

Validación de muestras, técnicas y estrategias de diagnóstico de virus emergentes (experiencia con COVID-19)

Validation of samples, techniques, and diagnostic strategies for emerging viruses (experience in COVID-19)

Kenji F. Shoji¹, Roxana Aleman Castillo³, Horacio Andres Aguirre-Villegas², Rodrigo K. Arce Cardozo^{4,a}

Resumen

Objetivos: actualmente, la técnica estándar de detección de virus qRT-PCR, requiere personal capacitado, equipos especializados y reactivos relativamente costosos. La técnica de amplificación isotérmica mediada por bucle, LAMP, ha resurgido como una alternativa prometedora previamente y durante la pandemia de COVID-19 y su estudio tiene potencial para el control de enfermedades infecciosas emergentes. **Métodos:** en este trabajo, presentamos un estudio comparativo realizado por el SEDES de Tarija en octubre del 2020 donde se comparó muestras de pacientes voluntarios utilizando RT-PCR y LAMP en muestras de hisopados nasofaríngeos y de saliva. **Resultados:** LAMP demostró una concordancia del 100% con PCR en muestras de ARN nasofaríngeo, y un 93,5% de concordancia con muestras de saliva. **Conclusiones:** el diagnóstico rápido y práctico de enfermedades infecciosas emergentes como el COVID-19 es crucial para establecer estrategias de control eficaces que minimicen el impacto económico y que a su vez maximicen la protección sobre sus ciudadanos. Nuestros resultados validan la sensibilidad de LAMP y el uso de muestras de saliva como alternativa menos invasiva. Este trabajo confirma la validez de la técnica y su fácil implementación en áreas rurales con recursos limitados para el control de enfermedades virales emergentes.

Palabras claves: reacción en cadena en tiempo real de la polimerasa, técnicas de laboratorio clínico, prueba de COVID-19, enfermedades virales.

Abstract

Objectives: currently, the standard qRT-PCR virus detection technique requires trained personnel, specialized equipment and relatively expensive reagents. The loop-mediated isothermal amplification technique, LAMP, has reemerged as a promising alternative previously and during the COVID-19 pandemic and its study has potential for the control of emerging infectious diseases. **Methods:** in this work, we present a comparative study carried out by the SEDES of Tarija in October 2020 where samples from volunteer patients were compared using RT-PCR and LAMP in nasopharyngeal swab and saliva samples. **Results:** LAMP demonstrated 100% concordance with PCR in nasopharyngeal RNA samples, and 93.5% concordance with saliva samples. **Conclusions:** the rapid and practical diagnosis of emerging infectious diseases such as COVID-19 is crucial to establish effective control strategies that minimize the economic impact and in turn maximize protection for its citizens. Our results validate the sensitivity of LAMP and the use of saliva samples as a less invasive alternative. This work confirms the validity of the technique and its easy implementation in rural areas with limited resources for the control of emerging viral diseases.

Keywords: real-time polymerase chain reaction, clinical laboratory techniques, COVID-19 testing, virus diseases.

Recibido el
04 de julio de 2024
Aceptado
15 de enero de 2025

¹Departamento de Farmacología
Traslacional, Galapagos Pharma.
<https://orcid.org/0000-0002-8137-2521>

²Departamento de Ingeniería de
Sistemas Biológicos, Universidad de
Wisconsin-Madison.
<https://orcid.org/0000-0002-8746-2296>
aguirreville@wisc.edu

³Universidad Autónoma Juan Misael
Saracho.
<https://orcid.org/0000-0001-9523-8932>
roxana.aleman@uajms.edu.bo

⁴Instituto de Investigación Biomédica y
Social, Facultad de Medicina "Aurelio
Melean", UMSS,

^aFacultad de Medicina, Universidad
de Umea
<https://orcid.org/0000-0003-1129-414X>
rodrigo.arce@umu.se

*Correspondencia:

