






Bioseguridad en laboratorios de diagnóstico molecular de SARS-CoV-2 (COVID-19) mediante RT-qPCR

Biosafety in molecular diagnostic laboratories for SARS-CoV-2 (COVID-19) using RT-qPCR

Biossegurança em laboratórios de diagnóstico molecular para SARS-CoV-2 (COVID-19) usando RT-qPCR

Rosa I. Hernández-Rangel¹ , *Juan-Carlos Navarro^{2,3,5} , Yurianni E. Arias⁴ , José R. Ramírez-Iglesias² , Leidi Herrera⁵ , Martha V. Fernández-Baca¹ 

¹ Instituto de Medicina Tropical Alexander Von Humboldt, Sede Cusco. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Cusco-Perú. Correo: rosahernandez08@gmail.com

² Centro de Biodiversidad y Enfermedades Emergentes, Fac Ciencias Naturales y Ambientales. Universidad Internacional SEK. Quito-Ecuador. Correo: *juancarlos.navarro@uisek.edu.ec, jose.ramirez@uisek.edu.ec

³ Latin American Network of Coronavirus Disease 2019-COVID-19 Research (LANCOVID-19). Pereira, Risaralda-Colombia.

⁴ Laboratorio de Aislamiento Viral. Instituto Nacional de Higiene. Caracas-Venezuela. Correo: yurianniarias@gmail.com

⁵ Facultad de Ciencias. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. Caracas-Venezuela. Correo: leidi.herrera@ciens.ucv.ve

Fecha de recepción: 1 de junio de 2020.
Fecha de aceptación: 22 de junio de 2020.

RESUMEN

La pandemia del síndrome respiratorio agudo conocido como COVID-19 y causada por el virus SARS-CoV-2, ha obligado a diversos laboratorios alrededor del mundo a rediseñar y reforzar sus programas de bioseguridad con la finalidad de facilitar el diagnóstico de la enfermedad y colaborar con datos epidemiológicos para la toma de decisiones asociadas a mitigación y control. Una combinación de buenas prácticas de laboratorio y procedimientos claramente definidos, apoyados en la adecuación de la infraestructura, son necesarios para proteger al personal de laboratorio y asegurar la reproducibilidad de los resultados generados. En esta revisión se

muestran los lineamientos de bioseguridad fundamentales a implementar en los laboratorios de diagnóstico de la COVID-19, basados en RT-qPCR. El establecimiento del nivel de seguridad biológica a adoptar, así como de los procedimientos operativos estándar, dependerán de la evaluación de riesgo derivada de las actividades intrínsecas del laboratorio. Hasta la fecha, la OMS ha recomendado un nivel 2 de seguridad biológica NBS-2 (BSL-2), con medidas intensificadas de nivel 3 NBS-3 (BSL-3), para actividades de diagnóstico, con prácticas y equipos de protección personal que minimicen la generación de aerosoles y reduzcan la probabilidad de infecciones adquiridas en laboratorio. De igual forma, se ha hecho énfasis en un flujo de trabajo que tome en cuenta el transporte de la muestra bajo reglamentos internacionales y procedimientos para la inactivación del virus, compatibles con la prueba diagnóstica o con los protocolos para la descontaminación de superficies. A pesar del reto que conlleva la adecuación de programas de mitigación ante un patógeno relativamente desconocido como el SARS-CoV-2, es importante destacar que la cultura de bioseguridad permite reducir los riesgos del personal y del medio ambiente y asegurar la calidad de los resultados generados, que permitan contribuir significativamente a lograr el control de la enfermedad.

Palabras claves. COVID-19, enfermedades emergentes, Laboratorio de bioseguridad, SARS-CoV-2, riesgo biológico.

ABSTRACT

The pandemic of the acute respiratory syndrome known as COVID-19 and caused by the SARS-CoV-2 virus, has forced various laboratories around the world to redesign and strengthen their biosafety programs in order to facilitate the diagnosis of the disease and collaborate with epidemiological data for decision-making associated with mitigation and control. A combination of good laboratory practices and clearly defined procedures, supported by the adequacy of the infrastructure, are necessary to protect laboratory personnel and ensure the reproducibility of the results generated. This review shows the fundamental biosafety guidelines to be implemented in the COVID-19 diagnostic laboratories, based on RT-qPCR. The establishment of the level of biological safety to be adopted, as well as the standard operating procedures, will depend on the risk assessment derived from the intrinsic activities of the laboratory. To date, the WHO has recommended a level 2 biological safety BSL2, with intensified level 3 measures BSL3, for diagnostic activities, with practices and personal protective equipment that minimize the generation of aerosols and reduce the probability of laboratory-acquired infections. Likewise, emphasis has been placed on a workflow that takes into account the transport of the sample under international regulations and procedures for the inactivation of the virus, compatible with the diagnostic test or with protocols for surface decontamination. Despite the challenge of adapting mitigation programs against a relatively unknown pathogen such as SARS-CoV-2, it is important to highlight that the biosafety culture reduces the risks of personnel and the environment and ensures the quality of the results. generated, which make it possible to contribute significantly to achieving disease control.

Keywords. BSL, COVID-19, emerging diseases, SARS-CoV-2, Biosafety, risk biology.

RESUMO

A pandemia da síndrome respiratória aguda conhecida como COVID-19 e causada pelo vírus SARS-CoV-2, forçou vários laboratórios ao redor do mundo a redesenhar e fortalecer seus programas de biossegurança, a fim de facilitar o diagnóstico da doença e colaborar com a epidemiologia. dados para tomada de decisão associados à mitigação e controle. É necessária uma combinação de boas práticas de laboratório e procedimentos claramente definidos, apoiados pela adequação da infraestrutura, para proteger o pessoal do laboratório e garantir a reprodutibilidade dos resultados gerados. Esta revisão mostra as diretrizes fundamentais de biossegurança a serem implementadas nos laboratórios de diagnóstico COVID-19, com base no RT-qPCR. O estabelecimento do nível de segurança biológica a ser adotado, bem como dos

procedimientos operacionales padrão, dependerá da avaliação de risco derivada das atividades intrínsecas do laboratório. Até o momento, a OMS recomendou uma BSL2 de segurança biológica de nível 2, com medidas intensificadas de BSL3 de nível 3, para atividades de diagnóstico, com práticas e equipamentos de proteção individual que minimizem a geração de aerossóis e reduzam a probabilidade de infecções adquiridas em laboratório. Da mesma forma, a ênfase foi colocada em um fluxo de trabalho que leva em consideração o transporte da amostra de acordo com os regulamentos e procedimentos internacionais para a inativação do vírus, compatível com o teste de diagnóstico ou com os protocolos de descontaminação da superfície. Apesar do desafio de adaptar os programas de mitigação a um patógeno relativamente desconhecido, como o SARS-CoV-2, é importante destacar que a cultura de biossegurança reduz os riscos do pessoal e do meio ambiente e garante a qualidade dos resultados. gerados, o que possibilita contribuir significativamente para o controle da doença.

