



Neiva 28 de marzo de 2022.

PARA:

MARÍA CLEMENCIA ROJAS CHARRY
Directora del Laboratorio de Salud Pública del Huila

DE:

CARLOS FERNANDO NARVÁEZ
Jefe División de Inmunología – Universidad Surcolombiana

REF: Entrega del sexto Informe Técnico Trimestral Proyecto BPIN 2020000100145 desde la Universidad Surcolombiana a la Secretaría de Salud Departamental del Huila.

Estimada Dra. María Clemencia,

Con la presente comunicación hago entrega del sexto Informe Técnico Trimestral presentado por la División de Inmunología - Laboratorio de Infección e Inmunidad del proyecto titulado "FORTALECIMIENTO DE LAS CAPACIDADES INSTALADAS DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA PARA ATENDER PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO PARA LA SALUD HUMANA EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA" BPIN 2020000100145, financiado por el SGR. Este va acompañado de todos los soportes que son mostrados en la sección de "ANEXOS" al final del texto, como apoyo a la información brindada. Este informe ya fue revisado y avalado por la Universidad Surcolombiana a través de la Vicerrectoría de Investigación y Proyección Social. Para facilitar la incorporación de estos resultados al informe general que debe entregar la entidad ejecutora a la Secretaría Técnica del OCAD, se muestra un listado de los principales avances en las actividades del proyecto obtenidos durante el sexto trimestre de ejecución:

- Obtención de prórroga de aval del Instituto Nacional de Salud, para la realización de diagnóstico molecular de COVID-19 por RT-qPCR.
- Realización conjunta del "I Curso de Teórico-Práctico de Biología Molecular e Inmunología en Enfermedades de Interés en Salud Pública para el Departamento del Huila: COVID-19 y Dengue", con una significativa participación de los integrantes regionales de la Red de Salud Pública.
- Estandarización y validación de Inmunoensayo ligado a enzima para detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 específica.
- Detección de NS1 de DENV circulante por ELISA en la cohorte de pacientes departamental.

Este informe será radicado también ante la oficina departamental de regalías.

Cualquier inquietud, no dude en contactarme,

Cordialmente,

CARLOS FERNANDO NARVÁEZ MD., Ph.D.
Médico Inmunólogo
Jefe División de Inmunología – Universidad Surcolombiana

GOBERNACIÓN DEL HUILA
SECRETARÍA DE SALUD DEPARTAMENTAL
Comunicaciones Oficiales Recibidas

Radicado No. 9901 PCB CCR
Fecha: Día 30 Mes 03 Año 22
Hora: 2:36
Original: Copia:
Prioridad: Término días:
Radicado:

VIGILADA MINEDUCACIÓN





Neiva 28 de marzo de 2022.

PARA: PEDRO ELIAS PLATA Apoyo a la Supervisión SSDH

DE: CARLOS FERNANDO NARVÁEZ Jefe División de Inmunología – Universidad Surcolombiana

REF: Entrega del sexto Informe Técnico Trimestral Proyecto BPIN 2020000100145 desde la Universidad Surcolombiana a la Secretaría de Salud Departamental del Huila.

Cordial saludo,

Con la presente comunicación hago entrega del sexto Informe Técnico Trimestral presentado por la División de Inmunología - Laboratorio de Infección e Inmunidad del proyecto titulado "FORTALECIMIENTO DE LAS CAPACIDADES INSTALADAS DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA PARA ATENDER PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO PARA LA SALUD HUMANA EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA" BPIN 2020000100145, financiado por el SGR. Este va acompañado de todos los soportes que son mostrados en la sección de "ANEXOS" al final del texto, como apoyo a la información brindada. Este informe ya fue revisado y avalado por la Universidad Surcolombiana a través de la Vicerrectoría de Investigación y Proyección Social. Para facilitar la incorporación de estos resultados al informe general que debe entregar la entidad ejecutora a la Secretaría Técnica del OCAD, se muestra un listado de los principales avances en las actividades del proyecto obtenidos durante el sexto trimestre de ejecución:

- Obtención de prórroga de aval del Instituto Nacional de Salud, para la realización de diagnóstico molecular de COVID-19 por RT-qPCR.
- Realización conjunta del "I Curso de Teórico-Práctico de Biología Molecular e Inmunología en Enfermedades de Interés en Salud Pública para el Departamento del Huila: COVID-19 y Dengue", con una significativa participación de los integrantes regionales de la Red de Salud Pública.
- Estandarización y validación de Inmunoensayo ligado a enzima para detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 específica.
- Detección de NS1 de DENV circulante por ELISA en la cohorte de pacientes departamental.

Este informe será radicado también ante la oficina departamental de regalías.

Cualquier inquietud, no dude en contactarme,

Cordialmente,

CARLOS FERNANDO NARVÁEZ MD., Ph.D. Médico Inmunólogo Jefe División de Inmunología – Universidad Surcolombiana

GOBERNACIÓN DEL HUILA SECRETARIA DE SALUD DEPARTAMENTAL Comunicaciones Oficiales Recibidas

Formulario de radicación con campos para Radicado No. (9901), Fecha (Día 30, Mes 03, Año 22), Hora (2:26), Original, Copia, Prioridad, Tiempo clas, y Radicado.





Neiva 28 de marzo de 2022.

PARA:

NATHALY MEDINA CAMPOS
Secretaria de Salud Departamental (E).

DE:

CARLOS FERNANDO NARVÁEZ
Jefe División de Inmunología – Universidad Surcolombiana

REF: Entrega del sexto Informe Técnico Trimestral Proyecto BPIN 2020000100145 desde la Universidad Surcolombiana a la Secretaría de Salud Departamental del Huila.

Cordial saludo,

Con la presente comunicación hago entrega del sexto Informe Técnico Trimestral presentado por la División de Inmunología - Laboratorio de Infección e Inmunidad del proyecto titulado "FORTALECIMIENTO DE LAS CAPACIDADES INSTALADAS DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA PARA ATENDER PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO PARA LA SALUD HUMANA EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA" BPIN 2020000100145, financiado por el SGR. Este va acompañado de todos los soportes que son mostrados en la sección de "ANEXOS" al final del texto, como apoyo a la información brindada. Este informe ya fue revisado y avalado por la Universidad Surcolombiana a través de la Vicerrectoría de Investigación y Proyección Social. Para facilitar la incorporación de estos resultados al informe general que debe entregar la entidad ejecutora a la Secretaría Técnica del OCAD, se muestra un listado de los principales avances en las actividades del proyecto obtenidos durante el sexto trimestre de ejecución:

- Obtención de prórroga de aval del Instituto Nacional de Salud, para la realización de diagnóstico molecular de COVID-19 por RT-qPCR.
- Realización conjunta del "I Curso de Teórico-Práctico de Biología Molecular e Inmunología en Enfermedades de Interés en Salud Pública para el Departamento del Huila: COVID-19 y Dengue", con una significativa participación de los integrantes regionales de la Red de Salud Pública.
- Estandarización y validación de Inmunoensayo ligado a enzima para detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 específica.
- Detección de NS1 de DENV circulante por ELISA en la cohorte de pacientes departamental.

Este informe será radicado también ante la oficina departamental de regalías.

Cualquier inquietud, no dude en contactarme,

Cordialmente,

CARLOS FERNANDO NARVÁEZ MD., Ph.D.
Médico Inmunólogo
Jefe División de Inmunología – Universidad Surcolombiana

GOBERNACIÓN DEL HUILA
SECRETARÍA DE SALUD DEPARTAMENTAL
Comunicaciones Oficiales Frecuentes

Radicado No. 9901 POR SRI
Fecha: Día 30 Mes 03 Año 22
Hora: 2:26
Original: Copia:
Prioridad: Término días: _____
Radicado: [Firma]

VIGILADA MINEDUCACIÓN



MEMORANDO No. 123

1.2-7 VIPS

Neiva, 29 de marzo de 2022

DE: **CARLOS HARVEY SALAMANCA FALLA**
Vicerrector de Investigación y Proyección Social
Universidad Surcolombiana

PARA: **CARLOS FERNANDO NARVÁEZ ROJAS**
Jefe división de inmunología
Departamento de Pediatría y Básicas
Facultad de Salud
Universidad Surcolombiana


Asunto: Visto bueno a informe técnico trimestral proyecto de laboratorio.


Cordial saludo,

De manera atenta, remito para los fines pertinentes, visto bueno del sexto informe técnico correspondiente al proyecto titulado "FORTALECIMIENTO DE CAPACIDADES INSTALADAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA PARA ATENDER PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO PARA LA SALUD HUMANA EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA".

Cordialmente,


CARLOS HARVEY SALAMANCA FALLA
Vicerrector de investigación y Proyección Social


Vo.Bo Laura Melissa Polania Rojas
Asesora Jurídica

Proyectó: María Paula Dussan Oliveros
Asesora proyectos 



Carlos Fernando Narvaez Rojas <cfnarvaez@usco.edu.co>

Aval sexto informe.

1 message

Carlos Fernando Narváez <cfnarvaez@usco.edu.co>

Fri, Mar 25, 2022 at 11:50 AM

To: vicerrectoria de investigaciones y proyeccion social - usco <viceinvestigaciones@usco.edu.co>

Cc: carlos harvey salamanca falla <carlos.salamanca@usco.edu.co>, MARIA PAULA DUSSAN OLIVEROS

<maria.dussan@usco.edu.co>

Cordial saludo,

Con la presente comunicación, hago entrega del sexto informe Técnico Trimestral presentado por la División de Inmunología - Laboratorio de Infección e Inmunidad del proyecto titulado "FORTALECIMIENTO DE LAS CAPACIDADES INSTALADAS DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA PARA ATENDER PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO PARA LA SALUD HUMANA EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA" BPIN 2020000100145, financiado por el SGR. Este va acompañado de todos los soportes que son mostrados en la sección de "ANEXOS" al final del texto, como apoyo a la información brindada. Es sometido a la Vicerrectoría de Investigación para su revisión y obtención del aval para posteriormente ser enviado a la Secretaría de Salud Departamental quien es la entidad ejecutora de la propuesta.

Cualquier inquietud, no duden en contactarme,

Carlos F. Narváez

Médico Inmunólogo

Jefe División de Inmunología

Departamento de Pediatría y Básicas

Universidad Surcolombiana - Hospital Universitario de Neiva.

2 attachments

 **SEXTO INFORME VIPS.pdf**
129K

 **SEXTO INFORME TÉCNICO TRIMESTRAL-fusionado-comprimido.pdf**
5363K

**SEXTO INFORME TÉCNICO TRIMESTRAL PRESENTADO POR LA UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA DEL PROYECTO TITULADO “FORTALECIMIENTO DE
CAPACIDADES INSTALADAS DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN
DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA PARA ATENDER
PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO
PARA LA SALUD HUMANA EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA”.**

BPIN 2020000100145

Carlos Fernando Narváez Rojas

Médico Inmunólogo

cfnarvaez@usco.edu.co

Laboratorio de Infección e Inmunidad (I&I Lab)

División de Inmunología - Programa de Medicina

Facultad de Salud

Universidad Surcolombiana

28 de febrero de 2022

Neiva – Huila

Colombia

TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	4
2.	OBJETIVO ESPECÍFICO 1 (OE1)	5
2.1.	Realizar entrenamiento especializado del talento humano (en identificación y estudio de agentes virales por métodos moleculares y serológicos).....	5
2.2.	Detectar SARS-CoV-2 por métodos moleculares.....	7
2.3.	Realizar la estandarización y validación local de pruebas moleculares para detectar DENV y ZIKV.....	7
2.4.	Efectuar la estandarización y validación de un Inmunoensayo ligado a enzima para detectar anticuerpos IgM e IgG circulantes anti-SARS-CoV-2.....	7
2.5.	Efectuar la estandarización y validación de un Inmunoensayo ligado a enzima para detectar anticuerpos IgG e IgM circulantes anti-DENV y anti-ZIKV.....	21
2.6.	Aplicar las pruebas moleculares/serológicas.....	24
2.7.	Realizar la administración del proyecto.....	25
2.8.	Realizar el apoyo a la supervisión.....	25
3.	OBJETIVO ESPECÍFICO 2 (OE2)	24
3.1.	Gestionar la compra e instalación de equipos.....	24
3.2.	Adquirir insumos para laboratorio.....	26
3.3.	Realizar mantenimiento y calibración de equipos de laboratorio.....	26



3.4.	Adelantar obras de adecuación de espacios.....	26
4.	ANALISIS DE RESULTADOS.....	26
5.	PROBLEMAS Y PROPUESTAS PARA SU SOLUCIÓN.....	27
6.	REFERENCIAS.....	28
7.	ANEXOS	

1. INTRODUCCIÓN

En el sexto Informe Técnico Trimestral presentado por la Universidad Surcolombiana del proyecto titulado “FORTALECIMIENTO DE CAPACIDADES INSTALADAS DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA PARA ATENDER PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO PARA LA SALUD HUMANA EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILA”, BPIN 2020000100145, se detallan las actividades científicas realizadas por la División de Inmunología, Laboratorio de Infección e Inmunidad durante los meses de diciembre 2021, enero y febrero de 2022 en el marco de la propuesta. Durante este trimestre, la pandemia por Coronavirus del síndrome agudo respiratorio severo 2 (SARS-CoV-2, en inglés) continúa. En este periodo se presentó el 4º pico de casos de infección por SARS-CoV-2 en Colombia, dado por la llegada y diseminación de la variante genética Ómicron, altamente infecciosa, pero al parecer con menor letalidad ([Mallapaty S. Nature. 2022](#)). A febrero del 2022, el número total de personas infectadas llega a los 6,062,701 casos y un total de 138,693 casos fatales, y para la fecha de elaboración del presente informe (febrero 2022) la intensidad del 4º pico esta en franco descenso (<https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/Coronavirus.aspx>). En cuanto a los ensayos moleculares para detección de SARS-CoV-2, las dos entidades aliadas cumplieron con suficiencia el número de test planeados en la propuesta. De hecho, la División de Inmunología – Laboratorio de Infección e Inmunidad continua con el aval concedido por el Instituto Nacional de Salud (INS) para realizar ensayos de reacción en cadena de la polimerasa retrotranscrita en tiempo real (RT-qPCR) para detección del genoma viral del SARS-CoV-2 con propósito diagnóstico. Este aval fue prorrogado por el INS hasta diciembre de 2022 (Ver Anexo 1). Por otro lado, se realizó la estandarización y validación de los Ensayos de Inmunoabsorción Ligado a Enzima (ELISA) para detección de IgM e IgG circulantes específicas de SARS-CoV-2 circulante.

Durante los dos primeros meses del 2022, el número de casos de dengue en el Huila ha permanecido dentro del número de casos esperados y la situación del Departamento en cuanto a casos reportados ha permitido establecer que se ha mantenido dentro del canal endémico durante este periodo ([INS. Boletín Epidemiológico Semanal. Semana 7](#)). En lo corrido del 2022, se han notificado en el Huila 270 casos de dengue, 11 de ellos

clasificados clínicamente como dengue grave, lo que posiciona al departamento en el lugar 14 a nivel nacional en número de casos reportados ([INS. Boletín Epidemiológico Semanal. Semana 7](#)). Durante el 6 trimestre de ejecución de la propuesta, se avanzó en la estandarización y validación de métodos para la detección de IgM e IgG específicas de Dengue virus (DENV) y Zika virus (ZIKV). También, con el objetivo de socializar los resultados y transferir conocimientos científicos y técnicos adquiridos con la ejecución de la propuesta, se ofreció a la red de salud pública Departamental el primer curso teórico-práctico de Biología Molecular e Inmunología del COVID-19 y Dengue, actividad que tuvo una gran acogida regional.

En general, durante el 6º trimestre de ejecución se presentan a través de este informe significativos avances en las actividades planeadas de la propuesta. Para un mejor entendimiento de los avances logrados durante este periodo y como ha sido costumbre a través de todos los cinco Informes Técnicos Trimestrales anteriores, se describirán los avances logrados por la División de Inmunología siguiendo el orden de las actividades de cada objetivo planteado en la propuesta.

2. OBJETIVO ESPECÍFICO 1 (OE1).

2.1. Realizar entrenamiento especializado del talento humano (en identificación y estudio de agentes virales por métodos moleculares y serológicos).

Como se ha detallado en los Informes Técnicos Trimestrales N° 2-3-4-5, esta actividad ya se llevó a cabo y el personal vinculado al proyecto recibió formación especializada en centro de virología con alto reconocimiento.