Kenji F. Shoji
Correo electrónico:
kenjishoji@gmail.com

DOI:
<https://doi.org/10.47993/gmbv48i1.947>

Las pandemias y epidemias infecciosas (como la influenza, VIH, etc.) han impactado a las sociedades globalmente desde tiempos remotos. Los sistemas de salud deben prepararse aprendiendo de desafíos presentes y pasados¹. Aunque ya hubo varias pandemias en el siglo XXI, se esperan más por el cambio climático, mayor movilidad humana y expansión en ecosistemas antes preservados². La pandemia de COVID-19 ha creado una tensión significativa en los sistemas de salud, particularmente en los países de ingresos bajos y medianos³. Los gobiernos enfrentaron la COVID-19 con medidas diversas, y ninguna ha demostrado ser ideal para definir éxito o fracaso⁴. Hoy, cinco años después del inicio de la COVID-19, existe consenso en que la pandemia sigue siendo una amenaza apremiante para la salud⁵.

Incluso antes de la pandemia de COVID-19, los países de América Latina han visto aumentos desiguales en la investigación del sistema de salud⁶, impulsando llamados a la acción para brindar mejores recomendaciones para las autoridades pertinentes en la región⁷. Dado que América Latina tiene significativamente menos estudios publicados sobre los esfuerzos o los resultados de la respuesta a la pandemia de COVID-19 en comparación con otras partes del mundo, muchas áreas importantes siguen sin estudiarse⁸. Es en ese contexto que el presente estudio describe un proyecto implementado por el Servicio Departamental

de Salud (SEDES) del Gobierno Departamental de Tarija, Bolivia, el año 2020, en respuesta a la crisis de salud provocada por la pandemia del COVID-19 y bajo las directrices estratégicas establecidas por el Ministerio de Salud de Bolivia para desarrollar medidas que preparen, contengan y mitiguen el virus SARS-CoV-2⁹. Este trabajo utiliza estrategias emergentes y aplicadas en casos de estudio de otros países, las cuales mostraron que una de las estrategias más importantes para aplanar la curva de infección y controlar la pandemia es fortalecer el diagnóstico laboratorial para el SARS-CoV-2^{10,11}. Sin embargo cuando se refiere al diagnóstico, existen diferentes tipos de pruebas de laboratorio con niveles de especificidad, sensibilidad, validación distintos y no descritos en el contexto boliviano. Hasta la fecha de este estudio, la única estrategia recomendada y autorizada por el gobierno nacional de Bolivia es la técnica de biología molecular de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y pruebas rápidas de antígenos, independientemente de los grados de prevalencia, uso clínico u objetivos de control epidemiológico⁹.

Bolivia, al igual que muchas otras naciones en desarrollo, dispuso un número limitado de centros de diagnóstico, todos basados en el uso de la técnica RT-PCR en tiempo real para la detección de SAR-CoV-2⁹. Durante el año 2020, la ciudad de Tarija contaba con solo dos laboratorios (uno propiedad del Gobierno local y otro del sector privado) autorizados para realizar RT-PCR para una población de casi 500 000 personas¹². A pesar de la sensibilidad y robustez de la técnica RT-PCR, el creciente número de casos de COVID-19 en áreas urbanas y rurales condujo a una urgente búsqueda e implementación de estrategias de diagnóstico alternativas que deberían contribuir al control efectivo de la pandemia, disminuir los riesgos de exposición para el personal de laboratorio y facilitar la colecta de muestras con hisopos nasofaríngeos en los pacientes afectados.