Palavras chaves. BSL, COVID-19, doenças emergentes, SARS-CoV-2, Biossegurança, biologia de risco.

INTRODUCCIÓN

En noviembre del 2019, se hizo pública la presencia de una nueva variante de Coronavirus, de origen zoonótico con alta capacidad infectiva y con gran afectación a la población humana de la gran ciudad comercial de Wuhan, República Popular de China, agente infeccioso que fue inicialmente llamado novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) [1] y subsecuentemente denominado como SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome by Coronavirus-2*) por el Comité Internacional de Taxonomía de virus [2].

Este virus causa la enfermedad infecciosa respiratoria severa aguda, por coronavirus del 2019 (COVID-2019, del inglés Coronavirus Infectious disease-2019).

La COVID-19 se ha dispersado por más de 203 países de varios continentes tales como Europa, América, África, sureste asiático y el Pacífico Occidental, siendo decretada como una infección pandémica el 11 de marzo de 2020.

La familia *Coronaviridae*, se caracteriza por incluir a virus envueltos, cuyo genoma está compuesto por un ARN de cadena sencilla con polaridad positiva, no segmentado, de longitud entre 27-32 Kb, de origen zoonótico con alta capacidad de infectar a humanos y multiplicarse en forma exponencial en ellos [3-4].

Los virus del género *Betacoronavirus* como el SARS y el MERS, y el novel SARS-CoV-2, son responsables de las zoonosis que, en los humanos, causan enfermedades que pueden ser graves o incluso mortales [5].

Después de la emergencia del coronavirus del síndrome respiratorio agudo altamente patogénico (SARS) en los años 2002 y 2003 y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS) en el año 2012, se ha evidenciado que los coronavirus pueden saltar (*spillover*) entre diferentes especies y grupos de vertebrados a través de hospedadores intermediarios como conectores en corredores biológicos, causando infecciones altamente patogénicas en los últimos eslabones de la cadena epidemiológica, como son los humanos [4,6-7].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado al COVID-19 como una emergencia de salud pública internacional y posteriormente como una pandemia a causa de su dispersión mundial [8].

A consecuencia de que el SARS-CoV-2 es un agente infeccioso novel, con una pandemia en pleno desarrollo, aún hay mucho por conocer acerca del hospedador de origen evolutivo más cercano (hasta la fecha un virus en murciélago con el 98% de

identidad), dosis infecciosas, patogenicidad, epidemiología, rutas de transmisión, variantes en la sintomatología, tratamiento profiláctico, vacunas y antivirales potenciales, entre otros. Por estas razones, la investigación actual se basa en un enfoque de precaución similar al adoptado para el SARS y al MERS [9].

La OMS [10] define a los agentes infecciosos del Grupo de Riesgo 3, como: *aquellos patógenos que usualmente causan una enfermedad severa en humanos y otros animales, y que representan una seria amenaza para las personas directamente expuestas*, además de un alto riesgo de dispersión a la comunidad, con alguna disponibilidad de profilaxis o tratamiento. Se esperaría que este novel Coronavirus se ubique dentro de este grupo de riesgo, aun cuando ello requiera continua revisión, por las brechas existentes en su conocimiento.

Con base en los datos epidemiológicos disponibles de SARS-CoV-2, y la evaluación de riesgo ejecutada por la OMS, el Instituto Federal de Seguridad y Salud Ocupacional y el Comité de Agentes Biológicos (ABAS-Alemania) ha ubicado al SARS-CoV-2 provisionalmente, dentro del grupo de riesgo 3, según la Ordenanza sobre agentes biológicos del 19-02-2020, incluso se ha considerado con los datos de referencias registrados del SARS, uno de los miembros de la familia *Coronaviridae* evolutivamente más cercano [11]. Probablemente, en el transcurso de la pandemia, se generará mayor información que conduzca a la reclasificación de este novel coronavirus, mientras es necesario extremar las precauciones en su manejo y evitar exposiciones en los ámbitos del trabajo de laboratorio.

Hasta la fecha, junio 2020, no existe un tratamiento específico o vacuna contra el SARS-CoV-2, sin embargo, se están desarrollando candidatos a vacunas y moléculas terapéuticas en varios institutos de investigación de todo el mundo [5].

Una de las medidas que ha recomendado la OMS es la detección oportuna del virus SARS-CoV-2 en muestras de pacientes sospechosos o probables, información utilizada para tomar acciones de tipo epidemiológico tales como, el consecuente aislamiento físico de todo paciente confirmado, además de practicar lo que se ha denominado el aislamiento físico de todos sus relacionados, allegados o personas que hayan entrado en contacto siguiendo la cadena epidemiológica potencial, así como el tratamiento profiláctico y de soporte oportuno.

El objetivo del presente artículo es mostrar las exigencias de bioseguridad y establecer medidas de mitigación en los laboratorios de diagnóstico de la COVID-19 que usan la qPCR.

DETECCIÓN DEL VIRUS SARS-COV-2 POR LA TÉCNICA PCR-TIEMPO REAL

En todo laboratorio que realiza actividades con agentes infecciosos y/o toxinas existe un potencial de ocurrencia de incidentes y/o accidentes de naturaleza biológica por la exposición a los mismos, a través de su liberación accidental. Estas exposiciones pueden afectar al personal directamente involucrado con las actividades o aquellos próximos al evento, convirtiéndose en una amenaza en salud pública si ocurre la transmisión hacia la comunidad.

El novel coronavirus causante del síndrome respiratorio agudo severo, SARS-CoV-2, es un agente infeccioso que, por sus características de transmisibilidad, patogenicidad y grado de identidad con el coronavirus SARS, debe ser detectado por las técnicas que garanticen una mínima exposición. Es por ello que la OMS sugiere la implementación de la PCR cuantitativa en Tiempo Real con transcriptasa inversa (RT-qPCR) para su detección oportuna y confiable, y un Nivel de Seguridad Biológica-2 (NBS-2, BSL-2 en

inglés) con fortalecimiento en prácticas del Nivel de Seguridad Biológica 3 (NBS-3, BSL-3 en inglés) para lograr su contención, minimizar la exposición tanto del personal de salud que realiza las pruebas como del medio ambiente y evitar la ocurrencia de infecciones adquiridas en el laboratorio. En aquellos casos que se pretenda realizar procedimientos donde la exposición sea mayor por la generación de gotas y/o aerosoles como cultivos celulares y procesos que involucren la creación de vacunas, se debe reforzar el NBS-3 [10,12-15].