Adicionalmente, durante el trimestre que cubre el presente informe y con el objetivo de transferir conocimiento científico, técnico y tecnológico adquirido con la ejecución del proyecto a la red de salud pública del Departamento del Huila, las entidades aliadas SSDH y la Universidad Surcolombiana en el marco del proyecto ofrecieron el curso titulado **“I Curso Teórico-Práctico de Biología Molecular e Inmunología en**

Enfermedades Virales de Interés en Salud Pública para el Departamento del Huila: COVID-19 y Dengue”, una actividad que tuvo como objetivo fortalecer las bases de Biología Molecular e Inmunología del personal de la red de salud pública departamental aplicadas a los virus de SARS-CoV-2 y Dengue (Ver carta de invitación como Anexo 2). Esta actividad fue dirigida al personal de laboratorio y de salud de Hospitales y Secretarías de Salud Municipales, que tenían los requisitos de tener la mayor regularidad y preferiblemente con nociones básicas de biología molecular. Como Anexo 3 se presenta el acta de aprobación administrativa de la actividad por parte de la Universidad Surcolombiana. Dentro de las temáticas cubiertas por el curso, estaban la epidemiología nacional y regional de las infecciones emergentes y reemergentes por dadas por SARS-CoV-2 y por el dengue virus (DENV), respectivamente, además de principios de fisiopatología de las dos enfermedades virales, mecanismos inmunes, fundamentos diagnósticos basados en biología molecular especialmente la reacción en cadena de la polimerasa retrotranscrita en tiempo real (RT-qPCR), además de métodos basados en anticuerpos para aplicación diagnóstica y en investigación. La programación completa del curso ofrecido se reporta como Anexo 4.

Al curso se inscribieron 25 participantes que provenían de instituciones de salud de Neiva, además de una gran cantidad de Hospitales públicos de los municipios del Huila como Hobo, Colombia, San José de Isnos, Salado Blanco, el Pital, Agrado y Aipe. Soportes de la participación en una de las sesiones, además del listado de asistencia a sesiones del curso, además de los certificados respectivos, se presentan como Anexo 5.

El curso contó con una significativa parte práctica, que se realizó en los Laboratorios aliados donde se fortalecieron aptitudes en principios y técnicas como la purificación de ácidos nucleicos, la amplificación de genes virales por RT-qPCR, la detección de inmunoglobulinas IgG e IgM virus-específicas y la detección de la proteína viral no estructural NS1 por ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA). En el desarrollo de la parte práctica del curso se usó gran parte de la tecnología adquirida por el Departamento del Huila a través de la presente propuesta. Todas las anteriores técnicas tienen alta aplicabilidad en el diagnóstico y la investigación de enfermedades emergentes de etiología viral. Un grupo de Imágenes de las sesiones prácticas del curso son mostradas como Anexo 6.

Con este curso, se mejoraron las capacidades técnicas departamentales para el estudio de enfermedades virales de interés para el Huila, beneficiando a la red de salud pública del

departamento. Además, se transfirió conocimiento científico, técnico y tecnológico adquirido con la propuesta a personal regional del sector salud.

Basados en el consolidado de los resultados anteriormente mostrados, la SSDH y la Universidad Surcolombiana reportan un cumplimiento del 100% en esta actividad.

2.2. Detectar SARS-CoV-2 por métodos moleculares.

Como fue reportado en los Informes Técnicos Trimestrales número 3-4-5, esta actividad se cumplió totalmente, incluso superando los números originalmente propuestos. Por lo anterior reportamos un porcentaje de cumplimiento del 130%.

2.3. Realizar la estandarización y validación local de pruebas moleculares para detectar DENV y ZIKV.

En los Informes Técnicos Trimestrales N° 3 (pag 28 a 38) y N° 4 (pag 13 – 15), se muestra evidencia preliminar de la validación de RT-qPCR para la detección de DENV y ZIKV. Como mostrado en los apartes antes citados, actualmente se cuenta con ensayos moleculares con capacidad de detección de DENV y ZIKV que han demostrado su funcionalidad. Actualmente, la Universidad Surcolombiana esta a la espera de la entrega de algunos insumos por parte de la entidad ejecutora para terminar con esta actividad.

Debido a esto, reportamos un avance del 60% en esta actividad.

2.4. Efectuar la estandarización y validación de un Inmunoensayo ligado a enzima para detectar anticuerpos IgM e IgG circulantes anti-SARS-CoV-2

Estandarización de Ensayo de Inmunoabsorción ligado a enzima para detectar IgM e IgG anti-SARS-CoV-2.

Para realizar esta actividad, se “poolearon” 5 especímenes confirmados positivos para IgM e IgG SARS-CoV-2 específica identificados por Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a

Fluorescencia (ELFA), que es un ensayo estándar de oro aprobado para el uso en humanos. Se conformó otro pool con 5 especímenes confirmados negativos para las 2 inmunoglobulinas.

Inicialmente para detectar IgM SARS-CoV-2, se comparó un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) tipo sándwich con uno indirecto ambos basados en la proteína viral de espícula (Spike en inglés [S]), para comprobar cuál de ellos era más eficiente, usando diluciones seriadas de los “pooles” de especímenes biológicos positivos y negativos previamente confirmados. Como mostrado en la Figura 1, comparado con el ELISA sándwich (mostrado en azul), el ELISA indirecto (mostrado en color rojo), mostró resultados significativamente mejores, con un área bajo la curva (AUC, en inglés) de las diluciones seriadas 6 veces superior a la obtenida con el ELISA sándwich (0.005902 Vs 0.0009893, respectivamente, $P < 0.001$).

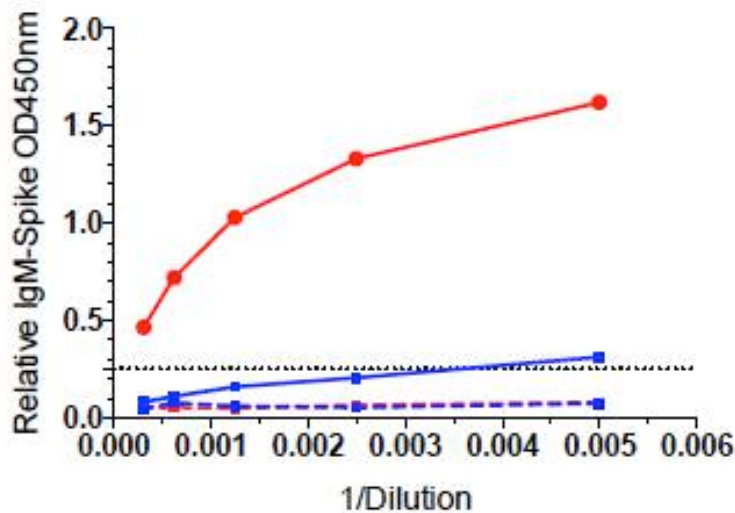


Figura 1. Detección de IgM SARS-CoV-2 humana por ELISA. La cantidad relativa de IgM SARS-CoV-2 en pooles de muestras confirmadas positivas (líneas continuas) y confirmadas negativas (líneas punteadas) fueron detectadas en diluciones seriadas por un ELISA sándwich (línea azul) o un ELISA indirecto (línea roja) usando a la proteína viral S como antígeno. Todas las diluciones fueron hechas por duplicado.

Posteriormente, se comparó la eficiencia de un ensayo de ELISA indirecto que usaba un sistema de detección con anticuerpo secundario acoplado directamente a peroxidasa o acoplado a biotina para detectar IgG específica contra SARS-CoV-2 circulante, usando a la

proteína de “Spike” (S) como antígeno de cubierta. Como mostrado en la Figura 2, los dos sistemas de detección probados tuvieron un efecto dosis-respuesta y un bajo ruido de fondo.

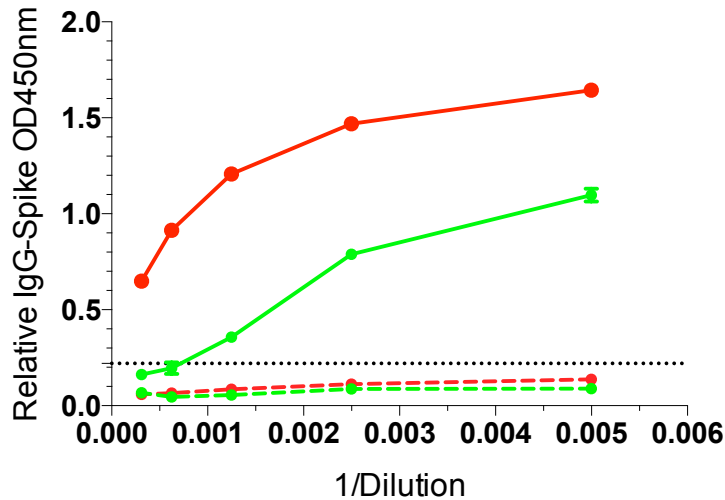


Figura 2. Comparación de 2 sistemas de detección para la detección de la cantidad relativa de IgG SARS-CoV-2 específica circulante. Un ELISA indirecto con un anticuerpo secundario marcado directamente con peroxidasa (línea verde) o marcado con biotina seguido por estreptavidina-peroxidasa (línea roja) fueron comparados usando los pools de muestras positivas (líneas continuas) o confirmadas negativas (líneas punteadas). Como antígeno de cubierta se usó la proteína viral S. Las diluciones seriadas fueron realizadas por duplicado. El promedio es mostrado para cada dilución.

Sin embargo, el sistema biotinilado mostró mucho mayores valores de densidades ópticas leídas a 450nm (OD450nm) que el sistema acoplado directamente a peroxidasa, con una AUC dos veces mayor (0.0064 Vs 0.0032, $P < 0.0001$), soportando su mayor utilidad. Basados en los resultados acá mostrados, para la estandarización del ELISA para IgM e IgG SARS-CoV-2 se seleccionó en ELISA indirecto con un sistema de detección de anticuerpo secundario acoplado a biotina.

Una vez confirmada la utilidad del ELISA indirecto, se determinó la concentración óptima de la proteína recombinante viral usada en el “coating” de los ELISAS para detección de IgM e IgG específica de SARS-CoV-2. Para la IgM se probaron 2 concentraciones de las proteínas virales de Nucleocápside (N) y de “Spike” (S) en diluciones seriadas de los pools confirmados positivos y negativos (Figura 3).

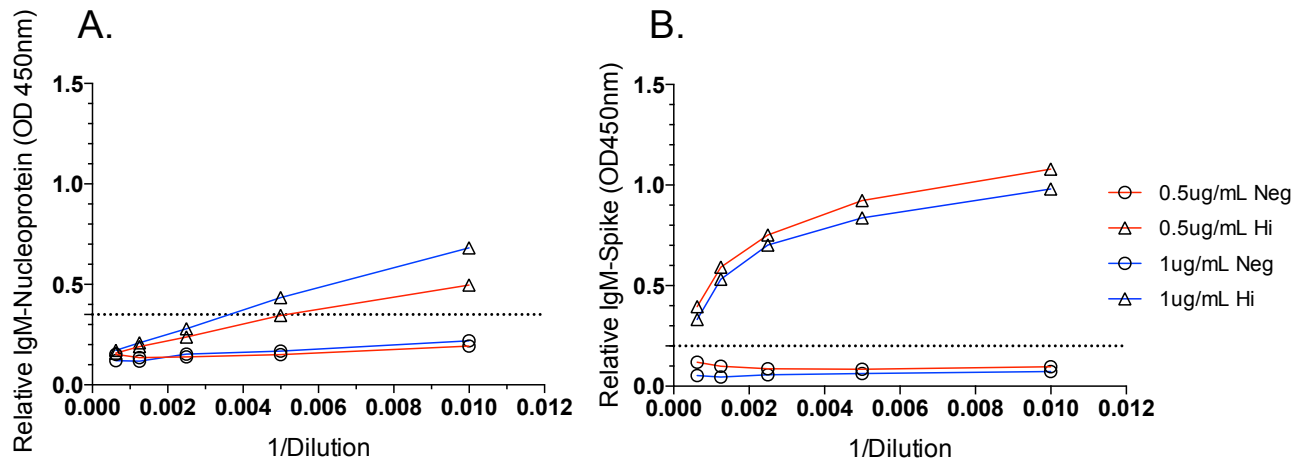


Figura 3. Identificación de la concentración óptima de las proteínas recombinantes virales N y S usadas para el “coating” del ELISA para detección de IgM SARS-CoV-2. Concentraciones de 0.5 ug/mL (línea roja) y 1 ug/mL (línea azul) de la proteína N (A) y S (B), fueron evaluadas usando diluciones seriadas de los pools de especímenes confirmados positivos (Δ) o negativos (O). La línea punteada indica el umbral del ensayo calculado como el doble del promedio de las OD450nm detectadas en los controles negativos. Todas las diluciones se realizaron por duplicado. El promedio es mostrado en cada dilución.

Para la IgM-N específica, se observaron mayores densidades ópticas evaluadas a 450nm (OD450nm) cuando la concentración usada para el cubrimiento fue de 1 ug/mL, comparado con 0.5 ug/mL, en la dilución 1/100 (Figura 3A). Por otro lado, para la IgM-S específica, no se observaron diferencias importantes en las OD450nm obtenidas con las concentraciones de “coating” probadas (Figura 3B).

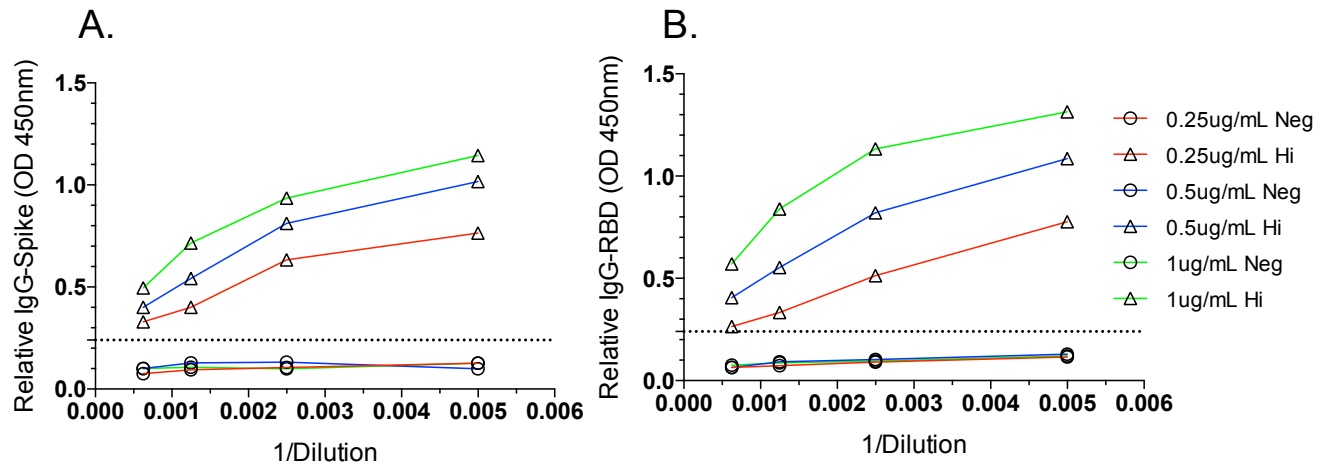


Figura 4. Identificación de la concentración óptima de las proteínas recombinantes virales S y RBD usadas para el “coating” del ELISA para detección de IgG SARS-CoV-2. Concentraciones de 0.25 ug/mL (línea roja), 0.5 ug/mL (línea azul), y 1 ug/mL (línea verde) de la proteína viral S (A) y RBD (B), fueron evaluadas usando diluciones seriadas de los pools de especímenes confirmados positivos (Δ) o negativos (O). La línea punteada indica el umbral del ensayo calculado como el doble del promedio de las OD detectadas en los controles negativos. Todas las diluciones se realizaron por duplicado. El promedio es mostrado en cada dilución.

Adicionalmente, se evaluaron para el “coating” de los ELISAS, 3 concentraciones de proteínas recombinantes de SARS-CoV-2 para la detección de IgG SARS-CoV-2 específica. Las proteínas evaluadas fueron la proteína N, la S y la fracción del dominio de unión a receptor (RBD, en inglés). Este último, es la fracción de la proteína S más específico para detectar IgG SARS-CoV-2, con la menor reactividad cruzada con otros Coronavirus y se ha reportado en algunos casos correlación de la IgG-RBD con los títulos de anticuerpos neutralizantes en infección natural y vacunación (Katarzyna Macida A et al. *Front in Immunol.* 2022. Yuan M et al. *Biochem Biophy Res Commun.* 2021).

Como notado en la Figura 5, una relación dosis-efecto fue observada entre las distintas concentraciones de N, S y RBD probadas. A mayores dosis para el cubrimiento, se obtuvieron mayores OD450nm de IgG SARS-CoV-2 específica. Una clara diferencia en la relación ruido de fondo/señal entre los pools de muestras confirmadas positivas y negativas,

respectivamente, fue observada en las distintas diluciones de plasma probadas (Figura 5) para las 3 proteínas virales.