Este estudio tiene como objetivo validar un protocolo de laboratorio alternativo que amplíe la capacidad diagnóstica del SARS-CoV-2 en el Municipio de Cercado Tarija, Bolivia. Específicamente, se recolectaron muestras de pacientes mediante muestras de hisopos nasofaríngeos y saliva. Se realizaron pruebas de laboratorio LAMP para COVID-19. Los resultados se compararon en paralelo con la técnica de qRT-PCR¹³. El presente estudio se realizó con la finalidad de validar nuevas estrategias laboratoriales, para expandir la capacidad de diagnóstico del SARS-CoV-2 en municipio de Tarija¹⁴. Esta información se utilizó para plantear posibles usos de las estrategias diagnosticas descritas en el control epidemiológico de diferentes etapas de la curva epidemiológica de una población definida, para ser utilizados en caso de cambios en la prevalencia y distribución geográfica de la epidemia. Sin embargo los resultados pueden transferirse al control de otras enfermedades virales emergentes y contribuyen a la literatura disponible de herramientas diagnosticas en el contexto boliviano y latinoamericano.

Materiales y métodos

Aprobación ética y muestreo

La validación se llevó a cabo con muestras de adultos residentes en el Municipio de Cercado, Tarija en el momento del estudio. La inclusión de muestras clínicas de pacientes con resultados positivos o negativos para COVID-19 de los diferentes centros de salud municipales siguieron un protocolo aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho de Tarija con número de identificación UAJMS001/2020 y esta registrado en el registro de estudios clínicos de Estados Unidos con Clínica Trial ID: NCT04581083. Se recopilieron consentimientos informados de todos los voluntarios que aceptaron proporcionar una muestra biológica y participar en el estudio.

Las muestras nasofaríngeas se recogieron siguiendo el protocolo estándar para la colecta de muestras prescritas por el SEDES. Después del muestreo, los hisopos nasofaríngeos se depositaron en medios de transporte viral dedicados y se almacenaron a 4 °C. La saliva se recolectó en frascos estériles de boca ancha con tapa de rosca, sin agente estabilizante y también se almacenó a 4 °C.

Se recogieron un mínimo de 500 µl de saliva de cada participante y por cada punto. La muestra de saliva agregada para cada persona se refiere al volumen total de saliva que se recolectó en cinco momentos diferentes durante el mismo día y a intervalos de 4 horas. Todas las muestras se conservaron inmediatamente después de llegar al laboratorio y los ácidos nucleicos (ARN) que se extrajeron se conservaron a -20 °C. Todas las pruebas de RT-PCR se realizaron dentro de los 10 días posteriores a la colecta de las muestras.

Técnica de extracción de ARN

La extracción de ácidos nucleicos para las pruebas de RT-PCR fue realizada utilizando el kit EZgene™ Viral DNA/RNA (BioMIGA) siguiendo los protocolos descritos por el proveedor. Las muestras nasofaríngeas y de saliva se inactivaron agregando 20 µl de proteinasa K, 2 µl de solución L y 300 µl de tampón LYE. La extracción de ARN se realizó añadiendo 600 µl de isopropanol y se utilizaron columnas de extracción para el proceso de purificación.

RT-PCR en tiempo real vs LAMP

El análisis de laboratorio de RT-PCR se realizó utilizando los reactivos proporcionados en el kit RIDA®GENE SARS-CoV-2 de R-Biopharm. Los ácidos nucleicos se añadieron al Master Mix que se preparó siguiendo los protocolos descritos por el proveedor. La validación para la prueba de LAMP se realizó utilizando las mismas muestras de ARN purificadas y utilizadas para las pruebas de RT-PCR. La mezcla de reactivos de LAMP se preparó siguiendo los pasos descritos en el kit Resist RT-