A nivel global, una de las características asociadas a la gestión de calidad establecido en los laboratorios orientados a la investigación y servicios en diferentes campos es la implementación de buenas prácticas de laboratorio (BPL), las cuales están dirigidas a mejorar los procesos de evaluación de riesgos, promover la sistematización de la documentación del laboratorio y asegurar la reproducibilidad de resultados [16]. En el caso del diagnóstico molecular, se busca la aplicación de medidas específicas destinadas a emplear la mayor cantidad de marcadores moleculares que aseguren el diagnóstico correcto, así como la adopción de capacitaciones para la validación de nuevas pruebas y estandarización de protocolos para generar productos compatibles con tecnologías como la secuenciación de nueva generación. Adicionalmente las BPL, en el ámbito del diagnóstico molecular, incluyen la creación de redes con laboratorios de referencia con la finalidad de remitir muestras para ensayos adicionales, no comprometer los tiempos de respuesta y para la validación de procedimientos en general [17].

Considerando que el modo de transmisión del SARS-CoV en el laboratorio es consecuencia de la exposición de las mucosas orales, bucales u oculares; la inhalación y la ingestión, ya sea por gotículas, aerosoles infecciosos o contacto con superficies contaminadas, se podría extrapolar al nuevo coronavirus SARS-CoV-2 y con base en ello tomar las medidas adecuadas de contención.

Concretamente, la RT-qPCR es una técnica de amplificación del ácido nucleico del virus, al cual le antecede un proceso de extracción del ARN viral a partir de la muestra a estudiar. Este proceso debe realizarse dentro de una cabina de bioseguridad clase II (CSB-II), posteriormente el ARN extraído es utilizado para la amplificación de los genes blancos incluyendo el de la nucleocápside (N), corona (s), envoltura (E) y polimerasa ARN dependiente del ARN (RdRp) [4].

Las etapas más críticas en la realización de la técnica de RT-qPCR para la detección del SARS-CoV-2 se dan donde existe una probabilidad de exposición del personal del laboratorio, esencialmente en la recepción de las muestras sospechosas, probables y/o confirmadas de contener el virus, el desembalaje de los contenedores en donde se encuentra resguardada la muestra para fraccionarla, la toma de alícuotas para inactivarla con el buffer de lisis y el remanente para resguardarlo en ultra-congeladores. Con base en lo anterior, en las actividades previas a la inactivación se deberá tener precaución a manera de reducir o eliminar la exposición al virus.

Evaluación del Riesgo Biológico

La evaluación del riesgo es un proceso sistemático para obtener información relacionada con la probabilidad y consecuencias de exposición en el lugar de trabajo y determinar las medidas de contención y control apropiadas para reducir el riesgo a un nivel aceptable (Fig. 1) [14-15].

El riesgo constituye la combinación de la probabilidad del daño de una amenaza y la severidad de ese daño. Las consecuencias se refieren a la severidad de los resultados de una exposición, la cual podría incluir una infección asociada al laboratorio, portador

asintomático, contaminación ambiental y dispersión de la enfermedad a las comunidades cercanas [12].

La evaluación de riesgo constituye el eje de la práctica de la bioseguridad, en donde el juicio del experto, basado en la evaluación de riesgo, constituye un parámetro para determinar el nivel de seguridad biológica que debe asignarse.

Entre los factores a ser considerados en dicha evaluación están: grupo de riesgo del agente infeccioso, dosis infecciosa, patogenicidad, transmisibilidad, ruta natural de infección en el ambiente, concentración, volumen del material a ser manipulado, presencia de hospedadores susceptibles y/o reservorios, reportes de infecciones adquiridas en laboratorio, actividades planificadas en el laboratorio, longitud del tiempo de exposición al agente infeccioso, cualquier manipulación genética que podría generar cambios en su rango hospedador o alterar la sensibilidad del agente a ciertos tratamientos efectivos, disponibilidad local de profilaxis o tratamiento terapéutico y las competencias y experiencia del personal de laboratorio. Todo este análisis conduce a resultados que influyen en la toma de decisiones críticas [10,12,18-19].

Inicialmente, se debe considerar el grupo de riesgo en el cual está ubicado el patógeno en conjunto con otros factores, para establecer el nivel de bioseguridad más adecuado. Por ejemplo, la manipulación de un agente clasificado como grupo de riesgo 2, requiere la instalación, equipos, prácticas y procedimientos de NBS-2 (BSL-2), que garanticen condiciones seguras de trabajo. No obstante, si un experimento en particular (investigación más allá del diagnóstico) con el patógeno requiere la generación de alta concentración de aerosoles, entonces el NBS-3 (BSL-3) es el más apropiado, ya que garantiza una contención mayor de aerosoles en el lugar de trabajo.

En el caso del SARS-CoV-2, se recomienda adoptar medidas de contención de mayor seguridad y valorar el riesgo de exposición en función de la naturaleza de las actividades que se llevarán a cabo.

Sobre la base de esta evaluación de riesgo se seleccionan prácticas microbiológicas adecuadas, equipo de protección personal (EPP), procedimientos operativos estándar, equipos de seguridad y la conformación de la instalación del laboratorio, con la finalidad de cumplir con estándares de contención que prevengan las infecciones asociadas al laboratorio [15].

La evaluación de riesgo debe ser un proceso inmerso en el mejoramiento continuo [20], debe ser constantemente revisado y mejorado mediante la socialización a todos los actores de la gestión del laboratorio, con base en la información actualizada del agente infeccioso manipulado, o al presentarse cambios en los procedimientos del laboratorio y/o equipos, lo cual pueda generar ajustes en las medidas de contención.

Si un análisis de riesgo da indicios que el agente biológico manejado y/o las actividades a ser ejecutadas con el virus son asociadas con un riesgo más alto, el cual no es compatible con los requisitos básicos o estándar establecidos para ese nivel de seguridad biológica, se deben generar medidas de control intensificadas a ser aplicadas en ese laboratorio [15].

En el caso concreto de la detección de SARS-CoV-2 por RT-qPCR, la evaluación de riesgo debe aportar datos que evidencien la posibilidad de mitigar la generación de gotas o aerosoles, mediante la implementación del uso de una Cabina de Seguridad Biológica-2 (CSB-II) con la desinfección química de superficies y áreas de trabajo, a fin de inactivar partículas virales y proceder con el flujo de trabajo que se realiza para el diagnóstico del patógeno (Fig. 1) [15,18-21].