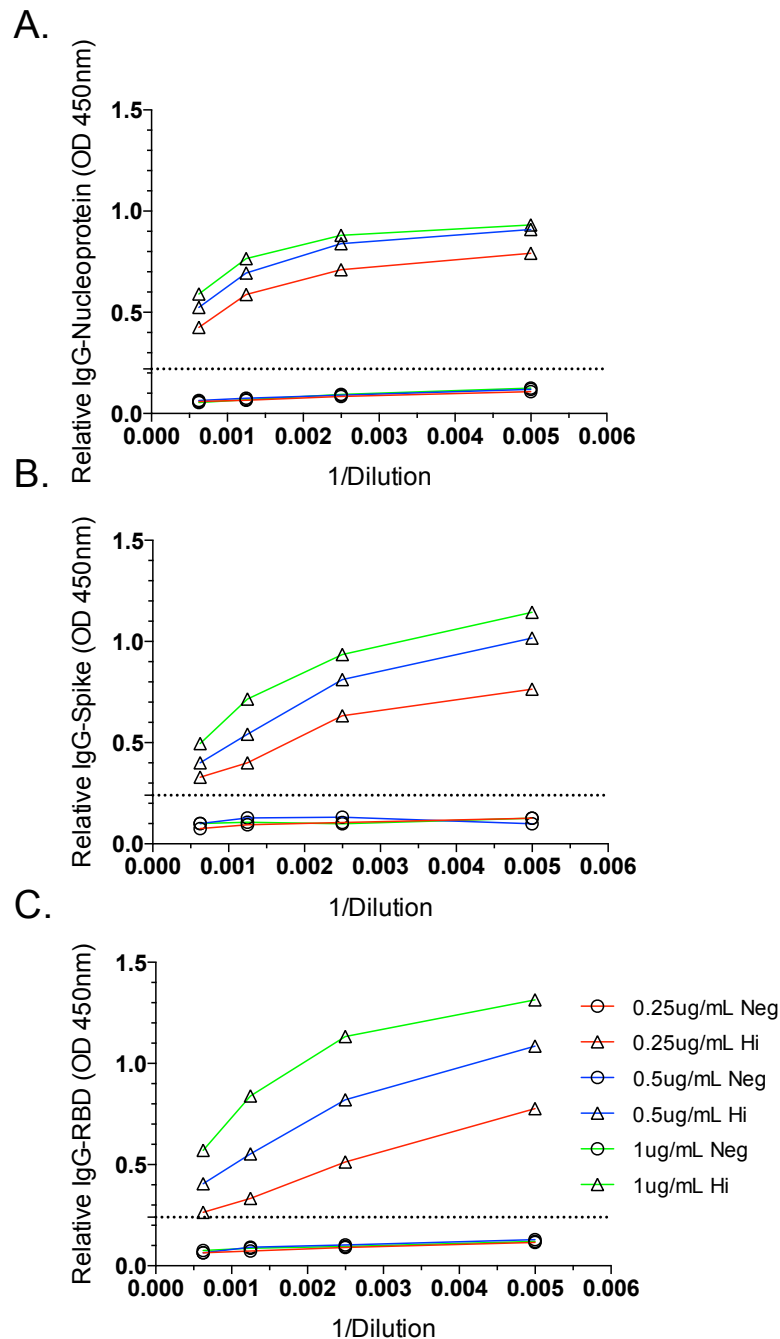


Figura 5. Identificación de la concentración óptima de las proteínas recombinantes virales N (A), S (B) y RBD (C) usadas para el “coating” del ELISA para detección de IgG SARS-CoV-2 específica circulante. Concentraciones de 0.25 ug/mL (línea roja), 0.5 ug/mL (línea azul), y 1 ug/mL (línea verde), fueron evaluadas usando diluciones seriadas de los pools de

especímenes confirmados positivos (Δ) o negativos (O). La línea punteada indica el umbral del ensayo calculado como el doble del promedio de las OD450nm detectadas en los controles negativos. Todas las diluciones se realizaron por duplicado. El promedio es mostrado en cada dilución.

Para las 3 proteínas virales probadas, la mayor AUC fue obtenida cuando la concentración usada para el coating fue de 1 ug/mL (Figura 5). Sin embargo, esta diferencia fue mucho mayor cuando se usó como antígeno a las proteínas S y RBD en todas las concentraciones de coating evaluadas (Figura 5). Basados en estos resultados, se seleccionó una concentración de coating de 1 ug/mL y a las proteínas S y RBD en un sistema indirecto biotinilado para realizar la validación de los ensayos de ELISA para detección de IgG SARS-CoV-2 específica circulante. El protocolo final para la detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 específicas circulantes por ELISA, aprobado por los sistemas de calidad de la Universidad, se muestra como (Anexo 7).

Validación del Ensayo de Inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) para detectar IgM e IgG SARS-CoV-2 específica circulante.

Como ha sido informado en los Informes Técnicos Trimestrales anteriores, para realizar la validación de los ensayos de ELISA para detectar IgM e IgG virus-específica se reunieron grupos de especímenes clínicos de pacientes previamente caracterizados con infección natural confirmada o descartada por SARS-CoV-2 mediante métodos moleculares y serológicos comerciales que fueron usados como estándar de oro. Como muestras confirmadas negativas para la infección por SARS-CoV-2 se incluyeron además plasma de voluntarios sanos prepandémicos, que fueron tomados entre el 2011 y 2014 (Tabla 1), pertenecientes al repositorio de la División de Inmunología de la Facultad de Salud de la Universidad Surcolombiana. Adicionalmente, 45 especímenes clínicos de plasma de pacientes con sintomatología respiratoria entre el 3 – 7 día de inicio de los síntomas y tomados en el 2013, fueron incluidos para probar los niveles de reactividad cruzada de los ensayos (Tabla 1). La Tabla 1 muestra el número y características de las muestras usadas para la validación de los respectivos ELISAS.

Tabla 1. Características de los especímenes usados para la validación de los ensayos de ELISA para detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 específica.

	RT-qPCR	RT-qPCR ^a y ELFA ^b	Sanos prepandémicos	Respiratorios prepandémicos	Total
Positivas	68	84	0	0	152
Negativas	19	96	66	45	226
Total	87	180	66	45	378

- Reacción en cadena de la polimerasa retrotranscrita en tiempo real.
- Ensayo de inmunoabsorción ligado a fluorescencia para IgM e IgG SARS-CoV-2 (VIDAS® SARS-CoV-2 IgM, ref: 423833-01; VIDAS® SARS-CoV-2 IgG, ref: 423834-01. Biomérieux, Lyon, Francia).

Inicialmente, usando los protocolos de detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 anteriormente estandarizados, se analizaron muestras de plasma de pacientes hospitalarios con RT-qPCR negativa y positiva para SARS-CoV-2. Es conocido que las inmunoglobulinas específicas para SARS-CoV-2 aparecen en un alto porcentaje después de la primera semana de iniciado los síntomas ([Lee YL et al. J Infection. 2020](#)). Por lo tanto, los pacientes hospitalarios confirmados con COVID-19 por RT-qPCR a su vez fueron divididos en aquellos cuya muestra de plasma fue tomada antes o después del día 10 de inicio de los síntomas. En ellos se realizó el ensayo de ELISA para detectar IgM e IgG virus-específica.

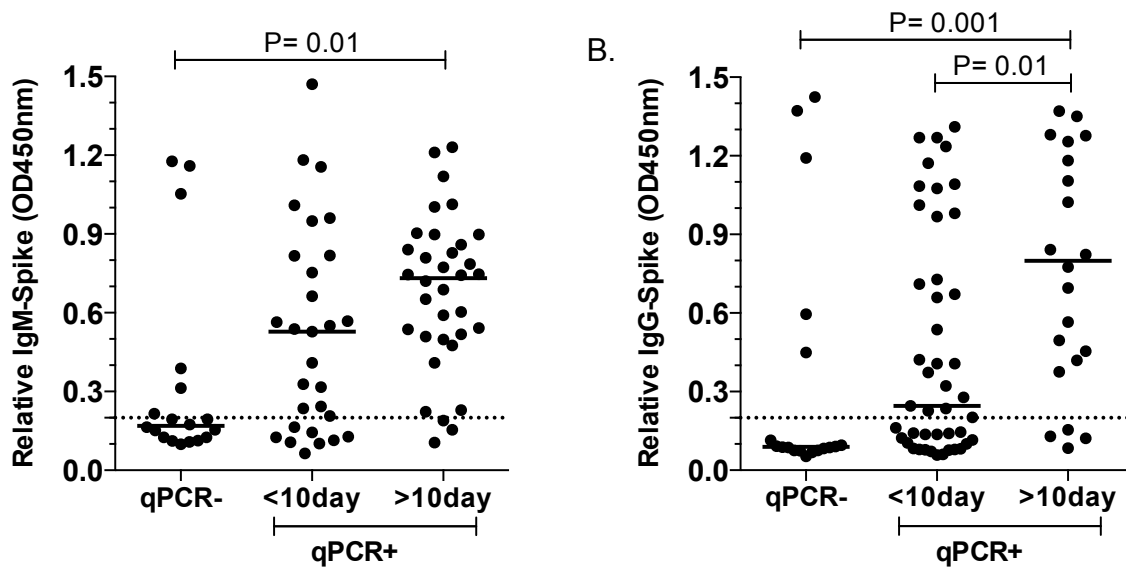


Figura 6. Detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 en pacientes hospitalizados con COVID-19 confirmados por RT-qPCR. Pacientes fueron divididos en RT-qPCR- y RT-qPCR+. A su vez, los pacientes positivos fueron separados según el tiempo de inicio de síntomas en <10 y >10 días. La línea punteada muestra el valor considerado el punto de cohorte. El valor de P con el post-test de Dunns es mostrado.

Los resultados de la IgM virus-específica para la proteína viral S fueron claros y en los pacientes con infección confirmada <10 y >10 días, el % de pacientes positivos fue del 65 y 95%, respectivamente, con una diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes RT-qPCR- y los pacientes positivos evaluados después del día 10 ($P=0.01$, Figura 6). Para la IgG SARS-CoV-2 específica, se observó también un incremento en el porcentaje de pacientes positivos cuando se compararon los grupos confirmados positivos tomados <10 con los >10 días (55% Vs 85%, $P=0.01$), Figura 6. Los anteriores resultados demuestran la utilidad del ELISA para IgM e IgG SARS-CoV-2 específica acá estandarizado para el análisis de pacientes hospitalarios con infección natural y su capacidad de detectar Inmunoglobulinas inducidas por la infección después de la primera semana de iniciados los síntomas.

Comparación del Ensayo de Inmunoabsorción ligado a enzima para detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 específica y el ensayo de inmunoabsorción ligado a fluorescencia.

Finalmente, para validar el ELISA para IgM e IgG basado en proteínas recombinantes de SARS-CoV-2 estandarizado aquí, se comparó su desempeño en especímenes caracterizados previamente a quienes se les había evaluado las inmunoglobulinas específicas por ELFA. Como mostrado en la Tabla 1, un total de 180 especímenes contaban con evaluación por RT-qPCR, además de ELFA para IgM e IgG. De ellos, 85 fueron dobles positivos (IgM+IgG+ SARS-CoV-2) y 95 correspondieron a casos negativos confirmados.

A las 180 muestras caracterizadas, se les realizó la detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 específica para al menos 2 proteínas estructurales virales, usando los ELISAS previamente estandarizados.

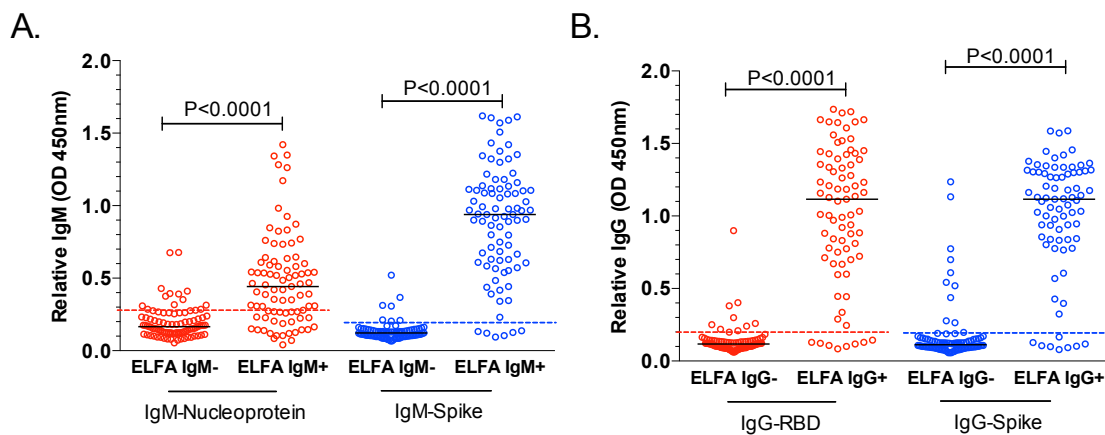


Figura 7. Detección de IgM SARS-CoV-2 en muestras previamente caracterizadas por ELFA. A. Para la IgM se usó a las proteínas N y S para su detección. B. La IgG SARS-CoV-2 específica fue detectada usando a las proteínas RBD y S. Línea continua en cada grupo corresponde a la mediana. Línea punteada, marca el doble del promedio de las OD450nm encontradas en los controles negativos. El valor de P encontrado con la prueba de Mann-Whitney es mostrado.

Las muestras caracterizadas fueron divididas en negativas y positivas para IgM, determinadas por ELFA (Figura 7A). Para la IgM SARS-CoV-2 detectada por ELISA, niveles significativamente altos de IgM-N e IgM-S fueron encontrados en los especímenes clasificados como positivos por ELFA ($P < 0.0001$, Mann-Whitney test). Sin embargo, un menor ruido de fondo, más altas OD450nm y mayor relación ruido de fondo/señal fue encontrada en los ELISA para IgM-S, comparado con la IgM-N (Figura 7). Adicionalmente, el número de muestras negativas por ELISA en el grupo de positivas por ELFA fue significativamente menor

cuando se detectó la IgM-S comparado con la IgM-N ($P < 0.001$, test exacto de Fisher). Soportado en los anteriores resultados, se puede concluir que el ELISA para detección de IgM basado en la proteína S tiene un mejor desempeño comparado con el ensayo que evalúa la IgM-N (Figura 7).

Posteriormente, se evaluaron las correlaciones entre los valores de IgM (Figura 8A) e IgG (Figura 8B) SARS-CoV-2 específicas entre los ELISAS y el estándar de oro usado (ELFA).

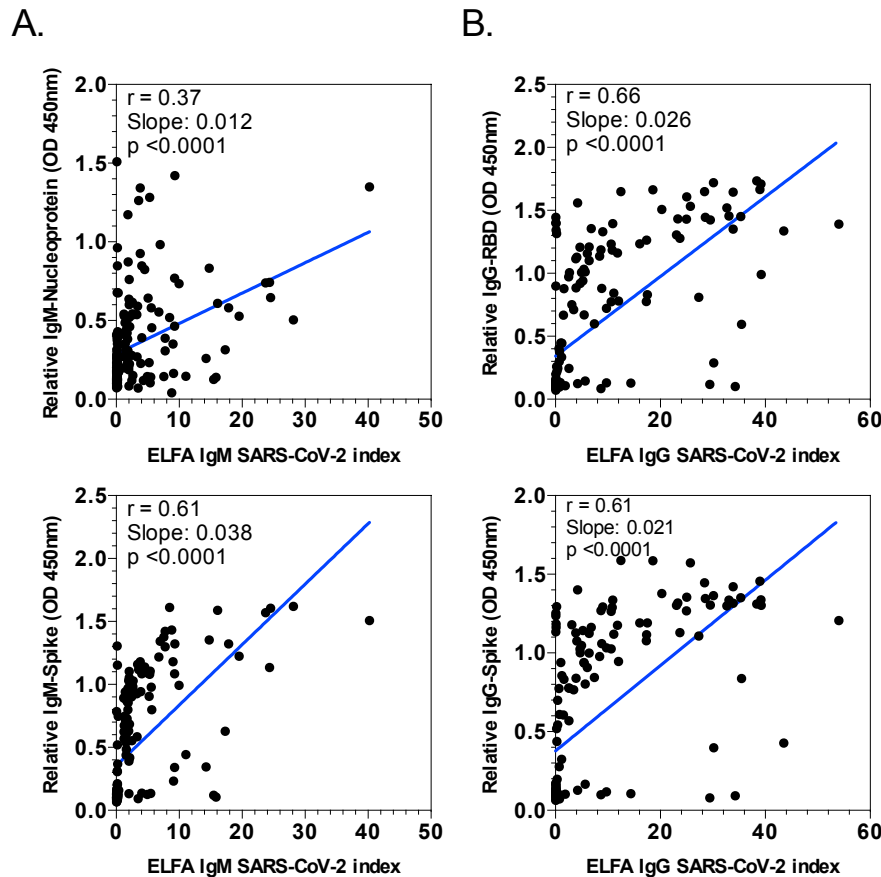


Figura 8. Correlación entre los valores de IgM (A) e IgG (B) SARS-CoV-2 específica entre el ELISA estandarizado acá y el estándar de oro usado. Valor del coeficiente de correlación de Pearson (r), pendiente y P, son mostrados para cada caso.