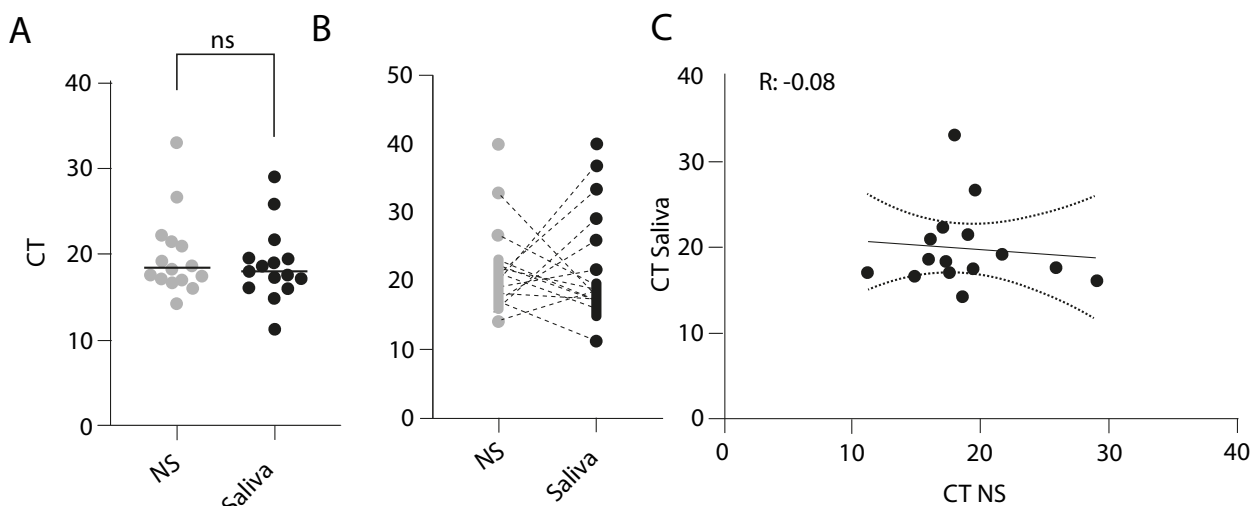


Figura 1. Las muestras de saliva son igual de eficaces que los hisopos nasofaríngeos para la colecta de muestras de COVID-19. Comparación mediante RT-PCR de 15 muestras de saliva y 15 frotis nasofaríngeos en pacientes con resultados positivos para COVID-19. A) Comparación de los valores de umbral de ciclo (CT) para la RT-PCR entre las muestras de saliva y los hisopos nasofaríngeos mediante prueba de T-student (post Mann-Whitney: n-15, $p < 0,005$). B) Prueba pareada de los resultados de RT-PCR entre saliva e hisopo nasofaríngeo. C) Correlación de las muestras de saliva frente a los hisopos nasofaríngeos (NS).

LAMP COVID 19 (Avenire, Kura). Las muestras de ARN se prepararon y colectaron en microtubos (tira) donde se mezclaron los reactivos a 65 °C y durante 30 minutos. Una vez finalizada la reacción, las muestras se almacenaron a -20 °C durante al menos un minuto para facilitar el desarrollo del color. La interpretación de los resultados no requirió ningún equipo ya que los resultados pueden determinarse de manera visual, siendo el amarillo positivo y el rosa negativo para SARS-CoV-2. (Fig. 1).

Participantes y análisis estadístico

Para este estudio, se reclutaron 30 personas que trabajaban en el sector de la salud. Diez de estas personas fueron clasificadas como pacientes sospechosos debido a los síntomas que tenían en el momento de la colecta de las muestras. Los 20 participantes restantes fueron clasificados como controles negativos sin sintomatología y cuyas muestras iban a ser utilizadas para la validación. La mayoría de estos 20 voluntarios asintomáticos ya habían dado positivo en la prueba de COVID-19, al menos un mes antes de la recogida de la muestra. Para cada persona, se recogió una muestra de hisopo nasofaríngeo y 5 muestras de saliva dentro del mismo intervalo de tiempo. Para evaluar el poder estadístico de los resultados entre las pruebas de RT-PCR y LAMP, se estimó el índice de concordancia y se evaluó con el coeficiente Kappa. El análisis de datos se realizó utilizando el programa estadístico GraphPad Prism (v8.4.3).