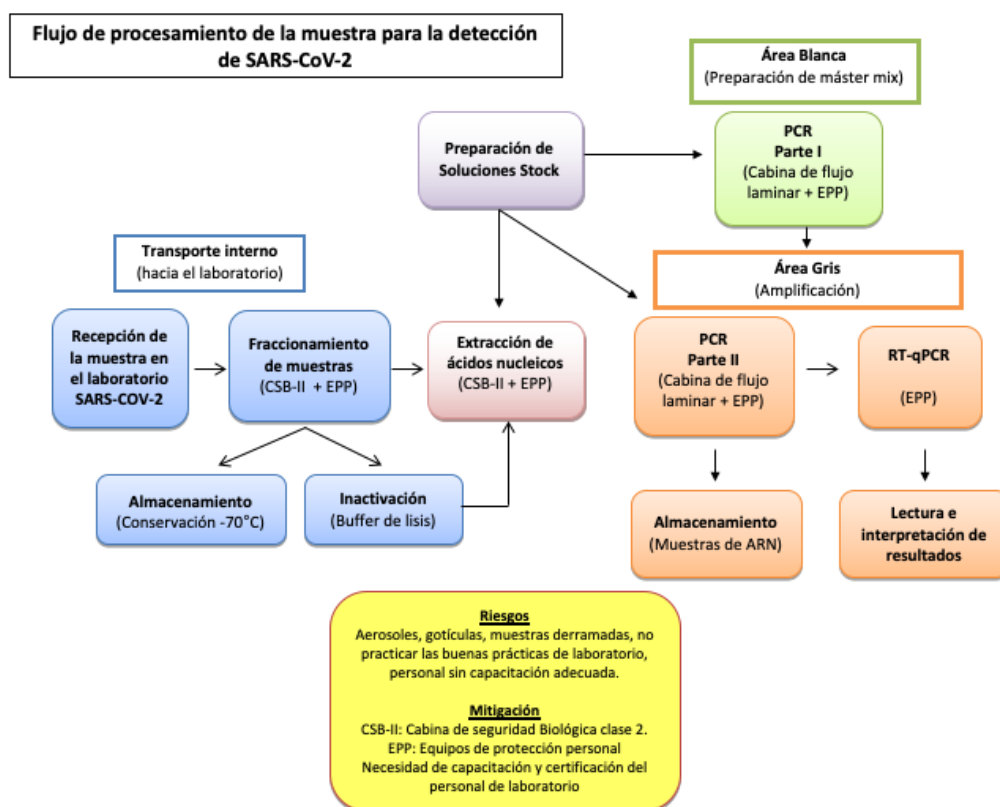


Figura 1. Flujo de trabajo, procesamiento de muestras para detección de SARS-CoV-2.

Varias organizaciones ofrecen diversas plantillas para la evaluación de riesgo, incluyendo enfoques *paso a paso* para identificar, analizar y determinar los niveles de riesgo asociados con una determinada amenaza biológica en el laboratorio, sin embargo, se recomienda utilizar la sugerida por la OMS, dirigida especialmente para las instalaciones de laboratorio, y cumplir con cinco procesos [15,17-18] (Fig. 2):

1. Obtención de información (identificación de la amenaza).
2. Evaluación de los riesgos.
3. Desarrollo y evaluación de una estrategia de control de riesgo.
4. Selección e implementación de las medidas de control de riesgo.
5. Revisión de los riesgos y las medidas de control y contención.



Figura 2. Marco de referencia de la Evaluación de riesgo. Fuente: Laboratory Biosafety Guidance, WHO, march 2020.

Requisitos de un Laboratorio NBS-2 (BSL-2)

Los criterios de riesgo primario usados para definir los 4 niveles ascendentes de contención, referidos como niveles de bioseguridad 1 al 4, son: infectividad del agente, transmisibilidad, severidad de la enfermedad y la naturaleza del trabajo a ser conducido.

Cada nivel de bioseguridad está fundamentado en un conjunto de propiedades y características que comprenden: el diseño del laboratorio y construcción con especificaciones adecuadas de elementos que eviten contaminaciones, distribución e instalaciones de áreas de contención, registro control, calibración y adecuación de equipos, prácticas y procedimientos operacionales requeridos para trabajar con agentes infecciosos [10,12].

Para la detección del SARS CoV-2 NBS-2, con aplicación de medidas intensificadas de NBS-3, se debe implementar el código de prácticas, que consiste en un listado de los procedimientos esenciales, en un manual del laboratorio y cuya aplicación está destinada a minimizar amenazas previamente identificadas en la evaluación de riesgo (Fig. 3).



Figura 3. Laboratorio de Bioseguridad Nivel 2. Fuente: Laboratory biosafety manual Third edition-World Health Organization, Geneva, 2004.

La OMS refuerza estos conceptos con los llamados requisitos básicos, los cuales constituyen una combinación de medidas de control de riesgo que son la base y parte integral de la bioseguridad del laboratorio. Estas medidas reflejan los estándares internacionales y las mejores prácticas en bioseguridad, para el trabajo con agentes biológicos, aún cuando el riesgo sea mínimo [15-18].

Estos requisitos son: buenas prácticas y procedimientos microbiológicos, competencia y capacitación del personal del laboratorio, diseño del laboratorio, recepción adecuada de la muestra y almacenamiento, descontaminación e higienización de envases, gestión de los residuos, uso de EPP, revisión, calibración y mantenimiento continuo de los equipos del laboratorio, plan de respuesta a emergencia e incidentes y manejo de lineamientos de salud ocupacional.

Como complemento a las medidas o requisitos básicos, se implementan medidas de control intensificadas, cuando el agente biológico se determina asociado a un riesgo más alto que no puede ser contenido con los requisitos básicos. Entre dichas medidas intensificadas están el control de acceso al laboratorio, separación física del área de trabajo, sistema de ventilación independiente y sin recirculación de aire [15-18].

Protocolo de bioseguridad en el manejo de las muestras a ser analizadas por RT-qPCR

Los aspectos de bioseguridad y reproducibilidad de resultados están directamente relacionados con los procesos del flujo de trabajo tanto fuera como dentro del laboratorio (Fig. 3). Para el caso del diagnóstico del COVID-19, el flujo de trabajo consta de la colección de la muestra del paciente, su transporte, la ejecución del diagnóstico y opcionalmente, la secuenciación del producto de amplificación [22], junto con procedimientos relacionados con la gestión de desechos. De forma concreta, las actividades de laboratorio deben contar con elementos clave como el establecimiento de 3 áreas claramente separadas para la preparación de reactivos, la preparación de la muestra y la zona de amplificación, incluyendo elementos de construcción como

sistemas de ventilación separados y el uso de una zona de presión negativa en el área de post amplificación [23].