Una variable, pero muy significativa relación en los niveles de IgM e IgG SARS-CoV-2 entre el ELISA y el ELFA, dependiendo de la proteína viral usada fue identificada (Figura 8). Como se muestra en la Figura 8, el coeficiente de correlación de Pearson (r) para la IgM-N, IgM-S, IgG-RBD e IgG-S cuando se compararon con el ELFA fue de 0.37, 0.61, 0.66 y 0.61,

respectivamente. Como observado en la Figura 8, el menor coeficiente de correlación fue encontrado entre el ELISA IgM-N y el ELFA ($r=0.37$, $P<0.0001$), mientras que el mayor correspondió al ELISA IgG-RBD y ELFA SARS-CoV-2 ($r=0.66$, $P<0.0001$). Esto puede ser debido a la proteína antigénica usada como base de la detección, ya que, en el último caso, el fragmento RBD es usado para detección de la IgM e IgG tanto en el ELISA como en el ELFA (VIDAS® SARS-CoV-2 IgM, ref: 423833-01; VIDAS® SARS-CoV-2 IgG, ref: 423834-01. Brochure. Biomérieux, Lyon, Francia).

Posteriormente, todos los especímenes incluidos para la validación de los ELISAS para IgM e IgG SARS-CoV-2 circulante, fueron analizados siguiendo los siguientes criterios:

Prepandémicos: Correspondió a especímenes de voluntarios sanos tomados en el año 2013 (mucho antes de la pandemia). Adicionalmente, para probar el nivel de reactividad cruzada en los ELISA, también se incluyeron muestras clínicas de pacientes pediátricos hospitalizados por sintomatología respiratorio tomadas en el año 2012.

Pandémicos: Correspondió a especímenes clínicos tomados durante la pandemia (2020-2021). Este se dividió a su vez en pacientes no expuesto, quienes fueron muestras con resultados de ELFA y/o RT-qPCR negativos y pacientes expuestos que correspondió a pacientes ELFA y/ RT-qPCR positivas, quienes tuvieron diferente grado de severidad de COVID-19, que va desde infección asintomática, pasando por leve con manejo ambulatorio, hasta COVID-19 grave, que requirió manejo en Unidad de Cuidado Intensivo (UCI).

Como mostrado en la Figura 9, una evidente y significativa reactividad fue notada en los pacientes Pandémicos, en comparación con los Prepandémicos, soportando especificidad de los ensayos probados. En los dos grupos de pacientes Prepandémicos, poca reactividad en IgM fue encontrada. Esta reactividad cruzada fue considerablemente más alta para la IgM-N que para la IgM-S (Figura 9). Una fracción de muestras Pandémicas consideradas No-expuestas mostraron presencia de IgM e IgG a las proteínas evaluadas. Esto posiblemente es debido a pacientes con resultado de RT-qPCR negativa debido a que fue tomada tardíamente desde el inicio de los síntomas. Así que pueden corresponder a pacientes naturalmente infectados, con prueba de RT-qPCR negativa por la dinámica de la carga viral y que desarrollaron finalmente respuesta de sistémica de anticuerpos virus-específicos (Figura 9).

Por otro lado, la IgG-RBD e IgG-S, mostraron muchos más bajos niveles de reactividad cruzada en las muestras Prepandémicas, que la IgM-N (Figura 9). Como esperado, masiva respuesta de IgG SARS-CoV-2 se detectó en los pacientes Pandémicos. Al igual que para la IgM, unos pocos pacientes Pandémicos considerados como No-expuestos, mostraron niveles claramente detectables de IgG virus-específica, posiblemente por la razón explicada arriba para la IgM.

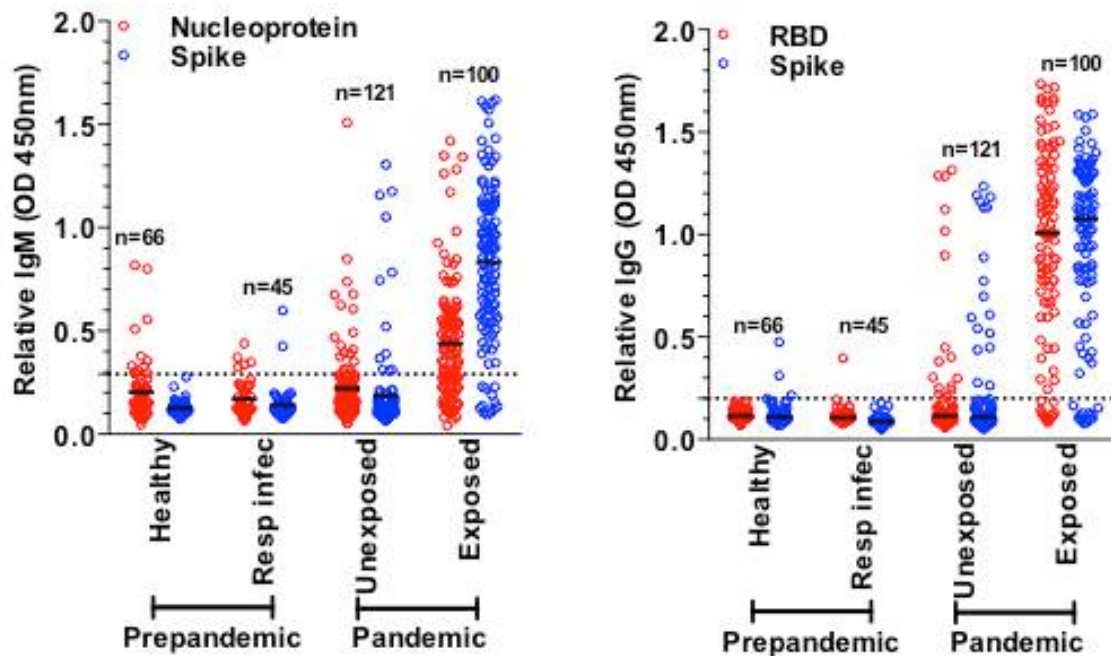


Figura 9. Evaluación de IgM-N (plot izquierdo, puntos rojos), IgM-S (plot izquierdo, puntos azules), IgG-RBD e IgG-S (derecha, puntos rojos y azules, respectivamente) en especímenes clínicos tomados antes (Prepandemic) o durante la Pandemia de COVID-19 (Pandemic). Línea continúa corresponde a la mediana. Línea punteada corresponde al valor de referencia usado para identificar muestras positivas y negativas, que correspondió al doble del promedio de la OD450nm encontrado en los controles negativos.

En los pacientes Pandémicos, tanto para la IgM como para la IgG virus-específicas evaluadas, sus valores fueron mucho más elevados en los pacientes expuestos comparado con los no expuestos (Figura 9). Finalmente, en cuanto a la IgM, la magnitud de la respuesta fue significativamente más alta, cuando la proteína viral usada en el ensayo fue la proteína S (Figura 9). En resumen, los patrones de reactividad de la IgM e IgG SARS-CoV-2 específica,

conducen con la dinámica de aparición del COVID-19 y en general, los ensayos desarrollados acá mostraron una baja reactividad cruzada (en especial para la IgG).

Finalmente, se analizó la concordancia, índice Kappa, sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de los ELISAS para IgM e IgG SARS-CoV-2. Los pacientes analizados fueron los siguientes:

Pacientes confirmados negativos: ELFA negativos + Sanos Prepandémicos: 96 + 66 = 162

Pacientes confirmados positivos: ELFA positivos = 84.

Total: 246 pacientes.

Usando el website de análisis estadístico computacional VassarStats (<http://vassarstats.net/>), se realizaron los análisis para cada una de los ELISAS estandarizados acá: IgM-N, IgM-S, IgG-RBD y finalmente IgG-S. Todos y cada uno de los soportes de la forma como se obtuvieron los resultados, son mostrados en la sección de anexos (Anexo 8). En resumen, del análisis de las tablas de contingencia de 2x2 mostradas en el Anexo 8, se obtuvieron en los siguientes resultados:

Tabla 2. Resumen de los resultados de validación de los métodos de ELISA para IgM e IgG SARS-CoV-2 específica circulantes, estandarizados en este trabajo.

Tipo de test	Concordancia	Índice Kappa	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
IgM SARS-CoV-2						
IgM-Nucleoprotein	81.3%	0.58 (0.47-0.69)	72.6%	85.8%	72.6%	85.8%
IgM-Spike	94.3%	0.87 (0.81-0.93)	90.6%	96.2%	92.8%	95%
IgG SARS-CoV-2						
IgG- RBD	95.1%	0.88 (0.82-0.94)	91.1%	97.6%	94.7%	95.8
IgG-Spike	94.2%	0.87 (0.81-0.94)	88.8%	97.5%	94.7%	94.7

VPP: Valor predictivo positivo; VPN: Valor predictivo negativo.

Como mostrado en la Tabla 2, 4 métodos de ELISA para detección de Inmunoglobulinas SARS-CoV-2 específicas fueron estandarizados y validados. Dos para detectar IgM y dos para detectar IgG virus específica. De notar, el método con los más pobres resultados fue el ELISA basado en proteína N (Tabla 2), con una concordancia e índice Kappa considerado como moderado (0.58). Los restantes 3 métodos tuvieron un grado de acuerdo con el estándar de oro usado, obtenido a través del índice Kappa >0.92 , que es considerado como casi perfecto (Abraira V. Semergen. 2000). Un soporte fotográfico de la estandarización y validación de los ensayos es mostrado como Anexo 9.

Teniendo en cuenta los resultados anteriormente mostrado, reportamos un avance y cumplimiento en esta actividad del 100%.

2.5. Efectuar la estandarización y validación de un Inmunoensayo ligado a enzima para detectar anticuerpos IgG e IgM circulantes anti-DENV y anti-ZIKV.

En el segundo Informe Técnico Trimestral sometido por la División de Inmunología a la entidad ejecutora se presentaron resultados preliminares del ELISA para detección de Inmunoglobulinas específicas para la proteína no estructural 1 (NS1, en inglés) para DENV y ZIKV. En ellos se demostró la especificidad del ensayo a través de ensayos de inhibición competitiva usando anticuerpos monoclonales específicos contra NS1 de DENV1-4 y ZIKV (Figuras 7, 8 y 9, Segundo Informe Técnico Trimestral). Durante el presente trimestre, profundizamos en la estandarización del ELISA para IgM e IgG para DENV y ZIKV. Para esto, comparamos la eficiencia del uso de un sistema de detección que usa anticuerpo secundario biotinilado y otro que usa uno acoplado a peroxidasa en muestras de plasma de pacientes con infección confirmada o descartada por PCR y caracterizados previamente para la IgM e IgG DENV. Como muestra la Figura 10, valores más altos fueron encontrados con el ensayo desarrollado aquí, en los pacientes caracterizados como positivos en comparación con los negativos. En cuando al sistema de anticuerpo secundario acoplado a biotina y el acoplado a peroxidasa (dilución 1/2,000), una significativa diferencia fue notada, con valores de OD450nm más altos para el sistema basado en anticuerpos secundario biotinilado (Figura 10).

indirecto. Con lo anterior, un diseño indirecto, con sistema biotinilado, a una concentración de 2ug/mL para el “coating” fueron condiciones seleccionadas para ser usadas en el ELISA para detectar IgM DENV específica circulante.

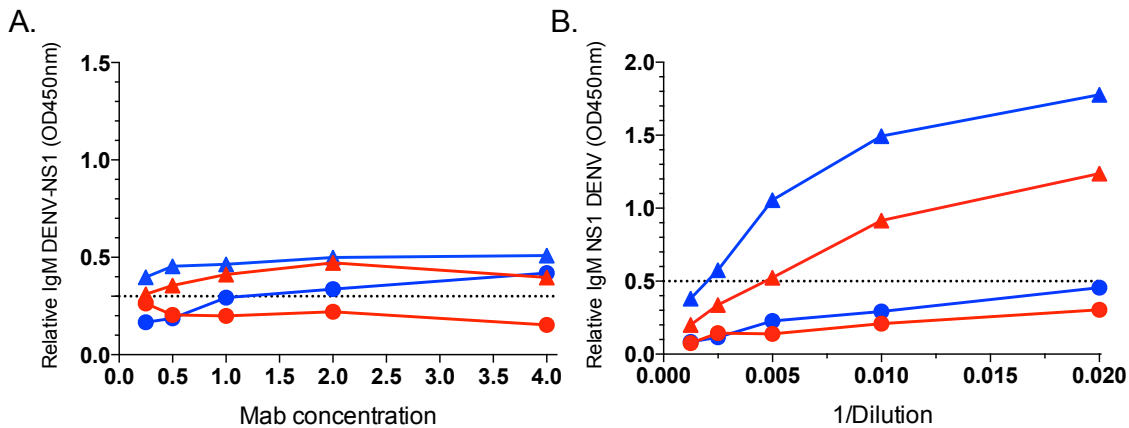


Figura 11. Estandarización del ensayo de ELISA basado en NS1 para detección de IgM DENV específica circulantes. Un ELISA sándwich (A) y un ELISA indirecto (B) fueron probados. Pool de 5 pacientes IgM negativos (círculos) y 5 pacientes IgM DENV positivos (triángulos), fueron evaluados. En el ELISA sándwich (izq) se probaron diferentes concentraciones del anticuerpo monoclonal (Mab) anti-NS1 pandengue (DA034, Native Antigen Co, Inglaterra), además de 1ug/mL (línea roja) o 2ug/mL de NS1 DENV1-4. En el ELISA indirecto (der), se probaron diluciones seriadas de 2 concentraciones de NS1 DENV1-4 para la cubierta del ensayo: 1ug/mL (rojo) y 2ug/mL (azul). Línea punteada representa el doble del ruido de fondo.

Basados en los resultados anteriores, incluidos los mostrados en los anteriores Informes Técnicos trimestrales, se estandarizaron los ensayos de inmunoabsorción ligados a enzima para detectar IgM e IgG basados en NS1 contra Flavivirus. Próximamente se realizará la validación usando especímenes clínicos previamente caracterizados.

Teniendo en cuenta los resultados mostrados anteriormente, reportamos un avance del 60% en esta actividad.

2.6. Aplicar las pruebas moleculares/serológicas

En el quinto Informe Técnico Trimestral sometido por la Universidad Surcolombiana, se reportó la caracterización clínica y paraclínica de los pacientes incluidos en el repositorio del Grupo de Parasitología y Medicina Tropical y planeados en el documento técnico de la propuesta. Correspondió a más de 2,000 pacientes, la gran mayoría de ellos pediátricos que provenían de todo el departamento con sospecha de infección por DENV, que cubren el espectro clínico completo, desde dengue hasta dengue grave y a quienes se les analizaron marcadores clínicos, celulares y bioquímicos de dengue (quinto Informe Técnico Trimestral, Tabla 2, Figura 4 y 5).

Durante el presente trimestre, se evaluaron los niveles de antigenemia (NS1 circulante por ELISA comercial) en una fracción de los pacientes incluidos en el proyecto. Los seleccionados fueron pacientes con sospecha clínica inicial de infección por DENV, que acudieron aun primer nivel y se manejaron ambulatoriamente. La Tabla 2, muestra los pacientes junto con el respectivo análisis de antígeno viral circulante:

Tabla 2. Evaluación de la antigenemia en pacientes con diagnóstico clínico de infección por DENV.

NS1 circulante	# Pacientes
Negativos	125
Indeterminados	12
Positivos	203
Total	340

De notar, sobre estos pacientes a quien ya se les evaluó la antigenemia, se analizará la concordancia con la viremia evaluada por RT-qPCR.

Con los anteriores avances reportamos un avance del 50% en el cumplimiento de esta actividad.

2.7. Realizar la administración del proyecto

Como responsable del componente científico y representante de la entidad aliada (Universidad Surcolombiana) ante la Secretaría de Salud Departamental (entidad ejecutora), se ha participado en la planeación y obtención de resultados en el aspecto científicos, según plan original, siguiendo el documento técnico. Se ha participado activamente en todas las mesas técnicas de la propuesta, como por ejemplo la realizada en el mes de febrero de 2022. Es de notar que la administración, supervisión y apoyo a la supervisión del proyecto lo está llevando a cabo la Secretaría de Salud Departamental como entidad ejecutora de la propuesta.