Resultados

Validación de la toma de muestras de saliva

Para la validación de las muestras nasofaríngeas y de saliva, se extrajo ARN de cada voluntario utilizando los mismos reactivos y en paralelo (al mismo tiempo). La Tabla 1 detalla los resultados obtenidos para cada muestra. Se evaluaron los genes específicos de SARS-COV2 N, S y ORF para muestras diagnósticas analizadas con las pruebas de RT-PCR. Aprovechamos de utilizar las mismas muestra de ARN para comparar los métodos de prueba LAMP y RT-PCR. Los resultados fueron comparados utilizando los ciclos de umbral (CT), que identifican la presencia de ARN viral en las muestras contando el número de ciclos requeridos para que la señal fluorescente cruce el umbral (es decir, exceda el nivel de fondo). Se consideraron valores superiores a 40 como negativos. La Figura 1 muestra los resultados del ciclo de umbral de RT-PCR obtenidos para pacientes que dieron positivo confirmado por la presencia de síntomas de COVID-19.

El análisis estadístico mostró que no hay diferencia significativa entre los métodos de recolección a través del hisopo nasofaríngeo y la saliva (Fig. 2) ($n = 15$, Prueba de Mann-Whitney, $P > 0.05$). El estudio pareado también mostró que la mayoría de las muestras de saliva (10 de 15 positivas para COVID-19) tenían valores de CT ligeramente más bajos en comparación con los valores de CT obtenidos de las muestras nasofaríngeas (Figura 1B). Finalmente, no hubo correlación entre los valores de CT nasofaríngeos y salivales (Figura 1C). Esto sugiere que las cargas virales entre las diferentes áreas anatómicas (mucosa nasofaríngea versus mucosa orofaríngea) son diferentes en cada persona.

La Tabla 2 presenta el análisis de concordancia entre la prueba de RT-PCR que utilizó saliva y los métodos nasofaríngeos



Figura 2. Muestras analizadas para COVID-19 por el método LAMP. Procedimiento realizado en el Laboratorio de Biología Molecular - SEDES Tarija.

para la recolección de especímenes para todas las muestras analizadas ($n = 30$). Se estimó un valor Kappa de 1, mostrando una concordancia del 100% entre muestras positivas y negativas. Estos resultados indican que las personas infectadas con el virus SARS-CoV-2 pueden ser fácilmente identificadas mediante el análisis de muestras de saliva.

La falta de correlación entre los dos tipos de muestras puede indicar que los niveles de componentes virales en la saliva y

Tabla 1. Resumen de muestras: Los resultados muestran la compilación de 30 muestras utilizadas para las pruebas RT-PCR y LAMP con muestras de saliva e hisopos nasofaríngeos realizados en este estudio.

Síntoma?	Codigo	SALIVA						HISOPADONASAL						CONCLUSION
		LAMP	PCR	GEN N	GEN S	GEN ORF	CT	LAMP	PCR	GEN N	GEN S	GEN ORF	CT	
+	1	Positivo	Positivo	Positivo			11,27	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	17,05	Positivo
-	2	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
+	3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	16,04	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	18,66	Positivo
+	4	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	36,9	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	20,01	Inconcluso
-	5	Negativo	Positivo				33,41	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo		21,08	Inconcluso
+	6	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	14,94	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	16,61	Positivo
-	7	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	8	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	9	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	17,08	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	22,31	Positivo
+	10	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	11	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	12	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	13	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
+	14	Positivo	Positivo	Positivo			16,2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	21,03	Positivo
+	15	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	25,98	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	17,66	Positivo
+	16	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	18,63	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	14,25	Positivo
+	17	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	17,64	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	17,11	Positivo
-	18	Positivo	Positivo	Positivo			17,35	Positivo	Positivo	Positivo			18,27	Positivo
-	19	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	20	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	21	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	29,09	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	16,09	Positivo
-	22	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	21,73	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	19,2	Positivo
-	23	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	19,05	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	21,46	Positivo
-	24	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	18,05	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	33,08	Positivo
-	25	Negativo	Negativo				17,36	Negativo	Negativo				23,02	Negativo
-	26	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	19,47	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	17,45	Positivo
-	27	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	19,66	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	26,69	Positivo
-	28	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	29	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo
-	30	Negativo	Negativo				40	Negativo	Negativo				40	Negativo