Detallando paso a paso las diferentes actividades que se deben llevar a cabo para realizar el diagnóstico por RT-qPCR, tenemos las siguientes pautas que se deben considerar, para lograr un trabajo seguro:

- Para la toma de la muestra, almacenamiento, empaquetado y transporte hacia el laboratorio, se requiere un personal capacitado, que garantice que los procedimientos operativos estándar estén cónsonos con las normativas nacionales e internacionales. Dichas muestras deben ser manejadas como potencialmente infecciosas [24].

A consecuencia de que los coronavirus son causantes de infecciones en las vías respiratorias, la muestra destinada a la prueba diagnóstica debería incluir material clínico del tracto respiratorio superior e inferior, tales como aspirados nasofaríngeos, lavados nasales, hisopados nasofaríngeos y aspirados broncopulmonares, entre otros [4,25].

- El control de acceso al laboratorio deberá limitar la entrada a personas no involucradas con las actividades planificadas y destinar equipos de higienización a las áreas de trabajo y en turnos u horarios de acuerdo a la intensidad del trabajo requerido. De igual forma, se deberá capacitar adecuadamente al personal de laboratorio en la implementación de prácticas de distanciamiento, dentro del área de trabajo.
- Se deberá usar un EPP para laboratorios NBS-2, tal como batas/mandiles sin aberturas frontales o un overol de rutina de trabajo hecho con material antifuído, guantes de látex seguido de un segundo par de guantes de Nitrilo, gorro, mascarillas N95 EU FFP2 o equivalentes, gafas protectoras o careta protectora de rostro tipo visor. Adicionalmente, se debe hacer énfasis en prácticas que complementen el uso de los EPP como lavado de manos antes de la colocación y posterior al retiro de guantes, o en su defecto su higienización y procedimientos que minimicen la producción de aerosoles como uso de pipetas calibradas, puntas con filtro junto con su adecuado descarte en contenedores plásticos de seguridad biológica.
- La primera fuente probable de exposición del personal del laboratorio con el agente infeccioso lo constituye la recepción de la muestra. Es importante que el personal que reciba la muestra esté capacitado adecuadamente y en conocimiento del riesgo que implica su actividad en el flujo del procedimiento, a fin de adoptar precauciones necesarias de acuerdo a las buenas prácticas microbiológicas. De igual forma, el personal deberá cotejar la información en la etiqueta de la muestra con el registro físico de origen y procedencia que la acompaña. Es importante contemplar capacitaciones adicionales sobre la actuación ante incidentes como el manejo de un contenedor roto o con una fuga de muestra y protocolos de contención de derrames mediante el uso de desinfectantes, para controlar cualquier contaminación [12,15].
- Adicional a las BPL, el equipo de laboratorio es fundamental, como el uso de CSB-II certificadas por los estándares nacionales e internacionales NSF-49:2018 y EN 12469, las cuales minimizan la exposición a los aerosoles que puedan liberarse cuando se realiza la apertura de viales o tubos que contienen muestras potencialmente infecciosas. Estas cabinas están diseñadas para proteger al operador, al ambiente del laboratorio y al producto con el que se está trabajando, de la exposición de aerosoles infecciosos y salpicaduras que pueden generarse cuando se manipula el material [10,12,26].

Debe considerarse que usualmente las fallas de contención de la cabina de bioseguridad son del tipo operacional y no mecánica. Movimientos bruscos de los brazos, abrir y cerrar de una puerta cercana o simplemente pasar por detrás de la cabina pueden ocasionar perturbaciones en el balance del flujo laminar y permitir que salga aire de la cabina [19].

Con relación al personal de laboratorio, cobra importancia aspectos de gestión de la bioseguridad, por lo que se debe tomar en cuenta los siguientes puntos:

- Evaluación médica, registro del historial de enfermedades (medicina ocupacional) y el estatus de inmunización antes de formar parte del personal de trabajo [10,15].

Es de vital importancia la capacitación del personal, al considerar que el error humano y mal uso en las técnicas comprometen la protección de los trabajadores del laboratorio y la validez de los resultados. Estudios recientes relacionados a infecciones adquiridas en laboratorio, demuestran que muchas de ellas fueron debidas a factores humanos, tales como ausencia o inadecuada evaluación de riesgo, uso inadecuado del EPP, carencia de procedimientos operativos estándar y/o de capacitación adecuada a los miembros de los laboratorios [27]. El comportamiento del personal, sus conocimientos y actitud son los mejores predictores de la seguridad en el trabajo, independientemente de todas las barreras primarias y secundarias costosas que se implementen [19,27].

La capacitación general del personal del laboratorio debe incluir una introducción al diseño del laboratorio, los códigos de práctica, guías y normativas locales, manuales de seguridad y gestión de calidad, procedimientos de trabajo seguro, declaración del riesgo, evaluación de riesgo, requisitos legislativos y los procedimientos de respuesta a emergencia. Una vez cumplido con todos estos requisitos, el personal debe ser evaluado constantemente tanto a nivel de competencia como de actitud, garantizando una cultura de bioseguridad en el laboratorio y en consonancia con las normativas de calidad referentes al mejoramiento continuo [15,20].

- Una vez recibida la muestra, el primer paso a ejecutar dentro del procedimiento de diagnóstico de COVID-19, y que a su vez constituye una medida de bioseguridad para el personal del laboratorio, es la inactivación de las muestras biológicas. Para ello, se deben mezclar las muestras clínicas con el buffer de lisis indicado para el proceso de extracción de ARN, de acuerdo a los procedimientos recomendados por la casa comercial del kit usado. El Centro para el Control de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos ha confirmado la capacidad de inactivación viral del buffer lisis de kits para extracción de ARN pertenecientes a diferentes marcas comerciales [29]. A pesar de esto, se recomienda seguir las indicaciones y regulaciones de las autoridades sanitarias locales. Posterior a la inactivación viral, la superficie de los contenedores de las muestras debe ser desinfectadas y transportadas a una segunda locación, en la cual el resto del proceso de extracción de ARN y de detección del SARS-CoV-2 se llevará a cabo, adoptando procedimientos estándar de NBS-2 en CSB-II [29].
- Los procesos de descontaminación de superficies y equipos deben ser validados con base en estudios realizados con otros coronavirus. Se ha sugerido que el SARS-CoV-2 podría ser susceptible a desinfectantes con actividad probada contra los virus con envoltura, tales como hipoclorito de sodio (0.1-1%), etanol (62-72%) peróxido de hidrógeno (0.5%), compuestos de amonio cuaternario y compuestos fenólicos. La aplicación de estos desinfectantes debe estar dirigida al material de las superficies de trabajo y a los equipos, los cuales deben ser de

fácil descontaminación y resistentes a los productos utilizados. Características adicionales a tomar en cuenta para la desinfección del área de trabajo están relacionadas con el tiempo de contacto del desinfectante con las superficies a descontaminar, la dilución (concentración del ingrediente activo) y la fecha de expiración de la solución de trabajo preparada [15].

