngea	Sangre total venosa	Venosa y capilar Saliva
Autotoma	Saliva (menor sensibilidad) Otras: nasal cornete medio	Saliva (se desconoce el rendimiento)	NO	SÍ
Análisis	Laboratorio	Punto de atención	Laboratorio	Punto de atención
Resultado	2-6 h: análisis Total: 24-48 h	15-20 min	24-48 h	15-20 min
Diagnóstico	Infección aguda	Infección aguda	Infección postaguda (≥ 2 sem)	
Sensibilidad	Método de referencia Muy alta: 90% 2 o 3 días antes	Respecto a RT-PCR: 0-5 días de síntomas: 95-98% 5.º-7.º día: 90-95% Variable en asintomáticos	$\geq 2.$ º semana del inicio de los síntomas	
			90-95%	80-90%

Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19. Versión 18 diciembre 2020 [Internet]. Ministerio de Sanidad; 2020. [Consultado 10 de enero de 2020]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf Interpretación de las pruebas diagnósticas frente a SARS-CoV-2. 24 de abril de 2020. Versión 2 [Internet]. SEIMC; 2020. [Consultado 10 enero 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/INTERPRETACION_DE_LAS_PRUEBAS.pdf

b) Rentabilidad diagnóstica

La sensibilidad y la especificidad se relacionan con las características de la prueba y, fundamentalmente, de la fase de la infección. Cada prueba tiene un período ventana de diagnóstico en el que la rentabilidad es máxima²⁶. Fuera de este, la sensibilidad puede cambiar y los resultados pueden ser erróneos.

- Las pruebas de detección de material vírico son más rentables para diagnosticar la infección en la fase aguda, en las primeras 2 semanas de la infección.
- Las pruebas serológicas son más útiles a partir de la segunda semana de inicio de los síntomas. No son adecuadas para detectar la infección aguda, pero sí lo son para el diagnóstico de la infección pasada o en el período de convalecencia.

Además de la sensibilidad de la propia prueba, la utilidad para el diagnóstico depende de la probabilidad de estar infectado antes de realizarla (probabilidad preprueba), que a su vez se relaciona con la prevalencia de la COVID-19²⁷.

Por eso debe elegirse la mejor prueba para el mejor momento y circunstancias, y los resultados deben interpretarse con cautela²⁷:

- En una situación de alta prevalencia de COVID-19, un resultado negativo debe comprobarse repitiendo la prueba.
- En una situación de baja prevalencia, los resultados positivos deben ser interpretados con cautela y deben comprobarse con una nueva prueba.