Tabla 2. Concordancia de resultados mediante RT-PCR comparando muestras de saliva e hisopo nasofaríngeo para el diagnóstico de COVID-19.

n=30		Hisopado	
		Positivo	Negativo
Saliva	Positivo	12	0
	Negativo	0	18
Porcentaje de concordancia para muestras positivas		100%	
Porcentaje de concordancia para muestras negativas		100%	
Porcentaje de concordancia total		100%	
No concluyentes		0%	

Tabla 3. Concordancia de los resultados de muestras de hisopo nasofaríngeo entre RT-PCR y LAMP para el diagnóstico de COVID-19.

n=30		Hisopado PCR	
		Negativo	Positivo
Hisopado LAMP	Negativo	12	0
	Positivo	0	18
Porcentaje de concordancia para muestras positivas		100%	
Porcentaje de concordancia para muestras negativas		100%	
Porcentaje de concordancia total		100%	
No concluyentes		0%	

las vías respiratorias superiores no son comparables. Sin embargo, el valor de carga viral es lo suficientemente fuerte como para determinar el rango/concentración para un diagnóstico efectivo.

Validación de LAMP con hisopo nasofaríngeo

Los resultados que comparan los métodos RT-PCR y LAMP para el diagnóstico de COVID-19 muestran una concordancia del 100% para muestras positivas y negativas, obteniendo un valor Kappa de 1 (Tabla 3). Estos resultados validan el uso de la técnica LAMP con muestras de hisopo nasofaríngeo en pacientes infectados con SARS-CoV-2.

Validación de LAMP con muestras de saliva

La Tabla 4 muestra los resultados comparativos para todas las muestras procesadas. Se estimaron valores de concordancia del 100% y del 89% para muestras negativas y positivas, respectivamente. Se estimó una concordancia total del 93,5% de la prueba diagnóstica utilizando la metodología LAMP en comparación con RT-PCR en muestras de saliva, con un índice Kappa de 0,86. Estos resultados sugieren que la técnica LAMP en muestras de saliva es adecuada y debe ser utilizada para esfuerzos de rastreo. Se identificaron dos muestras positivas por RT-PCR como negativas con la metodología LAMP, lo que sugiere que LAMP podría no ser 100% confiable con muestras de saliva, y podría generar potencialmente falsos negativos.

Discusión

Este estudio confirma que la técnica LAMP tiene una concordancia del 100% con la técnica de RT-PCR en muestras de ARN obtenidas con hisopos nasofaríngeos. Los resultados también muestran una concordancia del 100% entre RT-PCR con hisopo nasofaríngeo y RT-PCR con muestras de saliva. Este análisis valida el uso de la toma de muestras de saliva para la colección de especímenes de COVID-19, lo que podría ser utilizado como una alternativa de menor riesgo para la recolección de material biológico en comparación con el hisopo nasofaríngeo. Los resultados entre RT-PCR y LAMP con muestras de saliva mostraron una concordancia del 93,5%, validando su uso como instrumento para la identificación de personas infectadas con el virus COVID-19. En conclusión, este informe valida la sensibilidad de la técnica LAMP en comparación con RT-PCR en muestras de ARN purificadas. Además, los resultados validan que la toma de muestras de saliva es igualmente efectiva que la toma de muestras nasofaríngeas en el diagnóstico de RT-PCR y valida la técnica LAMP como una herramienta para el rastreo de personas infectadas con COVID-19. El alto número de personas asintomáticas en este estudio que fueron positivas para los dos tipos de muestras evaluadas (hisopo nasofaríngeo y saliva) resalta la alta sensibilidad y eficacia de la toma de muestras de saliva y el uso de LAMP para el diagnóstico.