- En cuanto al transporte interno y externo de las muestras, los procedimientos deben estar acorde con la reglamentación nacional y/o internacional, resguardadas en recipientes resistentes, con capacidad de preservar la muestra en buenas condiciones de seguridad y calidad.

Las muestras biológicas sospechosas o confirmadas de contener el virus SARS-CoV-2 deben ser empaquetadas en doble empaque cuando el traslado sea interno, dentro de la misma instalación, el tubo primario debe colocarse en otro recipiente que proteja al primero. Para el transporte externo las muestras deben ser empaquetadas cumpliendo las normativas del triple empaque y transportarse como UN3373, Sustancia Biológica Categoría B [30].

El transporte adecuado de las muestras es importante tanto para la validez de los resultados en correspondencia con el Sistema de Gestión de calidad de todo laboratorio [19-20], como para la seguridad de todo el personal en consonancia con todas las normativas relacionadas a la protección del personal [31-33].

- En relación a la gestión de desechos, los procesos de identificación, clasificación y segregación de material potencialmente contaminado deben realizarse antes de su descontaminación o disposición final. Si la descontaminación no se realiza en el laboratorio los desechos contaminados deben ser empaquetados adecuadamente según las regulaciones de cada país que aplican a la gestión de desechos biológicos [10].
- Desarrollo de un plan de emergencia/contingencia. Es importante considerar que, aun cumpliendo con las medidas de control básicas o las intensificadas que aplican para el diagnóstico de COVID-19, los incidentes o accidentes tienen una probabilidad de ocurrir, por lo que se hace necesario desarrollar un plan de contingencia que provea procedimientos de operación estándar específicos para ser seguido en posibles escenarios de emergencia. Dicho plan debe incluir el reporte obligatorio de todo incidente/accidente, las personas responsables de evaluar el evento y el registro de incidentes y accidentes cónsono con la reglamentación nacional [10,15].

La evidencia de infecciones adquiridas en laboratorio con un agente muy cercano al SARS-CoV-2, como lo es el SARS-CoV, debe llamar la atención sobre la probabilidad de que pueda surgir una brecha de bioseguridad y causar un incidente o accidente en la manipulación del virus. Por ello, es fundamental el cumplimiento de las medidas de contención recomendadas, una vez realizada la evaluación de riesgo y así evitar las infecciones adquiridas en laboratorio y la diseminación del virus fuera del mismo [18,34].

Afectación del Personal de Salud con la pandemia COVID-19

A causa de que la COVID-19 está afectando a un gran número de trabajadores de la salud cuyas actividades y responsabilidades están estrechamente vinculadas a la atención de pacientes infectados con el virus SARS-CoV-2 y que de una u otra manera pueden involucrar a personal de los laboratorios, se hace necesario una alianza entre la Organización Mundial de la Salud y la Organización Internacional del Trabajo (OIT) en pro de la seguridad y salud de este grupo de trabajadores, para lograr lo que la OMS ha

llamado “Una sola salud” (One Health), enfoque para diseñar e implementar programas, políticas, legislación e investigación en la cual múltiples sectores se comunican y trabajan juntos para alcanzar mejores resultados en la salud pública.

Las diferentes normas locales e internacionales, procedimientos, reglamentos que apoyen la necesidad de garantizar que los patógenos en el laboratorio sean manejados responsablemente deben ser conocidas y adoptadas por todo el personal de laboratorio, y debe existir una alianza entre todas las organizaciones relacionadas a la bioseguridad, de manera de fortalecer una cultura de bioseguridad en bienestar del personal del laboratorio que manipula estos agentes infecciosos, así como a las personas del entorno y al ambiente.

Al respecto la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA), agencia del Departamento de Trabajo de los Estados Unidos, ha dividido las tareas laborales en cuatro niveles de exposición del riesgo: muy alto, alto, mediano y bajo, graficándolo en una pirámide de riesgo ocupacional que muestra estos 4 niveles, y designa en la cúspide de esta pirámide al riesgo de exposición muy alto, que comprende a aquellos trabajadores con alto potencial para exposición a fuentes sospechosas o conocidas de presentar el virus SARS-CoV-2 durante procedimientos específicos médicos, post-mortem o del laboratorio. Por lo que un laboratorio de diagnóstico por biología molecular del virus SARS-CoV-2 que recibe muestras sospechosas y/o probables de contener el SARS-CoV-2, y tienen que ser manipuladas para lograr el objetivo de detectar la presencia del virus en esas muestras está en la categoría de riesgo de exposición muy alto, aun cuando no se lleven a cabo procedimientos de cultivos del virus.

Considerando que a nivel de seguridad y salud ocupacional se utiliza un marco de jerarquía de controles, para seleccionar las formas de controlar las amenazas en el lugar de trabajo, la mejor forma de controlar la amenaza es removerla sistemáticamente del lugar de trabajo, pero en medio de esta pandemia no es posible, ya que las muestras deben ser recibidas en el laboratorio para poder confirmar la presencia o no del virus, en consecuencia se debe realizar la evaluación de riesgo para tomar las decisiones más pertinentes de mitigar el riesgo de bioseguridad que no se puede eliminar [32].

Dada la importancia que tiene la bioseguridad en el control o eliminación de la exposición de agentes biológicos patógenos a los trabajadores de la salud, que incluye el personal de laboratorio, la OMS la contempla en el Marco del Reglamento Internacional 2005, y en el compromiso asumido en la Agenda de Seguridad y Salud Global, como unas de las capacidades básicas exigidas por este reglamento a los países signatarios del mismo, a fin de poder alcanzar su propósito que consiste en prevenir la propagación internacional de enfermedades, proteger contra esa propagación, controlarla y darle una respuesta de salud pública proporcionada y restringida a los riesgos para la salud pública y evitando al mismo tiempo las interferencias innecesarias con el tráfico y el comercio internacionales [35-37].

CONCLUSIONES

La emergencia de un nuevo patógeno representa retos para el personal del laboratorio, de manera de poder poner en práctica una cultura de bioseguridad, en concordancia con el cumplimiento de los requisitos de calidad que generen un producto seguro y fiable y, a su vez, sea garante de la seguridad y salud de todo el personal involucrado en el proceso. Por ello es de suma importancia crear un balance entre la seguridad del personal del laboratorio y del ambiente y paralelamente garantizar la obtención de

resultados fiables y validados. En otras palabras, se debe cumplir con los requisitos que exige una gestión de aseguramiento de la calidad en los laboratorios.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Proyecto DII-UISEK P011617_2, “Eco-epidemiología *in silico* de Enfermedades Emergentes”, Dirección de Investigación Universidad Internacional SEK (JCN).