2.8. Realizar el apoyo a la supervisión

Desde la entidad ejecutora se ha recibido información que se designó a un profesional para adelantar el apoyo a la supervisión de la propuesta, ambas actividades llevadas a cabo por la entidad ejecutora. El porcentaje de avance en esta actividad será reportado por la SSDH.

3. Objetivo específico 2 (OE2): Fortalecer la Infraestructura para el desarrollo de investigación para atender problemáticas asociadas con agentes biológicos de alto riesgo para la salud humana del departamento del Huila.

3.1. Gestionar la compra e instalación de equipos

Todos los equipos planeados originalmente en el proyecto fueron adquiridos y entregados a las entidades aliadas. Estos han sido usados para obtener todos los resultados mostrados en los Informes Técnicos Trimestrales, demostrando su total operatividad y eficiencia en el cumplimiento de las actividades planeadas.

Reportamos cumplimiento del 100% en la actividad.

3.2. Adquirir insumos para laboratorio

La gran mayoría de los recursos destinados para la adquisición de reactivos e insumos, ya han sido ejecutados. Su apropiado uso se demuestra en los informes Técnicos Trimestrales.

Actualmente esta en fase de contratación la adquisición algunos reactivos para Flavivirus. Desde la entidad ejecutora se informa que las vías de contratación han debido ajustarse debido a la entrada en vigencia de la ley de garantías electorales.

Teniendo en cuenta la cantidad del presupuesto destinado para adquisición de insumos de laboratorio ejecutado a la fecha, se reporta un cumplimiento de la actividad de un 90%.

3.3. Realizar mantenimiento y calibración de equipos de laboratorio.

El mantenimiento y la calibración de equipos usados para el cumplimiento de las actividades planeadas en la propuesta, ya se llevó a cabo.

Reportamos cumplimiento del 100% para esta actividad.

3.4. Adelantar obras de adecuación de espacios.

Desde la entidad ejecutora se ha informado que el proceso de contratación esta avanzando. Hay 2 oferentes que cumplen requisitos. Se espera inicio de adecuaciones pronto. Información más precisa debe ser proporcionada por la entidad ejecutora. Este tema ha sido tratado múltiples veces en las Mesas Técnicas.

Reportamos desde la entidad aliada un 40% de avance en el cumplimiento de esta actividad.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Durante el periodo de tiempo cubierto por el presente informe se realizaron significativos avances en las actividades de la propuesta. Específicamente, se ofreció el primer curso teórico-práctico en Biología Molecular e Inmunología de COVID-19 y Dengue a los miembros de la red departamental de salud pública. Esta actividad tuvo una significativa acogida, con participantes provenientes de los Hospitales y laboratorios particulares de un amplio número de Municipios del Departamento, además de la ciudad de Neiva. Con esta actividad se buscó fortalecer las capacidades de respuesta regional a la presente y futuras emergencias causadas por

enfermedades virales emergentes y reemergente, además de socializar y transferir los conocimientos logrados a través de la ejecución de la presente propuesta.

Se logró también estandarizar y validar varios ensayos de inmunoabsorción ligados a enzima para detectar IgM e IgG SARS-CoV-2 específica en pacientes con COVID-19 que varió de asintomático hasta grave. De los 4 ensayos estandarizados, 3 mostraron una sensibilidad y especificidad $\geq 90\%$.

En cuanto a Flavivirus, se logró estandarizar y probar Ensayos de Inmunoabsorción ligados a Enzima basados en la proteína viral NS1. Ellos pasarán a fase de validación.

5. PROBLEMAS Y PROPUESTAS DE SOLUCIÓN

En el periodo de ejecución del sexto Informe Técnico Trimestral, se presentaron los siguientes inconvenientes:

- Retraso en la contratación de los últimos insumos destinados al cumplimiento de las actividades relacionadas con los Flavivirus.
- Continúa el retraso en la contratación de las adecuaciones, aunque se han presentado avances en el proceso. Estos dos aspectos han sido tratados regularmente en las agendas de las Mesas Técnicas.

6. REFERENCIAS

Mallapaty Smriti. Where did Omicron come from? Three key theories. Nature. 2022. 602, 26:28.

Agnieszka Katarzyna Maciola, Massimo La Raja, Monia Pacenti, Cristiano Salata, Giustina De Silvestro, Antonio Rosato and Giulia Pasqual. Neutralizing Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Recovered COVID-19 Patients Are Variable and Correlate With Disease Severity and Receptor-Binding Domain Recognition. Frontier in Immunology. January 2022. Volume 13. Article 830710.

Yuan M, Liu H, Wu NC, Wilson IA. Recognition of the SARS-CoV-2 receptor binding domain by neutralizing antibodies. Biochem Biophys Res Commun. 2021 Jan 29;538:192-203. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.10.012. Epub 2020 Oct 10.

Lee YL, Liao CH, Liu PY, Cheng CY, Chung MY, Liu CE, Chang SY, Hsueh PR. Dynamics of anti-SARS-Cov-2 IgM and IgG antibodies among COVID-19 patients. J Infect. 2020 Aug;81(2):e55-e58. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.019. Epub 2020 Apr 23.

VIDAS® SARS-CoV-2 IgM, ref: 423833-01; VIDAS® SARS-CoV-2 IgG, ref: 423834-01. Brochure. Biomérieux, Lyon, Francia.

Abraira V. El índice Kappa – Notas estadísticas. SEMERGEN. 2000. 27 (5) : 247 – 249.

ANEXO 1.

MODIFICACIÓN Y PRORROGA No. 2 AL CONVENIO 41 DE 2020

MARTHA LUCIA OSPINA MARTINEZ, mayor de edad y vecina de Bogotá D.C., identificada con la cédula de ciudadanía No. 66.826.687, quien actúa en nombre y representación del **INSTITUTO NACIONAL DE SALUD - INS**, en su carácter de Directora General debidamente nombrada el 27 de abril de 2016 mediante el Decreto 704, y posesionada el 2 de mayo de 2016 del Instituto Científico y Técnico, con personería jurídica, autonomía administrativa y patrimonio propio, reestructurado mediante Decreto 4109 de 2011, con NIT No. 899.999.403 - 4, adscrito al Ministerio de Salud y Protección Social, por una parte, y por la otra, **LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA** con NIT No 891180084 - 2 representada legalmente por **EDUARDO PASTRANA BONILLA**, domiciliado (a) en **NEIVA**, mayor de edad, identificado con la cédula de ciudadanía No. 12.114.925 de **NEIVA**, en su calidad de Representante legal de **LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA**, y ambos denominados "Las Partes" han acordado suscribir el presente OTROSÍ de Modificación al convenio de cooperación No. 41 de 2020, previas las siguientes consideraciones:

Que el Instituto Nacional de Salud y LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA Suscribieron el convenio especial de cooperación No. 41 de 2020, cuyo objeto fue "Aunar esfuerzos técnicos entre el Instituto Nacional de Salud-INS y EL LABORATORIO DE INFECCION E INMUNIDAD DE LA UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA para la realización de la prueba de PCR en tiempo real (RT-qPCR) para diagnóstico de SARS-CoV-2 (COVID-19).

Que mediante Resolución 385 del 12 de marzo de 2020, el Ministro de Salud y Protección Social, de acuerdo con lo establecido en el artículo 69 de la Ley 1753 de 2015, declaró el estado de emergencia sanitaria por causa del nuevo coronavirus COVID-19 en todo el territorio nacional hasta el 30 de mayo de 2020, emergencia que ha sido prorrogada sucesivamente, estando actualmente vigente hasta el 30 de noviembre de 2021.

Que ante la contingencia diferentes sectores, universidades y centros de investigación en el marco de la responsabilidad social y en pro de la salud pública han ofrecido su colaboración al INS con el fin de apoyar las actividades dispuestas para la atención de la emergencia sanitaria, a través de convenios de cooperación cuya fecha de finalización quedo establecida hasta el 31 de diciembre de 2021.

Que los Supervisores del mencionado Convenio, con el visto bueno de la directora de Redes en Salud Pública doctora Astrid Carolina Flórez y de la doctora Marcela Mercado Reyes, en calidad de directora técnica de la Dirección de Investigación en Salud Pública, a través de escrito de fecha 8 de noviembre de 2021, allegado a la Oficina Asesora Jurídica solicitan la modificación y prórroga del convenio, documento que hace parte integral de la presente modificación, soportada en que:

"Con el fin de seguir avanzando en el fortalecimiento de la respuesta a la emergencia sanitaria presentada por la COVID-19 y generar conocimientos en salud pública orientados a mitigar los efectos de la pandemia por SARS-CoV-2, teniendo en cuenta la capacidad técnica que ha adquirido el país en pruebas para detectar el SARS-CoV-2 y el desarrollo de otras estrategias que buscan minimizar la posibilidad de enfrentar picos epidemiológicos, el Instituto Nacional de Salud, en el marco de su competencia y con el fin de aunar esfuerzos técnicos con laboratorios colaboradores para la realización de la prueba para diagnóstico de SARS-CoV-2 (COVID-19), requiere continuar con los convenios de cooperación especial con laboratorios de diferente naturaleza que hacen parte de la red ampliada para diagnóstico en aras de garantizar la cobertura, accesibilidad, oportunidad, el aseguramiento de la calidad de los datos, la confidencialidad y la disponibilidad de la información para la toma de decisiones en salud pública.



MODIFICACIÓN Y PRORROGA No. 2 AL CONVENIO 41 DE 2020

El escenario actual frente al comportamiento del SARS-CoV-2 sigue siendo incierto, de otro lado los modelos matemáticos muestran la posibilidad de un nuevo pico epidemiológico, por lo anterior, el apoyo brindado por estos laboratorios es de relevancia para la generación de información que permita la estructuración de herramientas para atender las situaciones y escenarios futuros, principalmente en lo relacionado con las actividades de la vigilancia genómica para SARS-CoV-2 iniciadas en marzo de 2020 en Colombia. En el contexto anterior, se requiere continuar con:

- La estrategia actual para la vigilancia genómica del SARS-CoV-2 en Colombia que incluye; el muestreo en ciudades principales y fronterizas, en grupos especiales con características clínicas y gravedad, y finalmente en la transmisión comunitaria con un aumento inusual de casos.
- Mantener durante el 2022 el análisis de los resultados de secuenciación NGS, articulado una iniciativa global para aportar datos genómicos del SARS-CoV-2 durante la pandemia y post-pandemia que tienen una aplicación inmediata en la reconstrucción de la historia de la transmisión, detección de variantes y linajes de interés (mayor transmisibilidad y/o virulencia), mutaciones en el genoma y descripción de dinámicas de dispersión mundial diseño de pruebas de detección molecular y serológicas y refinamiento de vacunas.”

Así las cosas, con base en la información suministrada por el supervisor del Convenio, la presente Modificación se regirá por las siguientes:

CLÁUSULAS:

PRIMERA- PRÓRROGA: Prorrogar el término de ejecución del convenio suscrito entre las partes hasta el 31 de diciembre de 2022.


SEGUNDA- MODIFICACIÓN: Modificar la Cláusula segunda incluyendo el numeral 24 y 25 así:

“SEGUNDA: OBLIGACIONES DEL LABORATORIO. En virtud del presente convenio se obliga a:

(...)

24. Remitir a los laboratorios de secuenciación genómica las muestras de hisopados que sean solicitadas por el INS de acuerdo con las características clínicas, epidemiológicas y de laboratorio requeridas.
25. Reportar las secuencias analizadas mediante correo electrónico al grupo Genómica de Microorganismos emergentes del INS para evaluar calidad, cobertura, profundidad y obtener el aval de sometimiento a la base de datos GISAID.

TERCERA - Las demás cláusulas del convenio se mantienen vigentes y sin modificación alguna, en cuanto no sean contrarias al presente documento.





INSTITUTO
NACIONAL DE
SALUD

MODIFICACIÓN Y PRORROGA No. 2 AL CONVENIO 41 DE 2020

De conformidad con lo anterior, y como prueba expresa de aceptación de su contenido **LAS PARTES** suscriben el presente documento, en la ciudad de Bogotá D.C., a los

POR EL INS,

MARTHA LUCÍA OSPINA MARTÍNEZ
Directora General
Instituto Nacional de Salud

POR EL LABORATORIO,

EDUARDO PASTRANA BONILLA
C.C. 12.114.925
Rector (e).
Universidad Surcolombiana

ANEXO 2.

Radicado:
2021CS066353-1
Fecha: 2021-11-08

GOBERNACION DEL HUILA
Secretaría de Salud Departamental



2021SAL00074735

Neiva, Noviembre 8 de 2021

Doctora:
ALICIA LOZANO
Bacterióloga
ESE HOSPITAL DEPARTAMENTAL SAN ANTONIO DE PADUA
AVENIDA LOS LIBERTADORES
Tel: 8370148 ext 130
La Plata / Huila

Asunto: Invitación al I Curso teórico práctico de Biología Molecular e Inmunología en enfermedades virales de interés de Salud Pública para el departamento del Huila: COVID-19 y DENGUE.

De manera atenta se invita a los profesionales de Bacteriología y Medicina de la Red Pública de Laboratorios del Departamento del Huila, al I Curso teórico práctico de Biología Molecular e Inmunología en enfermedades virales de interés en Salud Pública para el Departamento del Huila: COVID-19 y DENGUE, con el fin de socializar los fundamentos de los métodos usados, generalidades clínicas, bases inmunológicas, entre otros, todos ellos aplicables en el desempeño clínico e investigativo.

La actividad tendrá una intensidad de 26 horas en total, que estarán divididas en 10 horas teóricas virtuales (2h por 5 días) y 16 horas (dos días) de práctica presenciales que se llevarán a cabo en el Laboratorio de Salud Pública- Secretaría Departamental del Huila, ubicado en la carrera 20 No. 5B – 36 Barrio Calixto Leiva y en la División de Inmunología - Laboratorio de Infección e Inmunidad del programa de Medicina de la Universidad Surcolombiana ubicado en la Calle 9 No. 14 - 03.

Este curso se realizará del 29 de noviembre al 3 de diciembre de manera virtual y del 6 al 7 de diciembre de manera presencial, siendo gratuito. Se anexa el diseño y programación detallada. A los profesionales interesadas en participar se les enviara por correo un link con el formulario de registro, por lo tanto deben enviar al correo clemenciarojasgarcia@gmail.com una carta compromiso firmada por cada participante.

Consideramos a este esfuerzo de la Secretaria de Salud del Departamento y la Universidad Surcolombiana como un aspecto estratégico del Huila para el adecuado abordaje de la presente y futuras epidemias virales por lo que esperamos contar con su activa participación.



Carrera 20 No. 5B-36; Neiva – Huila – Colombia · PBX: 8701980 Ext130
Línea gratuita 01 8000 968 716; e-mail ssalud@huila.gov.co
www.huila.gov.co · Twitter @HuilaGob · Facebook Gobernación del Huila

2021SAL00074735

I Curso teórico práctico de Biología Molecular e Inmunología de enfermedades virales de interés en salud pública para el Departamento del Huila: COVID-19 y DENGUE

División de Inmunología – Medicina - Universidad Surcolombiana y Laboratorio de Salud Pública -Secretaría de Salud Departamental del Huila

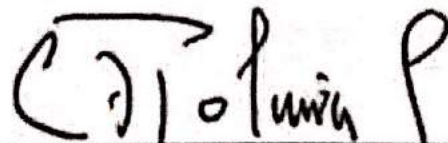
DISEÑO DEL CURSO: 10h teóricas (Virtuales) – 16h prácticas (Presenciales)				
Modalidad	Descripción	Fecha	Sección encargada	Intensidad horaria
Virtual – Plataforma MEET	Sesión teórica	29-11-2021	Dr. Cesar Alberto Polanía. Dr. Eduardo Pastrana. Dra. María Clemencia Rojas. Dr. Carlos Fernando Narváez.	2 horas 4:00-6:00 pm
	Sesión teórica	30-11-2021	Laboratorio de Salud Pública. División de Inmunología - USCO	2 horas 4:00-6:00 pm
	Sesión teórica	01-12-2021	Laboratorio de Salud Pública	2 horas 4:00-6:00 pm

2021SAL00074735

	Sesión teórica	Fundamentos de Inmunoensayo ligado a enzima e Immunospot	02-12-2021	División Inmunología	2h 4:00-6:00 pm
	Sesión teórica	Aplicación en SARS-CoV-2 y DENV	03-12-2021	Ambos	1h cada uno
Presencial	Practica LSP Secretaría de Salud Departamental	<ul style="list-style-type: none"> - Postura y retiro de EPP - Recepción de muestras - RT- qPCR SARS-CoV-2 - Anticuerpos IgM e IgG SARS-CoV-2 específicos. 	06-12-2021	Laboratorio de salud publica	8 horas 8:00-12:00m 2:00-6:00 pm
	Práctica División de Inmunología I&I Lab - USCO	<ul style="list-style-type: none"> - RT-qPCR serotipo-específica para para Dengue virus. - ELISA para IgM e IgG de Dengue 	07-12-2021	División de Inmunología - USCO	8 horas 8:00-12:00m 2:00-6:00 pm

Nota: el cupo máximo para la práctica es de 16 profesionales y deben cumplir con el siguiente perfil: Personal de laboratorios clínicos que estén vinculados de planta y preferiblemente con nociones básicas de biología molecular, que participen en la Red de salud pública del departamento.