A pesar de los resultados en este estudio son prometedores, aún existen limitaciones que deben ser consideradas. Por

Tabla 4. Concordancia de los resultados de las muestras de saliva analizadas por RT-PCR y LAMP para el diagnóstico de COVID-19.

n=30		PCR	
		Positivo	Negativo
LAMP	Positivo	12	2
	Negativo	0	16
Porcentaje de concordancia para muestras positivas		89%	
Porcentaje de concordancia para muestras negativas		100%	
Porcentaje de concordancia total		94%	
No concluyentes		0%	

ejemplo, es necesario validar esta técnica en un grupo más grande de individuos dado el tamaño muestral pequeño en el estudio actual. La falta de correlación entre las muestras LAMP y RT-PCR en saliva muestra que la combinación de la toma de muestras de saliva con la prueba LAMP podría generar falsos positivos.

Conclusiones

La LAMP es una técnica que no requiere equipo de laboratorio complejo o costoso y que produce resultados de prueba rápidos. Estas ventajas hacen que la LAMP sea un método ideal para áreas rurales donde no hay personal especializado o laboratorios equipados.

Aún queda espacio para mejorar los métodos presentados en este estudio, lo que podría facilitar y acelerar aún más el proceso de prueba. Por ejemplo, hay evidencia de que las pruebas podrían realizarse sin el paso de la extracción de ARN, abriendo la posibilidad para un diagnóstico más extenso no solo a casos de COVID-19 si no también en múltiples otras enfermedades. Por lo tanto, podemos también concluir que, con los reactivos y métodos utilizados en este estudio, las pruebas de agrupamiento LAMP con muestras de saliva todavía no son una opción viable. No obstante, se han publicado numerosos estudios que evalúan el uso de LAMP en muestras de saliva, lo que destaca la necesidad de mejorar aún más esta técnica antes de que pueda ser utilizada como una herramienta adicional en los esfuerzos para controlar la pandemia. A pesar de estas limitaciones, estas formas alternativas de diagnóstico muestran un gran potencial para aumentar su escala, ya que generan resultados rápidos y son económicamente viables.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Declaración de uso de IA

El autor declara no haber incorporado ningún resultado de IA.

Contribución de los autores

Todos los autores contribuyeron por igual al estudio de acuerdo con su experiencia profesional, en la realización del protocolo, el estudio y la redacción del presente manuscrito.

Agradecimientos

Agradecemos la participación de todos los 30 voluntarios anónimos y el personal de SEDES Tarija (Jimena Martínez, Wilson Muriel Argollo, Carmen Amanda Delgado Delgado, Carlos Adolfo Barrero Ortega y Jorge Luis Tejerina Oller). También nos gustaría reconocer la colaboración y los esfuerzos de la oficina del Gobernador en Tarija – Bolivia, particularmente de Adrian Oliva y su asesor Waldemar Peralta. También extendemos nuestro agradecimiento al Rector Gonzalo Gandarillas de la Universidad Juan Misael Saracho, al equipo "Innova Bolivia" liderado por Rodrigo García, Lucia Alvarado Arnez, Paloma Rojas Saunero, Carmen Ugarte, Grover Quispe, Vladimir Paye, Carla Aguirre y Juan Pablo Jaldín. Los reactivos utilizados en este estudio fueron adquiridos con fondos proporcionados por CAINCO.