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran la no existencia de conflicto de interés alguno.

APORTE DEL ARTÍCULO EN LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Este artículo aporta a la difusión y conocimiento de las líneas de Bioseguridad y Biocontención que deben cumplir los laboratorios de diagnóstico que trabajan en COVID-19 en la detección de SARS-CoV-2, señalando el flujo de trabajo en áreas de contención y bioseguridad que cumplan con las normas internacionales de OMS y OPS, diferenciando niveles de laboratorio de diagnóstico e investigación en un virus de alta transmisibilidad como SARS-CoV-2, en pro de la seguridad biológica de trabajadores de la salud y biomedicina.

DECLARACIÓN DE CONTRIBUCIÓN DE CADA AUTOR

RIHR y JCNC conceptualización, escritura, revisión de la versión final, JRRI, en la escritura, revisión general en biología molecular, YEA, MVFV y LH en la escritura y revisión final.

REFERENCIAS

- [1] C.I. Paules, H.D. Marston, A.S. Fauci. Coronavirus Infections more than just the common cold. *JAMA*, vol. 323, pp. 707-8, 2020. DOI: [10.1001/jama.2020.0757](https://doi.org/10.1001/jama.2020.0757)
- [2] A.E. Gorbalenya. S.C. Baker, R.S. Baric, C. Drosten, A.A. Gulyaeva et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, vol. 5, pp. 536-44, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- [3] C. Huang, Y. Wang, X. Li, L. Ren, J. Zhao, Y. Hu, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan China. *The Lancet*, vol. 395, pp. 497-506, 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- [4] D.T. Mourya, G. Sapkal, P.D. Yadav, S. Belani, A. Shete, N. Gupta. Biorisk assessment for infrastructure and biosafety requirements for the laboratories providing coronavirus SARS-CoV-2/(COVID-19) diagnosis. *Indian Journal of Medical Research*, vol. 151, pp. 172-176, 2020. DOI: [10.4103/ijmr.IJMR_763_20](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_763_20)
- [5] Belgian Biosafety Server: Biological Safety guidelines for diagnosis and research for new coronavirus (SARS-CoV-2), 2020 Disponible en: <https://www.biosafety.be/>
- [6] A.S. Fauci, H.C. Lane, R.R. Redfield. Covid-19 - Navigating the Uncharted. *The New England Journal of Medicine*, vol. 382, pp. 1268-9, 2020. DOI: [10.1056/NEJMe2002387](https://doi.org/10.1056/NEJMe2002387)

- [7] Z. Song, Y. Xu, L. Bao, L. Zhang, P. Yu, Y. Qu, et al. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. *Viruses*, vol. 11, pp. 59, 2020. DOI: [10.3390/v11010059](https://doi.org/10.3390/v11010059)
- [8] World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report - 51. WHO. 2020 Disponible en: <http://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports> .
- [9] P.C. Iwen, K.L. Stiles, M.A. Pentella. Safety Considerations in the Laboratory Testing of Specimens Suspected or Known to Contain the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 20, pp. 1-4, 2020. DOI: [10.1093/ajcp/aqaa047](https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa047)
- [10] World Health Organization. Laboratory biosafety manual Third edition, Geneva, 2004. https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/
- [11] Federal Institute for Occupational Health and Safety (ABAS): Novel virus SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) classified by the ABAS in risk group 3 and recommendations for laboratory diagnostics. Disponible en: <https://www.baua.de/DE/Angebote/Aktuelles/Meldungen/2020/2020-02-19-Coronavirus.html>
- [12] U.S Departments of Health and Human Services; Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th edition. Washington;2007. <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>
- [13] D. Choucraallah, L. Sarmiento, S. Ettles, F. Tanguay, M. Heisz, et al. Surveillance of laboratory exposures to human pathogens and toxins: Canada 2018. *Canada Communicable Disease Report*, vol. 45, pp. 244-51, 2019. doi: [10.14745/ccdr.v45i09a04](https://doi.org/10.14745/ccdr.v45i09a04)
- [14] B.H. Oladeinde, R. Omoregie, I. Odiá, E.O. Osakue, O.S. Imade. Biorisk Assessment of Medical Diagnostic Laboratories in Nigeria. *Safety Health Work*, vol. 4 pp. 100-104, 2013. oi: [10.1016/j.shaw.2013.04.006](https://doi.org/10.1016/j.shaw.2013.04.006)
- [15] WHO. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19). Interim guidance marzo 2020. Disponible en: [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19))
- [16] G.B. Jena, S. Chavan. Implementation of Good Laboratory Practices (GLP) in Basic Scientific Research: Translating the Concept Beyond Regulatory Compliance. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 89, pp. 20-25, 2017. DOI: [10.1016/j.yrtph.2017.07.010](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.07.010)
- [17] L. Tembuysen, E.M.C. Dequeker. Endorsing Good Quality Assurance Practices in Molecular Pathology: Risks and Recommendations for Diagnostic Laboratories and External Quality Assessment Providers. *Virchows Archives*, vol. 468, pp. 31-41, 2016. DOI: [10.1007/s00428-015-1839-z](https://doi.org/10.1007/s00428-015-1839-z)