Cordialmente,



CESAR ALBERTO POLANIA SILVA
Secretario de Salud del Huila

Proyectó: María Clemencia Rojas García



Carrera 20 No. 5B-36; Neiva – Huila – Colombia · PBX: 8701980 Ext130
Línea gratuita 01 8000 968 716; e-mail ssalud@huila.gov.co
www.huila.gov.co · Twitter @HuilaGob · Facebook Gobernación del Huila

ANEXO 3.



PROYECCIÓN SOCIAL

ACTO ADMINISTRATIVO DE APROBACIÓN



CÓDIGO	MI-PSO-FO-03	VERSIÓN	7	VIGENCIA	2020	PÁGINA	1 de 1
--------	--------------	---------	---	----------	------	--------	--------

Facultad	Salud	Acto Administrativo Nro.	47	del	17-nov-21
----------	-------	--------------------------	----	-----	-----------

Proyecto, Actividad o Servicio Aprobado por el Consejo de Facultad

I Curso teórico práctico de Biología Molecular e Inmunología en enfermedades virales de interés en salud pública para el departamento del Huila: COVID-19 y Dengue.

Acta Aprobación Consejo de Facultad	N° 052- 17 noviembre 2021	Tipo Proyecto	Solidario
Actividad Aprobada por el Consejo	Cursos libres		
Tiempo Ejecución de la Actividad	Inicio	29-11-2021	Finalización
		07-12-2021	Duración
			26 horas

Justificación del Beneficio Académico para la Facultad y la Institución por la Ejecución de la Actividad

Dentro de las estrategias más críticas para el control de la epidemia de COVID-19 esta la identificación rápida de los pacientes infectados, para realizar su aislamiento, seguimiento y rastreo de contactos cercanos. Esta estrategia ha sido una de las pocas junto con el autocuidado y la reciente introducción de las vacunas, que ha mostrado un impacto significativo sobre la transmisión viral, disminuyendo el número de casos confirmados nuevos y por lo tanto el número de hospitalizaciones y muertes (Ministerio de Salud. PRASS. 2021). Según el Ministerio de Salud y el Instituto Nacional de Salud a través de los lineamientos diagnósticos nacionales, la reacción en cadena de la polimerasa retrotranscrita en tiempo real (RT-qPCR) es el método más sensible y específico para confirmar el diagnóstico de COVID-19 (Ministerio de Salud. Lineamiento para el uso de pruebas diagnósticas COVID-19. 2021) y en general para la identificación de patógenos virales emergentes y re-emergentes. Sin embargo, para la aplicación de estos ensayos de identificación del genoma viral basado en biología molecular se requiere infraestructura especializada y talento humano capacitado.

La actual pandemia por COVID-19 visibilizó la poca disponibilidad de infraestructura y personal capacitado en métodos de Biología Molecular e Inmunología necesarios para realizar el abordaje inicial de los pacientes infectados con el SARS-CoV-2. Esta deficiencia fue mucho más marcada en ciudades intermedias del país como Neiva y en general el departamento del Huila. Esto fue notorio al inicio de la pandemia cuando la capacidad de ensayos de Biología Molecular para la identificación viral por día del departamento era sólo de 50. Con apoyo de las autoridades públicas departamentales y del Ministerio de Ciencia a través de la financiación proyectos de investigación a la alianza creada entre la División de Inmunología y la Secretaría de Salud Departamental, se logró aumentar esta capacidad a 600 ensayos/día entre las dos entidades, que correspondía al 60% de la capacidad total departamental (Tercer Informe Técnico Trimestral. USCO - SSDH. 2021).

A pesar de estos avances, son notorias las bajas capacidades departamentales para afrontar este tipo de crisis de salud actual y en un futuro. Uno de los principales déficits regionales es la baja disponibilidad de talento humano familiarizado con bases en Biología Molecular e Inmunología, ésta última ciencia de importancia para el entendimiento de la patogénesis viral, la enfermedad que causa la infección con SARS-CoV-2 y los mecanismos de protección generados por las diversas plataformas de vacunas disponibles en el país.

Viabilidad Financiera PROYECTO EDUCACIÓN CONTINUA SOLIDARIO

Solicitante del Servicio Dpto. Ciencias Básicas y Programa de Medicina – Facultad de Salud

Coordinador Asignado	CARLOS FERNANDO NARVÁEZ ROJAS	C.C.	77.050.326
e-mail Contacto	cfnarvaez@usco.edu.co	Celular	320 4639566

Docentes Vinculados al Proyecto, Actividad o Servicio

Docente	Horas Dedicadas Con Asignación Académica	Horas Dedicadas Sin Asignación Académica
CARLOS FERNANDO NARVÁEZ ROJAS, Coordinador del proyecto		30

Decano: JULIO CÉSAR QUINTERO VIEDA Firma Aprobación:

----- Espacio de uso Exclusivo Vicerrectoría de Investigación y Proyección Social -----

Fecha de recepción: 24/11/2021

Vicerrectora: DOLLY ARIAS TORRES Firma Aval:

Ciudad y fecha de aprobación: En NEIVA, 24/11/2021

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

ANEXO 4.

**PROYECCIÓN SOCIAL Y PROYECTOS ESPECIALES****FORMATO DE PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE EDUCACIÓN CONTINUA**

CODIGO:	MI-PSO-FO-09	VERSION:	3	VIGENCIA:	2018	PÁGINA	1 de 4
----------------	---------------------	-----------------	----------	------------------	-------------	---------------	---------------

1. TIPO DE ACTIVIDAD DE EXTENSIÓN (Seleccione con una X)

ACTIVIDAD			
ACTIVIDAD CULTURAL ¹		CURSOS	X
EDUCACIÓN CONTINUA ²		EVENTO CULTURAL ³	

2. INFORMACIÓN GENERAL

*NOMBRE DE LA ACTIVIDAD DE FORMACIÓN CONTINUADA					CÓDIGO
I Curso teórico práctico de Biología Molecular e Inmunología en enfermedades virales de interés en salud pública para el departamento del Huila: COVID-19 y Dengue.					
*FACULTAD	SALUD				
*PROGRAMA Y/O UNIDAD	DIVISION DE INMUNOLOGIA - MEDICINA				
*FECHA INICIO	29-11-2021	*FECHA FINAL	07-12-2021	*DURACIÓN EN HORAS	26
*LUGAR					

3. INFORMACIÓN COORDINADOR(A) DE LA ACTIVIDAD DE FORMACIÓN CONTINUADA (Los datos del (la) coordinador(a) deben ser diligenciados en su totalidad).

*NOMBRES Y APELLIDOS	CARLOS FERNANDO NARVAEZ ROJAS		
*No. IDENTIFICACIÓN	7.705.326	TELEFONO	8718311 EXT. 3144
*CORREO ELECTRÓNICO	cfnarvaez@usco.edu.co		
*VINCULACIÓN ⁴	Profesor de Planta – Jefe de Inmunología		
*DEPARTAMENTO Y/O PROGRAMA	Dpto. Ciencias Básicas y Programa de Medicina		
GRUPO DE INVESTIGACIÓN (Si Aplica)	Parasitología y Medicina Tropical		
*NIVEL DE FORMACIÓN ⁵	Doctorado		

¹ Actividad cultural: Se caracterizan porque no tienen costo para los participantes y son actividades recurrentes sin una fecha de terminación definida.

² Actividades de formación continua: Cuya duración sea mínimo de 16 horas (cursos, talleres), los diplomados (duración mínima de 90 horas) y seminarios, congresos y simposios.

³ Eventos culturales: Las actividades de extensión que la realización no es periódica, no se hace una programación definida ni es recurrente; son eventos culturales: Conciertos, Exposiciones, Obras Teatrales.

⁴ (Docente Tiempo Completo, Docente Medio Tiempo, Docente Ocasional, Catedrático)

⁵ Pregrado, Especialización Maestría, Doctorado, Posdoctorado.

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



PROYECCIÓN SOCIAL Y PROYECTOS ESPECIALES

FORMATO DE PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE EDUCACIÓN CONTINUA



CODIGO: MI-PSO-FO-09 **VERSION:** 3 **VIGENCIA:** 2018 **PÁGINA** 2 de 4

4. CONTENIDOS (Especificar en el siguiente cuadro los módulos y/o temarios que se impartirán en la actividad)

DISEÑO DEL CURSO: 10h teóricas (Virtuales) – 16h prácticas (Presenciales)					
Modalidad	Descripción	Fecha	Sección encargada	Intensidad horaria	
Virtual – Plataforma MEET	Sesión teórica	Presentación del curso: Generalidades, objetivos, alcance, situación actual e impacto regional de COVID-19 y Dengue.	29-11-2021	- Dr. Cesar Alberto Polanía. - Dra. María Clemencia Rojas. - Dr. Carlos F. Narváez.	2 horas 4:00-6:00 pm
	Sesión teórica	SARS-CoV-2 – COVID-19 (4-5pm) - Estructura viral – genoma. - Perspectiva clínica - Fisiopatología y respuesta inmune - Vacunas y su impacto Dengue virus – Dengue (5-6pm) - Estructura viral - Perspectiva clínica - Inmunidad - Vacunas	30-11-2021	Laboratorio de Salud Pública. División de Inmunología - USCO	2 horas 4:00-6:00 pm
	Sesión teórica	Fundamento PCR de punto final y PCR en tiempo real.	01-12-2021	Laboratorio de Salud Pública	2 horas 4:00-6:00 pm
	Sesión teórica	Fundamentos de Inmunoensayo ligado a enzima e Inmunospot	02-12-2021	División Inmunología	2h 4:00-6:00 pm
	Sesión teórica	Aplicación en SARS-CoV-2 y DENV	03-12-2021	LDSP – División de Inmunología	2h 4:00-6:00
Presencial	Practica LSP Secretaría de Salud Departamental	- Postura y retiro de EPP - Recepción de muestras - RT- qPCR SARS-CoV-2 - Anticuerpos IgM e IgG SARS-CoV-2 específicos.	06-12-2021	Laboratorio de salud publica	8 horas 8:00-12:00m 2:00-6:00 pm
	Práctica División de Inmunología I&I Lab - USCO	- RT-qPCR serotipo-específica para Dengue virus. - ELISA para IgM e IgG de Dengue	07-12-2021	División de Inmunología - USCO	8 horas 8:00-12:00m 2:00-6:00 pm

Nota: Los campos procedencia y filiación solo aplica cuando el docente y/o conferencista es externo a la Universidad. El campo departamento y/o programa solo aplica para docentes y/o conferencistas vinculados a la Universidad. Duplique cuantas veces sea necesaria la tabla anterior.

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



PROYECCIÓN SOCIAL Y PROYECTOS ESPECIALES

FORMATO DE PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE EDUCACIÓN CONTINUA



CODIGO:	MI-PSO-FO-09	VERSION:	3	VIGENCIA:	2018	PÁGINA	3 de 4
----------------	---------------------	-----------------	----------	------------------	-------------	---------------	---------------

5. METODOLOGÍA (Especificar las estrategias didácticas a utilizar, teniendo en cuenta que faciliten el aprendizaje y respondan a los objetivos de la actividad).

La inscripción de los participantes se realizará mediante encuesta electrónica y la aceptación de los participantes miembros de la red de salud pública departamental será realizada por la Secretaría de Salud Departamental y la División de Inmunología mediante análisis del formato electrónico y cumplimiento del perfil previamente definido. El curso de educación continua tendrá una duración total de 26 horas, divididas en 5 sesiones de 2h diarias de manera virtual usando la plataforma Google-Meet. Se harán charlas magistrales de corta duración con espacio de pausa activa. Las charlas magistrales virtuales usarán presentaciones gráficas en power point, que serán complementadas con videos. Las preguntas e inquietudes serán resueltas en tiempo real y también se dejará contacto para responderlas retrospectivamente.

La parte práctica del curso tendrá una duración de 16h divididas en cada uno de los Laboratorios participantes. Posterior a una breve introducción, se formarán dos grupos que tomarán por separado los ensayos de biología molecular viral y el otro estará en la práctica de análisis de respuesta de anticuerpos isotipo-específicos para los virus de interés. Durante cada una de las sesiones los participantes realizarán un ensayo de aislamiento de ácido desoxirribonucleico e identificación de Inmunoglobulina G no-antígeno específica. Al final de las sesiones se evaluará el resultado de los experimentos realizados individualmente.

6. ENTIDAD PROPONENTE Y PARTICIPANTES (Este punto debe ser diligenciado para cada entidad que participe en la ejecución del proyecto).

NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA	NIT	891180084-2
RESPONSABLE Ó CONTACTO	Carlos F. Narváez	C.C	7.705.326
DIRECCIÓN	Calle 9 #14-02, Segundo piso. FacSalud	EMAIL	cfnarvaez@usco.edu.co
TELÉFONOS	8718310 ext. 3144	FAX	
CIUDAD	Neiva	DEPARTAMENTO	Huila
Tipo de entidad: (Marque con X):			
Universidad Pública	<input checked="" type="checkbox"/>	Universidad Privada	<input type="checkbox"/>
Centro de Investigación Privado	<input type="checkbox"/>	Centro de Desarrollo Tecnológico	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	Entidad o Instituto Público	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	Centro Empresarial o Gremio	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	Empresa	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	ONG	<input type="checkbox"/>

NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN	SECRETARÍA DEPARTAMENTAL DE SALUD	NIT	800103913-4
RESPONSABLE Ó CONTACTO	María Clemencia Rojas	C.C	
DIRECCIÓN	Carrara 20 N° 5B-36	EMAIL	clemencia_charry@yahoo.es
TELÉFONOS	3134104158	FAX	8701989
CIUDAD	Neiva	DEPARTAMENTO	Huila
Tipo de entidad: (Marque con X):			
Universidad Pública	<input checked="" type="checkbox"/>	Universidad Privada	<input type="checkbox"/>
Centro de Investigación Privado	<input type="checkbox"/>	Centro de Desarrollo Tecnológico	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	Entidad o Instituto Público	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	Centro Empresarial o Gremio	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	Empresa	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	ONG	<input type="checkbox"/>

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



REFERENCIAS

Ministerio de Salud. ABECÉ: Programa de Pruebas, Rastreo y Aislamiento Selectivo Sostenible – PRASS. 2021.

Ministerio de Salud. LINEAMIENTOS PARA EL USO DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS PARA SARS-CoV-2 (COVID-19) EN COLOMBIA. Septiembre de 2021.

Instituto Nacional de Salud. Boletín Epidemiológico Semanal. Semana 58. 2015 a 2020.

División de Inmunología, USCO – SSDH. Tercer Informe Técnico Trimestral. Mayo de 2021.

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.




ANEXO 5.

Loarena Plazas is presenting



PCR en Tiempo Real

- La PCR en tiempo real es una herramienta util para el análisis cuantitativo de ácidos nucleicos.

Participants list:

- Sandra Liliana Delgad...
- Maribel Ramos
- YANALIT CHARRY AVI...
- pleidad marcela perill...
- Gerencia Calidad Clin...
- ana carmenza ramos ...
- Loarena Plazas
- You
- 34 others

People

Mute all Add people Host controls

- FRANKY ALBERTO USUG...
- Gerencia Calidad Clinica ...
- Hilda Garzon
- Ibon Carolina Gonzalez To...
- Julieth Buritica
- Katerine Chavez Alvarez
- Keyla Julieth Rodriguez Ál...
- LABORATORIO ANGELES
- LABORATORIO ESE HOBO
- LACTEOS BUENA LECHE ...

liquidacion uni

Taskbar icons: Chrome, Word, PDF, printer, trash

BASE DE DATO...xlsx



UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
GESTIÓN DE CALIDAD

REGISTRO Y CONTROL ASISTENCIA DE ACTIVIDAD V/O EVENTO



CODIGO: **REG-001** VERSION: **3** VIGENCIA: **2019** Páginas: **1 De 1**

NOMBRE DE LA ACTIVIDAD: **TALLER DE BIOLOGIA MOLECULAR NOVIEMBRE 2021** NOMBRE DEL EXPOSITOR: **STAFF CURSO** INTERNO: EXTERNO:

OBJETIVO DE LA ACTIVIDAD: **TALLER TEORICO PRACTICO DE BIOLOGIA MOLECULAR NOVIEMBRE 2021**

LUGAR: **NEVA - HUILA** FECHA: **2011/2021** HORA: **4:00 p.m.**

"En mi calidad de titular de los datos personales anteriormente diligenciados, me permito manifestar mi autorización para su tratamiento por parte de la Universidad Surcolombiana, con la finalidad de ser utilizados en el contacto de otros eventos o servicios de la Universidad, incluyendo las finalidades del ámbito académico y administrativo propio de sus funciones. La Universidad Surcolombiana protege los datos aquí diligenciados, de acuerdo a lo previsto en la Ley 1581 de 2012, y a su Política de Protección de Datos Personales, la cual se debe consultar en la página www.usco.edu.co".