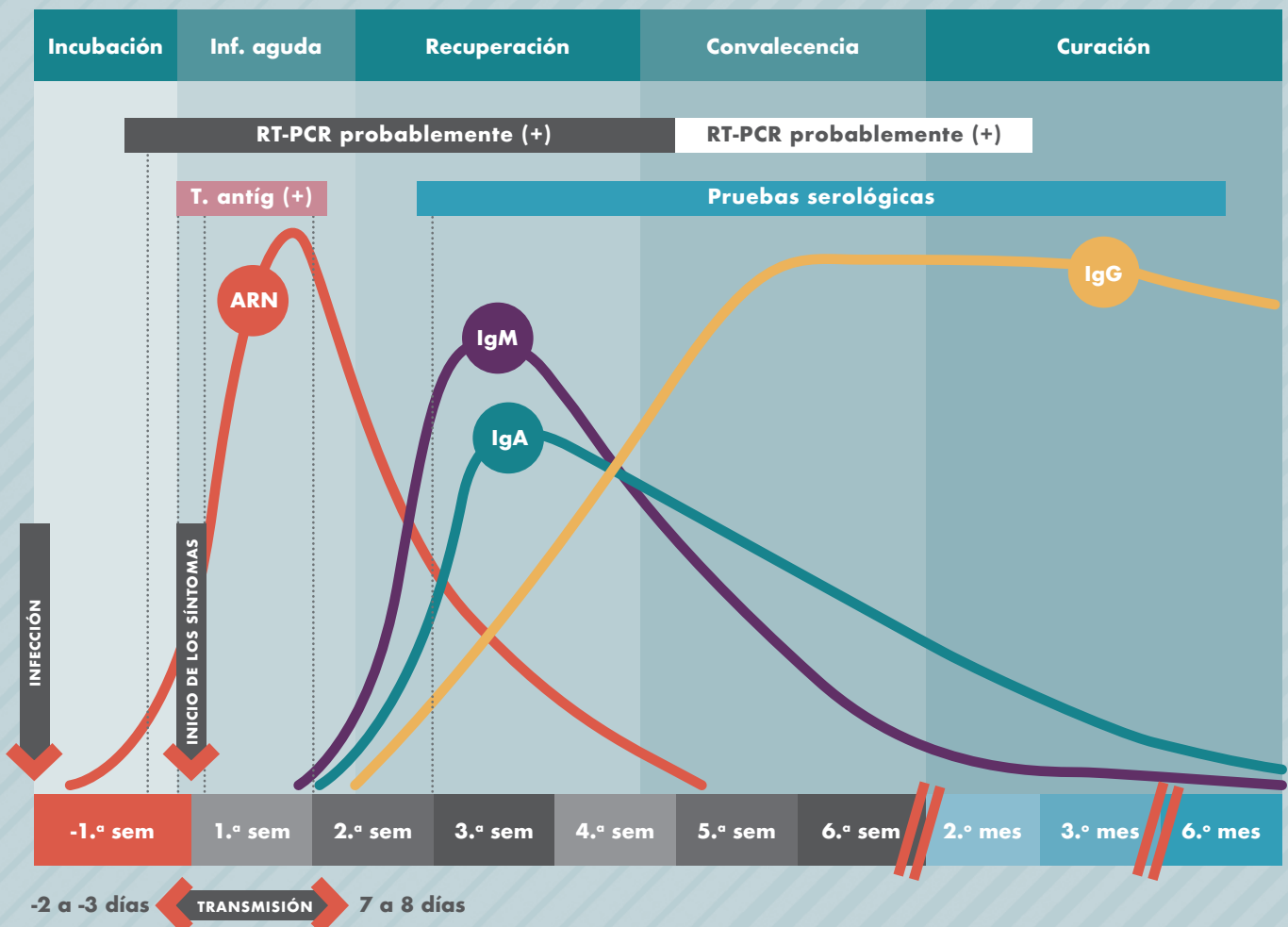
c) Pruebas para realizar en el lugar de la toma (POCT)

Tienen como ventaja la rapidez del diagnóstico y la simplicidad de uso y coste. La desventaja principal es una menor sensibilidad con respecto a las pruebas de laboratorio.

Se pueden utilizar varios tipos de tecnologías: amplificación de ácido nucleico (moleculares), y las pruebas de antígenos y serológicas. Se emplean para diagnosticar COVID-19 en varios entornos sociosanitarios²⁸.

Todas requieren validaciones independientes internas y específicas del entorno clínico donde se van a utilizar, antes de su implementación.

Están previstas para complementar las pruebas de laboratorio en comunidades y poblaciones que no pueden acceder fácilmente a las pruebas de laboratorio o necesitan abordar rápidamente brotes emergentes del SARS-CoV-2²⁸.



Test antigénicos rápidos

Las pruebas deben presentar al menos un 80% de sensibilidad y un 97% de especificidad para su empleo en la clínica, tal y como indican la OMS y los ECDC^{28,29}.

Funcionan mejor en casos con alta carga viral, en presintomáticos y sintomáticos tempranos, hasta 5 días después del inicio de los síntomas²⁸.

También podrían usarse para descartar infección asintomática en los contactos estrechos de un caso confirmado, de 3 a 7 días después de la exposición, sobre todo en entornos donde se espera una alta probabilidad de un resultado positivo, como en el caso de los contactos convivientes o en brotes, y donde la rapidez del tiempo de respuesta ayuda al rápido manejo de los contactos^{28,29}.

Test rápidos de anticuerpos

Existen numerosas pruebas que detectan la presencia de anticuerpos totales (Ab), IgM o IgG, con diferentes niveles de sensibilidad en función de la técnica, gravedad de la infección, edad, momento en que se realiza la prueba y la proteína viral objetivo. Los estudios muestran que varios ensayos comerciales que miden la Ig total o la IgG han dado resultados adecuados¹⁴.