- [18] P. Herman, Y. Verlinden, D. Breyer, E. Van Cleemput, B. Brochier et al. Biosafety Risk Assessment of the Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus and Containment Measures for the Diagnostic and Research Laboratories. *Applied Biosafety*, vol. 9, pp. 128-142, 2004. <https://doi.org/10.1177/153567600400900303>
- [19] T.M.S. Barkham. Laboratory Safety Aspects of SARS at Biosafety Level 2. *ANNALS Academy of Medicine Singapore*, vol. 33, pp. 252-6, 2004. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15098644/>
- [20] ISO 15189:2012. Laboratorios Clínicos. Requisitos particulares para la Calidad y la Competencia. <https://www.acreditacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/02/CR-GA07-R00-Criterios-Acreditacion-Laboratorios-Clinicos.pdf>
- [21] Advisory Committee on Dangerous Pathogens (ACDP): Guidance, COVID-19: Safe handling and processing for samples in laboratories. 17 april 2020. Public Health England. <https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-guidance-for-clinical-diagnostic-laboratories/wuhan-novel-coronavirus-handling-and-processing-of-laboratory-specimens>
- [22] B. Udugama, P. Kadhiresan, H.N. Kozlowski, A. Malekjahani, M. Osborne et al. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano*, vol, 14, pp. 3822-3835, 2020. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02624>
- [23] P. Gupta. Why Is SARS-CoV-2 Testing Not Possible in Every Medical Laboratory? *Indian Journal of Pathology & Microbiology*, vol. 63, pp. 173-174, 2020. <http://www.ijponline.org/article.asp?issn=0377-4929;year=2020;volume=63;issue=2;spage=173;epage=174;aulast=Gupta>
- [24] World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: Interim guidance. WHO; 2020. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>
- [25] Y. Zhang, C. Chen, S. Zhu, C. Shu, D. Wang et al. Isolation of 2019-nCoV from a stool specimen of a laboratory-confirmed case of the coronavirus disease 2019 (COVID-19). *CCDC Weekly*, vol. 2, pp. 123-4, 2020. doi: [10.46234/ccdcw2020.033](https://doi.org/10.46234/ccdcw2020.033)
- [26] Organización Panamericana de la Salud. Cabinas de Seguridad Biológica: uso, desinfección y mantenimiento. OPS, Washington, D.C, 2002. https://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/lab-cabinas_biosecuridad.pdf
- [27] Kojima K, Booth CM, Summermatter K, Bennett A, Heisz M, Blacksell SD et al. Risk-based reboot for Global Lab Biosafety. *Science*, vol. 360, pp. 260-262, 2018. DOI: [10.1126/science.aar2231](https://doi.org/10.1126/science.aar2231)
- [28] CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel. CDC-006- 00019, Consulta: 02. CDC/DDID/NCIRD/Division of Viral Diseases. 2020. <https://www.fda.gov/media/134922/download>
- [29] A.C. Nelson, B. Auch, M. Schomaker, D.M. Gohl et al. Analytical Validation of a COVID-19 qRT-PCR Detection Assay Using a 384-well Format and Three Extraction Methods. *Biorxiv*, 2020 Disponible en: <https://doi.org/10.1101/2020.04.02.022186>.

[30] WHO. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019-2020. Geneva: World Health Organization: 2019.

<https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20/en/>

[31] Norma ISO 45001. Sistemas de Gestión de seguridad y salud en el trabajo. 12 de marzo de 2018.

[32] OSHA 3990-032020. Occupational Safety and Health Act of 1970. Guidance on Preparing WorkPlaces for COVID-19.

<https://www.osha.gov/Publications/OSHA3990.pdf>

[33] ISO 35001:2019. Biorisk Management for Laboratories and other Related Organizations. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:35001:ed-1:v1:en>

[34] J. Gaudioso, T. Zemlo, Survey of Bioscience Research Practices in Asia: Implications for Biosafety and Biosecurity. *Applied Biosafety*. vol. 12, 2007.

<https://doi.org/10.1177/153567600701200408>

[35] Organización mundial de la Salud. Reglamento Sanitario Internacional. Tercera edición, 2005. https://www.who.int/ihr/IHR_2005_es.pdf

[36] WHO, "Joint External Evaluation tool: International Health Regulations" (WHO, Geneva, Switzerland, 2016).

https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204368/9789241510172_eng.pdf;jsessionid=05E406A25FD495904A9F6CEF091B20DA?sequence=1

[37] Organización Mundial de la Salud, Instrumento de Autoevaluación para la Presentación Anual de Informes de los Estados Partes en el Reglamento Sanitario Internacional (2005). Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2018.

<https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2018.16/es/>

NOTA BIOGRÁFICA



Rosa Isabel Hernández Rangel. ORCID iD  <https://orcid.org/0000-0001-5537-8113>.

Es Investigadora del Instituto de Medicina Tropical Alexander Von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Sede Cusco, Perú. Bióloga, Universidad Central de Venezuela, tiene Postgrado en Salud Ocupacional y Aseguramiento de la Calidad en la Universidad Central de Venezuela, y una Maestría en Seguridad de la Nación en la Universidad Militar Bolivariana de Venezuela. Investigadora en Arbovirus, Arenavirus, y otros virus y parásitos emergentes.



Juan Carlos Navarro. ORCID iD  <https://orcid.org/0000-0002-7692-4248>


Biólogo y Ecólogo de Vectores-UCV, Ph.D en Entomología y Ecoepidemiología Molecular (UCV-UTMB-Texas), Profesor Titular Principal-3 e Investigador en la Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales y Profesor Emérito Universidad Central de Venezuela. Actualmente es Director de Investigación e Innovación de la UISEK. Investigador en Arbovirus y otros virus y patógenos emergentes, ecoepidemiología molecular y vector borne diseases. Board Committee of World Society of Virology. h-index Scopus:17; h-index Scholar: 24; i10-index: 47.




Yurianni Ester Arias Miranda. ORCID iD  <https://orcid.org/0000-0003-4233-3463>

Es Bióloga, egresada de la Universidad Central de Venezuela. Obtuvo su licenciatura en Biología en 2016. Sus investigaciones están asociadas a temas de Biología Celular, Inmunología y Virología. Actualmente es Investigadora en el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” en el laboratorio de Aislamiento Viral. Caracas, Venezuela.



José Rubén Ramírez Iglesias. ORCID iD  <https://orcid.org/0000-0003-0173-1895>
Graduado en la Universidad Católica Andrés Bello (Caracas, Venezuela). Obtuvo un Doctorado en Ciencias Mención Bioquímica, en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Docente Titular de la Universidad Internacional SEK, en la cual desarrolla investigaciones sobre la situación de enfermedades veterinarias desatendidas en el territorio ecuatoriano, diseño de sondas moleculares para el mejoramiento del diagnóstico, junto con proyectos relacionados con biodiversidad, enfermedades emergentes y medio ambiente.



Leidi Herrera Cabrera. ORCID ID.  <https://orcid.org/0000-0001-8515-2078>.
Profesora- Investigadora Titular, de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela (UCV), adscrita al Instituto de Zoología y Ecología (UCV). Obtuvo su licenciatura de Biología en la UCV y Doctorado en Ciencias en la especialidad de

Biología parasitaria, en el Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ-Brasil. Tiene una de línea de investigación consolidada en estudio de complejos eco-patogénicos de agentes de enfermedades metaxénicas, en trópico y sub trópico, con aplicación de técnicas biológicas y moleculares.



Martha Vanessa Fernández

Baca. ORCID iD 

<https://orcid.org/0000-0003-3315-7920> Bióloga, obtuvo su licenciatura en el año 2016, en la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. Su línea de investigación es en Parasitología y Biología Molecular. Actualmente es investigadora del Instituto de Medicina Tropical Alexander Von Humboldt de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, de la ciudad Cusco, Perú.



This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> or send a letter to Creative Commons, PO Box 1866, Mountain View, CA 94042, USA.