N°	NOMBRES Y APELLIDOS	ENTIDAD/DEPENDENCIA/ PROGRAMA ACADÉMICO	CORREO ELECTRÓNICO	TELÉFONO No. EXT	TIPO DE ASISTENTE												FIRMA			
					DP	DO	DC	DI	AD	TO	ES	MR	CO	EX						
1	RUDY ANDREA GOMEZ GUACA	LABORATORIO ANGELES BIOLOGIA MOLECULAR	rudyandrea@gmail.com	3204578356															X	RUDY GOMEZ
2	ANA CRUZ RAMOS POLANIA	ESE HOSPITAL EL HORNO	laboratorio@esehospitalhorno.gov.co	3107666904															X	ana ramos p
3	Diana Quiñero Trujillo	dificia Cowen	gerenciacl@clincacoronari@open.com	3102079302															X	Diana Quiñero Trujillo
4	German Quiñcho Vargas	ESE San José de losinos	gquinchov@gmail.com	3115299554															X	German Quiñcho
5	NELCY JULIETH BURITICA ROJAS	ESE HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LAS MERCEDES DE SALADOBLANCO	nelyjulie@gmail.com	3133942411															X	Julieith Buritica Rojas
6	Nancy Amaya Doroso	ADALAB S.A.S	calidad@adab-sa.com	3130169500															X	Nancy Amaya
7	STELLA PEREZ HERNANDEZ	LAB CLINICO ANGELES BIOLOGIA MOLECULAR	stellay2013@hotmail.com	3158178009															X	Stella Perez H
8	Magdalena Buono F. Alia	LAB CLINICO ANGELES BIOLOGIA MOLECULAR	magnaliamalia@hotmail.com	3204861987															X	Magdalena Buono F
9	Yasany Lorena Pizazz Rojas	Laboratorio se Salud Publica del Huila	lorena.pizazz@gmail.com	3189949896															X	Yasany Lorena Pizazz Rojas
10	linds katiana alvarez lopez	ese centro de salud san juan de Dios	linds_2010@hotmail.com	3109685704															X	linds alvarez lopez

La Facultad de Ciencias de la Salud

CERTIFICA QUE

CARLOS FERNANDO NARVÁEZ ROJAS

Participó en calidad de coordinador y organizador del

**I CURSO TEÓRICO PRÁCTICO DE BIOLOGÍA MOLECULAR E INMUNOLOGÍA EN
ENFERMEDADES VIRALES DE INTERÉS EN SALUD PÚBLICA PARA EL DEPARTAMENTO
DEL HUILA: COVID-19 Y DENGUE.**

Neiva, 29 de noviembre al 07 de diciembre (26 horas)



Julio César Quintero Vieda

Decano

La Facultad de Ciencias de la Salud

CERTIFICA QUE

LA DIVISIÓN DE INMUNOLOGÍA DE LA FACULTAD DE SALUD

Participó en calidad de organizador de la actividad de educación continua

**I CURSO TEÓRICO PRÁCTICO DE BIOLOGÍA MOLECULAR E INMUNOLOGÍA EN
ENFERMEDADES VIRALES DE INTERÉS EN SALUD PÚBLICA PARA EL DEPARTAMENTO
DEL HUILA: COVID-19 Y DENGUE.**

Neiva, 29 de noviembre al 07 de diciembre de 2021 (26 horas)



Julio César Quintero Vieda

Decano

ANEXO 6.



GOBERNACIÓN DEL HUILA



UNIVERSIDAD

SURCOLOMBIANA

FORTALECIMIENTO DE CAPACIDADES INSTALADAS DE CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA PARA ATENDER PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON
AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO PARA LA SALUD HUMANA EN
EL DEPARTAMENTO DEL HUILA

[BPIN 2020000100145](#)

Carlos Fernando Narvárez
Médico Inmunólogo
Jefe División de Inmunología
cfnarvaez@usco.edu.co

Sexto Informe Técnico Trimestral
Diciembre 2021 – Enero – Febrero 2022
Universidad Surcolombiana
Facultad de Salud



GOBERNACIÓN DEL HUILA



I Curso teórico práctico de Biología Molecular e Inmunología en enfermedades virales de interés en salud pública para el departamento del Huila: COVID-19 y Dengue

Carlos Fernando Narváez
Médico Inmunólogo
Jefe División de Inmunología
Facultad de Salud
cfnarvaez@usco.edu.co

Diciembre de 2021
Neiva - Huila

**I CURSO DE BIOLOGIA MOLECULAR E INMUNOLOGÍA EN ENFERMEDADES
VIRALES DE INTERÉS PARA LA SALUD PÚBLICA DEL DEPARTAMENTO
DEL HUILA: COVID-19 Y DENGUE
DIVISIÓN DE INMUNOLOGÍA USCO – SECRETARÍA DE SALUD DEPARTAMENTAL**



1 día de práctica presencial - Curso Biología Molecular



UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



GENERALIDADES - INTRODUCCIÓN



Curso Teórico - práctico capacitación manejo de elementos de protección personal.





Iniciamos con teoría y práctica para toma de muestras (hisopado) para detección de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR

Se inicia el proceso de Desembalaje e inactivación de las muestras de Hisopado





UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD





UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

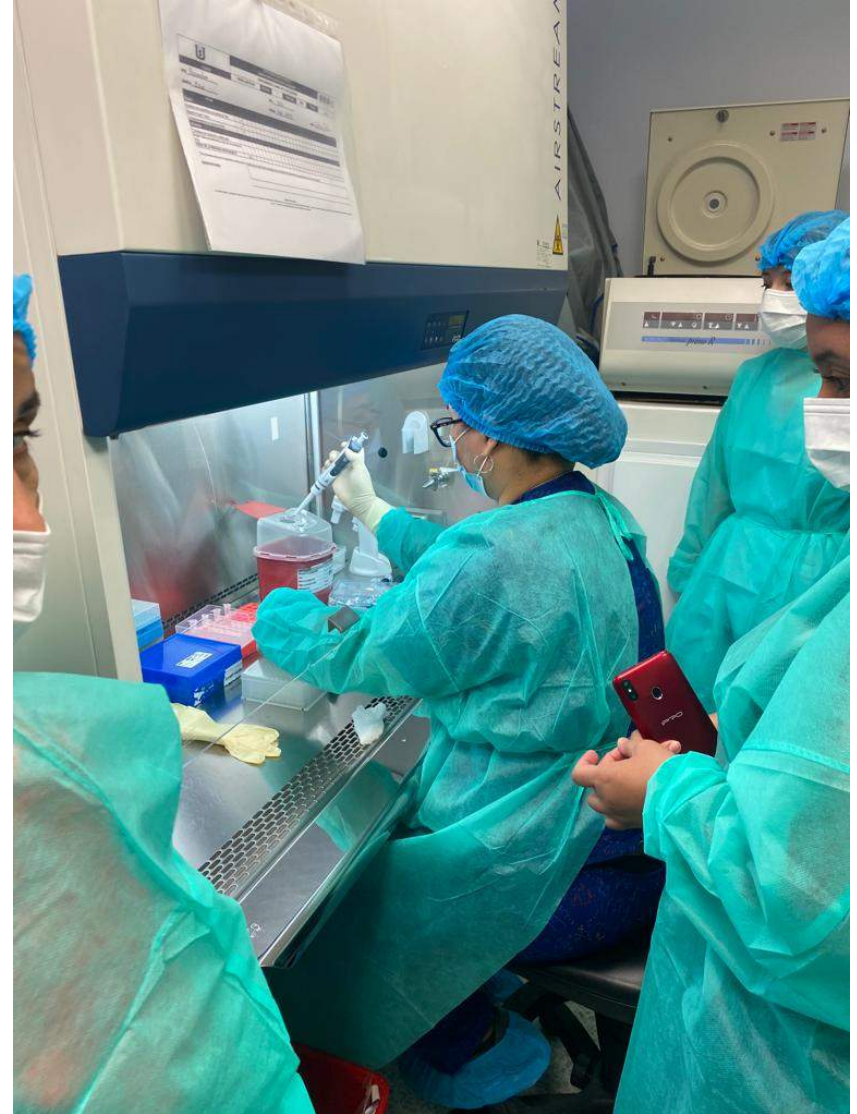


Extracción automatizada de RNA viral*



* Nótese el uso del dispositivo de extracción automatizada KingFisher™ Flex adquirido mediante la propuesta, en las sesiones prácticas del curso.

Proceso de RT-qPCR para SARS-CoV-2



Amplificación SARS-CoV-2 por RT-qPCR e interpretación de los resultados*



* Nótese el uso del termociclador en tiempo real Quant Studio, adquirido mediante la propuesta, en las sesiones prácticas del curso.

Sesión de amplificación DENV por RT-qPCR



Nótese el uso de los equipos de congelación de especímenes biológicos adquiridos con el proyecto en las actividades del curso de biología Molecular e Inmunología.



UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA

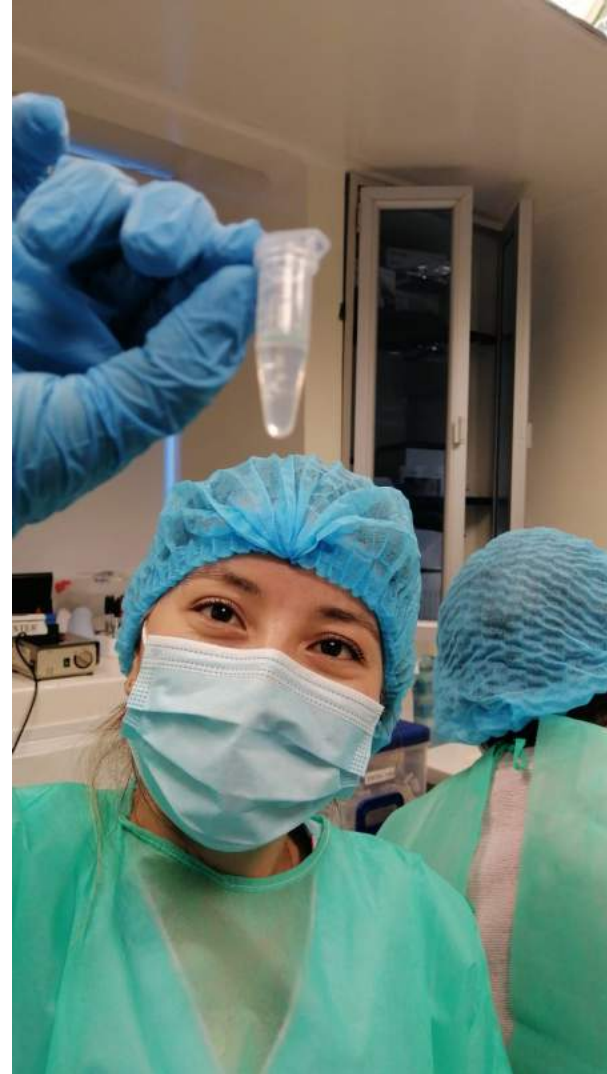
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Análisis de la detección serotipo-específica de DENV por RT-qPCR





Práctica de extracción de ácido nucleico



Inicio del ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima para detectar antigenemia e inmunoglobulina DENV- especifica circulante



DetECCIÓN DE INMUNOGLOBULINA DENV-ESPECÍFICA CIRCULANTE*



* Nótese el uso del lector automatizado multiuso de microplacas VarioSkán, adquirido mediante la propuesta, en las sesiones prácticas del curso.

Momento de trabajo en el ELISA para detección de Inmunoglobulinas DENV-específicas circulantes



Aplicando el segundo paso del ensayo de inmunoabsorción para Igs anti-DENV.

CIERRE DE UNA SESIÓN DEL CURSO



ANEXO 7.



1. OBJETIVO

Describir la metodología del Laboratorio de Infección e Inmunidad (I&I Lab) para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos de isotipo IgM específicos circulantes contra el Coronavirus del Síndrome Agudo Respiratorio Severo 2 (SARS-CoV-2, en inglés).

2. ALCANCE

Este procedimiento va dirigido a todo el personal con formación básica en técnicas de laboratorio como profesionales en Bacteriología, Microbiología, Bioanalistas, Médicos, entre otros.

3. LÍDER DEL PROCEDIMIENTO:

El líder de este procedimiento es el I&I Lab – División de Inmunología, Programa de Medicina, Facultad de Salud, Universidad Surcolombiana.

5. DEFINICIONES

- **ELISA** El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utiliza como sus siglas lo indican una enzima como marcador para identificar la formación de complejos antígeno-anticuerpo. Existen diversas variaciones al método de ELISA para detectar y cuantificar ligandos de bajo y alto peso molecular (>30 Kd), el marcador enzimático que se emplea en estos análisis se conjuga con anticuerpo que a su vez se une a un ligando generalmente antígeno proteico o un anticuerpo específico para el antígeno de interés o un anti-anticuerpo para el anticuerpo primario.
- **ANTICUERPOS** Los anticuerpos utilizados en el ELISA son de origen monoclonal o policlonal que se suministran como antisuero no fraccionado o fracciones de inmunoglobulina purificada, o fragmentos de anticuerpos que contienen la región variable de unión al antígeno (Fab o Fab[']₂), pueden ser solubles o estar inmóviles en un soporte sólido, son empleados como conjugados no marcados o



enzimáticos y por ultimo reaccionan con determinante antigénico específico de un antígeno o de un anticuerpo ligando-específico (anticuerpo primario) según el protocolo de análisis.

- **ANTIGENO:** Los antígenos se purifican o se producen con tecnología recombinante, y al igual que los anticuerpos se utilizan como conjugados marcados o enzimáticos y son inmóviles o solubles, dependiendo del protocolo de análisis.
- **CONJUGADOS ENZIMATICOS:** son antígenos o anticuerpos unidos en forma covalente a la enzima de elección. Así pues, el reactivo que se forma de la unión covalente entre enzima y antígeno o anticuerpo es el conjugado

6. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD

Nº	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	RESPONSABLE	REGISTRO
1.	Preparación de Materiales, Equipos y Reactivos	Se preparan los siguientes materiales para el procesamiento: Reactivos y equipo: - 1X PBS estéril (Thermo Gibco, ref: 10010-023). - Blotto, leche en polvo descremada (Slight Colanta leche descremada). - Tween 20 (Sigma-Aldrich, ref: p-1379). - Dulbeco fosfato saline buffer, PBS en pólv, sin calcio ni magnesio, para resuspender en 10L (Thermo Gibco, ref: 21600069).	Bacteriólogo	Ninguno



UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO

ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgM SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE



SC 7384-1

SA-CERE 557626

OS-CER 597555

CÓDIGO

MI-INV-LAB-PR

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2021

PÁGINA

3 de 8

- SARS-CoV-2 Glucoproteína de Espícula (S) recombinante. Native Antigen Co. Ref: REC31868-500 (concentración de stock: 0.5 mg/mL). Batch #20112609D. Descripción: Glucoproteína de Espícula (dominio soluble) de SARS-CoV-2 de longitud completa, expresada y purificada desde células CHO His-tag. Pureza >95%.
 - Anti-IgM humana hecho cabra biotinilado (Seracare-KPL, ref: 5260-0029).
 - Estreptavidina marcada con peroxidasa (Seracare-KPL, ref: 5270-0029).
 - 2-componentes peroxidasa-substrato (Seracare-KPL, ref: 5120-0050).
 - Ácido Sulfúrico (H₂SO₄, Merk, 98% pureza), 2M.
 - Microplacas de ELISA 96 pozos (ThermoScientific Immulon 4HBX, fondo plano, ref: 3855)
 - Micropipetas de 0.5-10uL, 20-200uL, 200-1000uL.
 - Pipeta multicanal de 20-200uL.
 - Lector de microplacas multiuso (VarioSkan DeLux, Thermo Scientific).
- Nota:** Todos los reactivos deben alcanzar la temperatura ambiente (TA) para ser usados en el ELISA.