En general, los resultados de las pruebas de anticuerpos no deben utilizarse como única base para diagnosticar o excluir infecciones por SARS-CoV-2 o para informar el estado de la infección^{14,28}.

Las pruebas serológicas debidamente validadas, cuando se utilizan ampliamente como parte de los estudios de seroprevalencia, pueden ser útiles para comprender cuántas personas han sido infectadas y cuánto ha progresado la pandemia. También pueden ser útiles para examinar los patrones demográficos y geográficos, para determinar las comunidades que pueden haber tenido más casos²⁹.

d) Uso clínico de pruebas diagnósticas frente al SARS-CoV-2³⁰

PRUEBAS	DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN AGUDA		INFECCIÓN TARDÍA	RASTREO DE CONTACTOS	ESTUDIOS DE CRIBADO	VIGILANCIA Y ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS
	SINTOMÁTICO	ASINTOMÁTICO				
Totales (Ab)	√	√		√	√	
Detección de antígeno	√	¿√? (a)		¿√?	¿√?	
Detección serológica de IgM/IgG de laboratorio o POCT	(b)	(b)	√ (c)			√

(a) La sensibilidad no está suficientemente estudiada. Podría ser alta en asintomáticos con carga viral alta.

(b) Actualmente no recomiendan ELISA, CLIA u otras técnicas de inmunoensayo de alto rendimiento, por sí solas, para el diagnóstico en la fase aguda de la enfermedad COVID-19.

(c) Siempre en combinación con resultados de pruebas virales.

5.4 combinación de pruebas

La OMS recomienda que las pruebas serológicas se utilicen solo como medio de diagnóstico para identificar casos agudos en la atención clínica o con fines de localización de contactos^{14,31}. Las pruebas serológicas, en combinación con los métodos de diagnóstico virológico, podrían mejorar el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 en poblaciones asintomáticas o con síntomas de sospecha y resultados negativos en las pruebas virológicas.

SITUACIÓN CLÍNICA		PCR	AgT	IgM	IgG	ACTUACIONES
Período presintomático		+	-/+	-	-	Aislamiento preventivo. Búsqueda de contactos desde 2 días antes del diagnóstico
Infección activa	Inicial (1-7 días)	+	+	-/+	-	Aislamiento preventivo. Búsqueda de contactos desde 2 días antes del diagnóstico
	Temprana (7-14 días)	+	-	+	-/+	
	Temprana, falso [-] PCR	-	+	+	-/+	
	Convalecencia (>14 días)	-/+	-	++	++	No aislamiento ni búsqueda de contactos
	Tardía (>1 mes)	-/+	-	-/+	++	
Infección pasada (>2 meses)		-	-	-/+	++	
Sintomáticos: síntomas actuales o pasados, compatibles de infección por COVID-19, con fecha de inicio en los últimos 14 días						

Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19. Versión 18 diciembre 2020 [Internet]. Ministerio de Sanidad; 2020. [Consultado 10 de enero de 2020]. Disponible en: https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf Interpretación de las pruebas diagnósticas frente a SARS-CoV-2. 24 de abril de 2020. Versión 2 [Internet]. SEIMC; 2020. [Consultado 10 enero 2021]. Disponible en: https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/INTERPRETACION_DE_LAS_PRUEBAS.pdf