Referencias bibliográficas

- Morens DM, Daszak P, Markel H, Taubenberger JK. Pandemic COVID-19 Joins History's Pandemic Legion. *mBio* [Internet]. 2020;11(3):e00812-20. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.00812-20> [citado el 19 de septiembre de 2022]
- Khan M, Adil SF, Alkhatlan HZ, Tahir MN, Saif S, Khan M, et al. COVID-19: A Global Challenge with Old History. *Epidemiology and Progress So Far. Molecules* [Internet]. 2020;26(1):39. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7795815/> [citado el 13 de agosto de 2022]
- García S, Labaka L, Hernantes J, Borges MRS. Monitoring the Health System Saturation Risk During COVID-19 Pandemics. En: Murayama Y, Velev D, Zlateva P, editores. *Information Technology in Disaster Risk Reduction* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2021:274–86. (IFIP Advances in Information and Communication Technology). Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-81469-4_22
- Boyd MJ, Wilson N, Nelson C. Validation analysis of Global Health Security Index (GHSI) scores 2019. *BMJ Glob Health* [Internet]. 2020;5(10):e003276. Disponible en: <https://gh.bmj.com/content/5/10/e003276> [citado el 19 de octubre de 2022]
- Lazarus JV, Romero D, Kopka CJ, Karim SA, Abu-Raddad LJ, Almeida G, et al. A multinational Delphi consensus to end the COVID-19 public health threat. *Nature* [Internet]. 2022;1–14. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41586-022-05398-2> [citado el 4 de noviembre de 2022]
- Becerra-Posada F, Minayo M, Quental C, de Haan S. National research for health systems in Latin America and the Caribbean: moving towards the right direction? *Health Res Policy Syst* [Internet]. 2014;12(1):13. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1478-4505-12-13> [citado el 4 de noviembre de 2022]
- Ezequiel GE, Jafet A, Hugo A, Pedro D, Ana Maria M, Carola OV, et al. The COVID-19 pandemic: A call to action for health systems in Latin America to strengthen quality of care. *Int J Qual Health Care* [Internet]. 2021;33(1):mzaa062. Disponible en: <https://academic.oup.com/intqhc/article/doi/10.1093/intqhc/mzaa062/5848602> [citado el 13 de agosto de 2022]
- Torres-Pascual C, Torrell-Vallespín S, Torrell-Vallespín S. Análisis bibliométrico de la producción científica latinoamericana y del Caribe sobre COVID-19. *Rev Cuba Inf En Cienc Salud* [Internet]. 2020;31(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2307-21132020000300008&lng=es&nrm=iso&tng=es [citado el 19 de octubre de 2022]

9. Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia - Guías para el Manejo del COVID-19 - Ministerio de Salud y Deportes [Internet]. 2021. Disponible en: <https://www.minsalud.gob.bo/guias-para-el-manejo-del-covid-19-ministerio-de-salud> [citado el 19 de septiembre de 2024]
10. Thompson D, Lei Y. Mini review: Recent progress in RT-LAMP enabled COVID-19 detection. *Sens Actuators Rep* [Internet]. 2020;2(1):100017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7428436/> [citado el 19 de septiembre de 2024]
11. Vandenberg O, Martiny D, Rochas O, van Belkum A, Kozlakidis Z. Considerations for diagnostic COVID-19 tests. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2021;19(3):171–83. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41579-020-00461-z> [citado el 19 de septiembre de 2024]
12. Quiroga EMQ. Gobernación y UAJMS consiguen para Tarija el segundo laboratorio para pruebas Covid-19 [Internet]. 2020. Disponible en: <https://www.tarija.gob.bo/tarija/180-gobernacion-y-uajms-consiguen-para-tarija-el-segundo-laboratorio-para-pruebas-covid-19> [citado el 19 de septiembre de 2024]
13. Mannier C, Yoon JY. Progression of LAMP as a Result of the COVID-19 Pandemic: Is PCR Finally Rivalled? *Biosensors* [Internet]. 2022;12(7):492. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6374/12/7/492> [citado el 19 de septiembre de 2024]
14. El País Tarija [Internet]. Pruebas LAMP para Covid, tres meses en espera de autorización para Tarija. 2021. Disponible en: https://elpais.bo/tarija/20210113_pruebas-lamp-para-covid-tres-meses-en-espera-de-autorizacion-para-tarija.html [citado el 19 de septiembre de 2024]