6. Implicaciones de los resultados de las pruebas diagnósticas frente al SARS-CoV-2 para la clínica

- Un resultado positivo de las pruebas virales (RT-PCR, test antigénico rápido) en una persona sintomática implica infección aguda por SARS-CoV-2.
- Un resultado negativo de las pruebas virales no descarta la infección si la sospecha clínico-epidemiológica es alta, y obliga a repetir la prueba.
- Un resultado positivo de la RT-PCR es indicativo de infección activa en una persona sin síntomas, pero con antecedente reciente (2 semanas previas) de un contacto epidemiológico con un caso confirmado de COVID-19.
- Los resultados positivos de la RT-PCR pueden prolongarse varias semanas sin que suponga un riesgo clínico ni epidemiológico (virus sin capacidad infectiva).
- La sensibilidad de las pruebas rápidas de antígenos y de anticuerpos es generalmente menor que la de la RT-PCR y las pruebas serológicas de inmunoensayo de alto rendimiento.
- Un resultado positivo de las pruebas de anticuerpos indica exposición pasada y, por lo tanto, no es un indicador de una infección activa por el SARS-CoV-2.
- La capacidad de las pruebas de anticuerpos para detectar la infección por SARS-CoV-2 aumenta con el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas. La sensibilidad es muy baja en la primera semana, moderada en la segunda, y buena entre la tercera y la quinta.
- Un resultado positivo de la prueba de anticuerpos no indica necesariamente protección frente a una nueva infección por SARS-CoV-2 porque pueden ser anticuerpos no neutralizantes o una reacción cruzada a otros coronavirus.
- Un resultado negativo de la prueba de anticuerpos no descarta infección por SARS-CoV-2, particularmente para aquellas personas que han estado expuestas al virus y todavía se encuentran dentro del período de incubación estimado.
- Las pruebas de anticuerpos, en combinación con las de detección viral, podrían mejorar el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 en poblaciones asintomáticas o sintomáticas con pruebas virales negativas.
- Con independencia del resultado positivo o negativo de una prueba de detección de COVID-19, ya sea viral o de anticuerpos, se deben mantener las medidas de protección, higiene y distancia social.

Bibliografía

1. Liu Z, Xiao X, Wei X, Li J, Yang J, Tan H, et al. Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *J Med Virol*. 2020;92(6):595-601. doi:10.1002/jmv.25726
2. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol*. 2020 Jul;16(7):e9610. doi: 10.15252/msb.20209610.
3. Información científica-técnica. Enfermedad por coronavirus, COVID-19. Actualización: 12 de noviembre de 2020. [Internet]. Ministerio de Sanidad. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias; 2020. [Consultado el 10 enero 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Aerosoles.pdf
4. Evaluación del riesgo de la transmisión de SARS-CoV-2 mediante aerosoles. Medidas de prevención y recomendaciones. Actualización 18 de noviembre de 2020. [Internet]. Ministerio de Sanidad. Dirección General de Salud Pública; 2020. [Consultado: el 10 enero 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Aerosoles.pdf
5. Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. 2020 Apr 16;382(16):1564-7. doi: 10.1056/NEJMc2004973.
6. Harbourt DE, Haddow AD, Piper AE, Bloomfield H, Kearney BJ, Fetterer D, et al. Modeling the stability of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) on skin, currency, and clothing. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020 Nov 9;14(11):e0008831. doi: 10.1371/journal.pntd.0008831.
7. Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, Hui KPY, Yen HL, Chan MCW, et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *Lancet Microbe*. 2020 May;1(1):e10. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30003-3.
8. Informe n.º 33. Análisis de los casos de COVID-19 notificados a la RENAVE hasta el 10 de mayo en España a 29 de mayo de 2020. Equipo COVID-19. RENAVE. CNE. CNM (ISCIII). [Consultado: el 10 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/Informes%20COVID-19/Informe%20n%c2%ba%2033.%20An%c3%a1lisis%20de%20los%20casos%20de%20COVID-19%20hasta%20el%2010%20de%20mayo%20en%20Espa%c3%ba%20a%2029%20de%20mayo%20de%202020.pdf>
9. Mehta NS, Mytton OT, Mullins EWS, Fowler TA, Falconer CL, Murphy OB, et al. SARS-CoV-2 (COVID-19): What Do We Know About Children? A Systematic Review. *Clin Infect Dis*. 2020 Dec 3;71(9):2469-79. doi: 10.1093/cid/ciaa556.
10. Greenhalgh T, Knight M, A'Court C, Buxton M, L. Management of post-acute covid-19 in primary care. *BMJ*. 2020 Aug 11;370:m3026. doi: 10.1136/bmj.m3026.
11. El COVID-19 y su salud [Página web]. CDC; 2020 [Actualizado: 30 de diciembre de 2020; Consultado: el 10 de enero de 2021]. Disponible en: <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/people-with-medical-conditions.html>
12. Van der Heide V. Neutralizing antibody response in mild COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020 Jun;20(6):352. doi:10.1038/s41577-020-0325-2.
13. Muecksch F, Wise H, Batchelor B, Squires M, Semple E, Richardson C, et al. Longitudinal analysis of serology and neutralizing antibody levels in COVID19 convalescents. *J Infect Dis*. 2020 Nov 3;:jaa659. doi: 10.1093/infdis/jiaa659.
14. WHO. Pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2 Orientaciones provisionales. Actualización: 11 de septiembre de 2020 [Internet]. WHO; 2020. [Consultado: 10 de enero de 2020]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/335830/WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.6-spa.pdf>
15. Lou B, Li TD, Zheng SF, Su YY, Li ZY, Liu W, et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection after exposure and post-symptom onset. *Eur Respir J*. 2020 Aug 27;56(2):2000763. doi: 10.1183/13993003.00763-2020.

16. Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B, Zhang J, et al. Antibody Detection and Dynamic Characteristics in Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020 Nov 5;71(8):1930-1934. doi: 10.1093/cid/ciaa461.
17. Galipeau Y, Greig M, Liu G, Driedger M, Langlois MA. Humoral Responses and Serological Assays in SARS-CoV-2 Infections. *Front Immunol*. 2020 Dec 18;11:610688. doi: 10.3389/fimmu.2020.610688.
18. Evidence summary of immunity response following infection with COVID-19 [Internet]. Health Information and Quality Authority (HIQA). [Consultado: el 10 de enero de 2021]. Disponible en: https://www.hiqa.ie/sites/default/files/2020-05/Evidence-Summary_RQ9-Immunity_0.pdf
19. Lu L, Zhang H, Zhan M, Jiang J, Yin H, Dauphars DJ, et al. Antibody response and therapy in COVID-19 patients: what can be learned for vaccine development? *Sci China Life Sci*. 2020 Dec;63(12):1833-1849. doi: 10.1007/s11427-020-1859-y.
20. Lumley SF, O'Donnell D, Stoesser NE, Matthews PC, Howarth A, Hatch SB, et al.; Oxford University Hospitals Staff Testing Group. Antibody Status and Incidence of SARS-CoV-2 Infection in Health Care Workers. *N Engl J Med*. 2020 Dec 23;NEJMoa2034545. doi: 10.1056/NEJMoa2034545.
21. Lumley SF, Wei J, O'Donnell D, Stoesser NE, Matthews PC, Howarth A, et al.; Oxford University Hospitals Staff Testing Group. The duration, dynamics and determinants of SARS-CoV-2 antibody responses in individual healthcare workers. *Clin Infect Dis*. 2021 Jan 6;ciab004. doi: 10.1093/cid/ciab004.
22. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021 Jan 6;eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063.
23. Nainu F, Abidin RS, Bahar MA, Frediansyah A, Emran TB, Rabaan AA, et al. SARS-CoV-2 reinfection and implications for vaccine development. *Hum Vaccin Immunother*. 2020 Dec 1;16(12):3061-3073. doi: 10.1080/21645515.2020.1830683.
24. SeyedAlinaghi S, Oliaei S, Kianzad S, Afsahi AM, MohsseniPour M, Barzegary A, et al. Reinfection risk of novel coronavirus (COVID-19): A systematic review of current evidence. *World J Virol*. 2020 Dec 15;9(5):79-90. doi: 10.5501/wjv.v9.i5.79.
25. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19. Centers for Disease Control and Prevention. Updated Jan 6, 2021. [Consultado: 10 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
26. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020 Jun 9;323(22):2249-51. doi: 10.1001/jama.2020.8259.
27. Woloshin S, Patel N, Kesselheim AS. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection - Challenges and Implications. *N Engl J Med*. 2020 Aug 6;383(6):e38. doi:10.1056/NEJMp2015897.
28. Guidance for SARS-CoV-2 Point-of-Care Testing. [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. Updated Dec, 30, 2020. [Consultado: 10 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/point-of-care-testing.html>
29. WHO. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance 11 September 2020. [Internet]. WHO; 2020. [Consultado: 10 de enero de 2020]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1302653/retrieve>
30. Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19. Versión 18 diciembre 2020 [Internet]. Ministerio de Sanidad; 2020. [Consultado: 10 de enero de 2020]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf
31. Interpretación de las pruebas diagnósticas frente a SARS-CoV-2. 24 de abril de 2020. versión 2 (Internet). SEIMC; 2020. [Consultado: 10 de enero de 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/INTERPRETACION_DE_LAS_PRUEBAS.pdf