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



2.	Cálculos para ELISA:	<ul style="list-style-type: none">• Solución para cubrir pozos: Proteína S recombinante a 1ug/mL en 1X PBS estéril.• Para preparar Blotto al 5%: para 50 mL: 2.5 g de leche descremada en 1X PBS + 500 uL de Tween 20 al 10% (diluido en agua destilada). (Blotto 2.5%: se puede diluir al 2.5% con PBS 1X).• Buffer de lavado: Tween 20 al 0.1% en 1X PBS: 10 mL de Tween 20 al 10% en 1L de 1X PBS.• Concentración de anti-IgM marcado con biotina, solución de trabajo: 0.5ug/mL en blotto al 2.5% (1/1,000).• Estreptavidina marcada con peroxidasa, concentración de trabajo (0.5ug / mL en blotto 2.5%) (1/1,000).	Bacteriólogo	MI-INV-LAB-FO Mapa y Hoja de Cálculo para ELISA
3.	PROCEDIMIENTO	<ol style="list-style-type: none">1. Agregue 50uL/pozo de proteína S recombinante (1ug/mL). Incubar durante la noche a 4°C.2. Al día siguiente, deseche y elimine cualquier líquido restante invirtiendo la placa y frotándola con toallas de papel limpias. Luego, agregue 150 uL/pozo de blotto al 5% para bloquear las uniones inespecíficas. Incubar durante 1 hora a 37°C.3. Desechar y añadir 50 uL/pozo de las muestras de plasma diluidas 1/100 en Blotto 2.5%. Incubar durante 2 horas a 37°C.4. Desechar y lavar manualmente con buffer de lavado tres veces. Deseche y elimine cualquier líquido restante invirtiendo la placa, golpeándola suavemente y secando con toallas de papel limpias.	Bacteriólogo	MI-INV-LAB-FO Mapa y Hoja de Cálculo para ELISA



SC 7384-1

SA-CERE 557626

OS-CER 597555

5. Añada 50uL/pozo de anti-IgM humana biotinilado. Incubar durante 1 hora a 37°C.
6. Desechar y lavar manualmente con buffer de lavado tres veces. Deseche y elimine cualquier líquido restante invirtiendo la placa y secando con toallas de papel limpias.
7. Añada 50uL/pozo de estreptavidina marcada con HRP e incube durante 1 hora a 37°C.
8. Desechar y lavar manualmente con buffer de lavado tres veces. Deseche y elimine cualquier líquido restante invirtiendo la placa, golpeando sutilmente y secando con toallas de papel limpias.
9. Agregue 50uL/pozo de TMB. La mezcla de los componentes A y B del TMB debe estar a temperatura ambiente para su uso. Incubar a TA el tiempo necesario, tomando como referencia los controles positivo y negativo. Evite colocar la placa a la luz directa.
10. Agregue 50uL/pozo de H₂SO₄ 2M para detener la reacción. Esperar 2 min a que se detenga por completo la reacción.
11. Leer la placa a 450nm en el VarioSkan DeLux. Antes de colocar la placa en el lector multiuso, limpiarla con toalla absorbente, en especial los fondos de los pozos.



**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO**

**ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgM SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE**



CÓDIGO

MI-INV-LAB-PR

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2021

PÁGINA

6 de 8

4.	CONDICIONES DE LA MUESTRA	<p>El traslado de las muestras biológicas al Laboratorio de Infección e Inmunidad debe efectuarse de acuerdo con las normas de transporte de muestras biológicas de la IATA.</p> <p>Se debe realizar lista de chequeo en el formato MI-INV-LAB-FO Criterios de Rechazo de muestras.</p> <p>Al recibir las muestras, estas vienen en tubo tapa lila, se deben centrifugar a 200 xg por 10 minutos y separar el plasma en viales, estos deben ser congelados inmediatamente a -80 y deben ser codificadas según la base de datos del I&I Lab. Realizar al menos 3 alícuotas con 400uL cada una de los pacientes incluidos.</p> <p>Descongele las muestras directamente a temperatura ambiente.</p> <p>Realizar la menor cantidad de veces posibles la descongelación de las muestras.</p>	Bacteriólogo Auxiliar Laboratorio y de	MI-INV-LAB-FO Criterios de Rechazo de muestras
5.	CONTROLES Y MATERIAL REFERENCIA	<p>CONTROL NEGATIVO: Pool de pacientes (mínimo 5), caracterizados negativos por ELFA y RT-qPCR ó pacientes sanos con muestra tomada antes del 2015.</p> <p>CONTROL POSITIVO: Pool de pacientes con infección confirmada por SARS-CoV-2 tomada entre 14 a 30 días después del inicio de síntomas, RT-qPCR y ELFA+.</p>	Bacteriólogo	MI-INV-LAB-FO Mapa y Hoja de Cálculo para ELISA

6.2 ENSAYO

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO

ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgM SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE



SC 7384-1

SA-CERE 557626

OS-CER 597555

CÓDIGO

MI-INV-LAB-PR

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2021

PÁGINA

7 de 8

Nº	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	RESPONSABLE	REGISTRO
1.	Recomendaciones	<ul style="list-style-type: none">Tener en cuenta los criterios de rechazo para estas muestras:<ul style="list-style-type: none">Muestras hemolíticasMuestras lipémicasUtilizar todas las medidas de protección necesarias con el buen uso de EPP.Recuerde verificar los cálculos antes de iniciar el procesamiento.Las pipetas deben estar al día con su calibración.El material debe estar limpio y estéril.Mantenga los reactivos a la temperatura adecuada.El flujo de trabajo debe ser en un sólo sentido y sin devolverse, ya que esto puede generar contaminaciones.	Bacteriólogo	No Aplica

6. OBSERVACIONES

- Todos los equipos que se usen deben ser registrados en el formato MI-INV-LAB-FO-93 CONTROL USO DE EQUIPOS
- Usar todos los EPP a lo largo de todos los experimentos para prevenir la contaminación
- Se debe hacer cambio o desinfección de guantes después de tocarse la piel (por ejemplo, la cara)
- Contar con un juego de micropipetas dedicado exclusivamente al trabajo con ELISA.

7. DOCUMENTOS REFERENCIADOS:

- World Health Organization. WHO manual for the establishment of national and other secondary standards for antibodies against infectious agents focusing on SARS-CoV-2. 2021. Draft version 12/10/2021.
- Ministerio de Salud y Protección Social. Lineamientos para el uso de pruebas moleculares RT-PCR, pruebas de antígeno y pruebas serológicas para SARS-CoV-2 (COVID-19) en Colombia.

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO**

**ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgM SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE**



CÓDIGO

MI-INV-LAB-PR

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2021

PÁGINA

8 de 8

- Stadlbauer D et al. A detailed protocol for a serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans: antigen production and test setup. Current Protocols in Microbiology. 2020. 57:1-15.
- Amanat F et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. 2020. Nature Medicine. 26: 1033-1036

8. CONTROL DE CAMBIOS

VERSION	DOCUMENTO Y FECHA DE APROBACIÓN	DESCRIPCIÓN DE CAMBIOS
1	Febrero de 2022	Creación del Documento.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
<p align="center">SANDRA LILIANA DELGADO MARTÍNEZ Líder de Calidad</p> <p align="center">VoBo: CARLOS FERNANDO NARVAEZ Coordinador Laboratorio de Infección e Inmunidad</p>	<p>ARIADNA HOYOS STERLING Coordinador SGC</p>	<p>MAYRA ALEJANDRA BERMEO BALAGUERA Coordinador SGC</p>

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



1. OBJETIVO

Describir la metodología del Laboratorio de Infección e Inmunidad (I&I Lab) para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos de isotipo IgG específicos circulantes contra el Coronavirus del Síndrome Agudo Respiratorio Severo 2 (SARS-CoV-2, en inglés).

2. ALCANCE

Este procedimiento va dirigido a todo el personal con formación básica en técnicas de laboratorio como profesionales en Bacteriología, Microbiología, Bioanalistas, Médicos, entre otros.

3. LÍDER DEL PROCEDIMIENTO:

El líder de este procedimiento es el I&I Lab – División de Inmunología, Programa de Medicina, Facultad de Salud, Universidad Surcolombiana.

5. DEFINICIONES

- **ELISA** El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utiliza como sus siglas lo indican una enzima como marcador para identificar la formación de complejos antígeno-anticuerpo. Existen diversas variaciones al método de ELISA para detectar y cuantificar ligandos de bajo y alto peso molecular (>30 Kd), el marcador enzimático que se emplea en estos análisis se conjuga con anticuerpo que a su vez se une a un ligando generalmente antígeno proteico o un anticuerpo específico para el antígeno de interés o un anti-anticuerpo para el anticuerpo primario.
- **ANTICUERPOS** Los anticuerpos utilizados en el ELISA son de origen monoclonal o policlonal que se suministran como antisuero no fraccionado o fracciones de inmunoglobulina purificada, o fragmentos de anticuerpos que contienen la región variable de unión al antígeno (Fab o Fab´₂), pueden ser solubles o estar inmóviles en un soporte sólido, son empleados como conjugados no marcados o



enzimáticos y por ultimo reaccionan con determinante antigénico específico de un antígeno o de un anticuerpo ligando-específico (anticuerpo primario) según el protocolo de análisis.

- **ANTIGENO:** Los antígenos se purifican o se producen con tecnología recombinante, y al igual que los anticuerpos se utilizan como conjugados marcados o enzimáticos y son inmóviles o solubles, dependiendo del protocolo de análisis.
- **CONJUGADOS ENZIMATICOS:** son antígenos o anticuerpos unidos en forma covalente a la enzima de elección. Así pues, el reactivo que se forma de la unión covalente entre enzima y antígeno o anticuerpo es el conjugado

6. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD

Nº	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	RESPONSABLE	REGISTRO
1.	Preparación de Materiales, Equipos y Reactivos	Se preparan los siguientes materiales para el procesamiento: Reactivos y equipo: - 1X PBS estéril (Thermo Gibco, ref: 10010-023). - Blotto, leche en polvo descremada (Slight Colanta leche descremada). - Tween 20 (Sigma-Aldrich, ref: p-1379). - Dulbeco ´s fosfato saline buffer, PBS en pólvoro, sin calcio ni magnesio, para resuspender en 10L (Thermo Gibco, ref: 21600069).	Bacteriólogo	Ninguno



UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO

ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgG SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE



SC 7384-1

SA-CERE 557626

OS-CER 597555

CÓDIGO

MI-INV-LAB-PR

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2021

PÁGINA

3 de 9

- SARS-CoV-2 Glucoproteína de Espícula (S) recombinante. Native Antigen Co. Ref: REC31868-500 (concentración de stock: 0.5 mg/mL). Batch #20112609D. Descripción: Glucoproteína de Espícula de SARS-CoV-2 de longitud completa, expresada y purificada desde células CHO His-tag. Pureza >95%.
- SARS-CoV-2 glucoproteína de Espícula S1, RBD, expresada en células HEK293 (Native Antigen Co, ref: REC31882-500, Bacht #20112609D). Pureza 95%.
- Anti-IgG humana hecho cabra biotilado (Seracare-KPL, ref: 5260-0031).
- Estreptavidina marcada con peroxidasa (Seracare-KPL, ref: 5270-0029).
- 2-componentes peroxidasa-substrato (Seracare-KPL, ref: 5120-0050).
- Ácido Sulfúrico (H₂SO₄, Merk, 98% pureza), 2M.
- Microplacas de ELISA 96 pozos (ThermoScientific Immulon 4HBX, fondo plano, ref: 3855)
- Micropipetas de 0.5-10uL, 20-200uL, 200-1000uL.
- Pipeta multicanal de 20-200uL.
- Lector de microplacas multiuso (VarioSkan DeLux, Thermo Scientific).

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO**

**ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgG SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE**



SC 7384-1

SA-CERE 557626

OS-CER 597555

CÓDIGO**MI-INV-LAB-PR****VERSIÓN****1****VIGENCIA****2021****PÁGINA****4 de 9**

		Nota: Todos los reactivos deben alcanzar la temperatura ambiente (TA) para ser usados en el ELISA.		
2.	Cálculos para ELISA:	<ul style="list-style-type: none"> Solución para cubrir pozos: Proteína S recombinante a 1ug/mL en 1X PBS estéril ó RBD recombinante a 1ug/mL en PBS estéril. Para preparar Blotto al 5%: para 50 mL: 2.5 g de leche descremada en 1X PBS + 500 uL de Tween 20 al 10% (diluido en agua destilada). (Blotto 2.5%: se puede diluir al 2.5% con PBS 1X). Buffer de lavado: Tween 20 al 0.1% en 1X PBS: 10 mL de Tween 20 al 10% en 1L de 1X PBS. Concentración de anti-IgM marcado con biotina, solución de trabajo: 0.5ug/mL en blotto al 2.5% (1/1,000). Estreptavidina marcada con peroxidasa, concentración de trabajo (0.5ug / mL en blotto 2.5%) (1/1,000). 	Bacteriólogo	MI-INV-LAB-FO Mapa y Hoja de Cálculo para ELISA
3.	PROCEDIMIENTO	<ol style="list-style-type: none"> Agregue 50uL/pozo de proteína S o RBD recombinante (ambas a 1ug/mL). Incubar durante la noche a 4°C. Al día siguiente, deseche y elimine cualquier líquido restante invirtiendo la placa y frotándola con toallas de papel limpias. Luego, agregue 150 uL/pozo de blotto al 5% para bloquear las uniones inespecíficas. Incubar durante 1 hora a 37°C. Desechar y añadir 50 uL/pozo de las muestras de plasma diluidas 1/200 en Blotto 2.5%. Incubar durante 2 horas a 37°C. 	Bacteriólogo	MI-INV-LAB-FO Mapa y Hoja de Cálculo para ELISA

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



SC 7384-1



SA-CERE 557626



OS-CER 597555



4. Desechar y lavar manualmente con buffer de lavado tres veces. Deseche y elimine cualquier líquido restante invirtiendo la placa, golpeándola suavemente y secando con toallas de papel limpias.
5. Añada 50uL/pozo de anti-IgG humana biotinilado. Incubar durante 1 hora a 37°C.
6. Desechar y lavar manualmente con buffer de lavado tres veces. Deseche y elimine cualquier líquido restante invirtiendo la placa y secando con toallas de papel limpias.
7. Añada 50uL/pozo de estreptavidina marcada con HRP e incube durante 1 hora a 37°C.
8. Desechar y lavar manualmente con buffer de lavado tres veces. Deseche y elimine cualquier líquido restante invirtiendo la placa, golpeando sutilmente y secando con toallas de papel limpias.
9. Agregue 50uL/pozo de TMB. La mezcla de los componentes A y B del TMB debe estar a temperatura ambiente para su uso. Incubar a TA el tiempo necesario, tomando como referencia los controles positivo y negativo. Evite colocar la placa a la luz directa.
10. Agregue 50uL/pozo de H₂SO₄ 2M para detener la reacción. Esperar 2 min a que se detenga por completo la reacción.



**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO**

**ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgG SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE**



SC 7384-1

SA-CERE 557626

OS-CER 597555

CÓDIGO**MI-INV-LAB-PR****VERSIÓN****1****VIGENCIA****2021****PÁGINA****6 de 9**

		11. Leer la placa a 450nm en el VarioSkan DeLux. Antes de colocar la placa en el lector multiuso, limpiarla con toalla absorbente, en especial los fondos de los pozos.		
4.	CONDICIONES DE LA MUESTRA	<p>El traslado de las muestras biológicas al Laboratorio de Infección e Inmunidad debe efectuarse de acuerdo con las normas de transporte de muestras biológicas de la IATA.</p> <p>Se debe realizar lista de chequeo en el formato MI-INV-LAB-FO Criterios de Rechazo de muestras.</p> <p>Al recibir las muestras, estas vienen en tubo tapa lila, se deben centrifugar a 200 xg por 10 minutos y separar el plasma en viales, estos deben ser congelados inmediatamente a -80 y deben ser codificadas según la base de datos del I&I Lab. Realizar al menos 3 alícuotas con 400uL cada una de los pacientes incluidos.</p> <p>Descongele las muestras directamente a temperatura ambiente.</p> <p>Realizar la menor cantidad de veces posibles la descongelación de las muestras.</p>	Bacteriólogo y de Laboratorio	MI-INV-LAB-FO Criterios de Rechazo de muestras
5.	CONTROLES Y DE MATERIAL REFERENCIA	<p>CONTROL NEGATIVO: Pool de pacientes (mínimo 5), caracterizados negativos por ELFA y RT-qPCR ó pacientes sanos con muestra tomada antes del 2015.</p> <p>CONTROL POSITIVO:</p>	Bacteriólogo	MI-INV-LAB-FO Mapa y Hoja de Cálculo para ELISA

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO**

**ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgG SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE**



SC 7384-1

SA-CERE 557626

OS-CER 597555

CÓDIGO**MI-INV-LAB-PR****VERSIÓN****1****VIGENCIA****2021****PÁGINA****7 de 9**

Pool de pacientes con infección confirmada por SARS-CoV-2 tomada entre 14 a 30 días después del inicio de síntomas, RT-qPCR y ELFA+.

6.2 ENSAYO

Nº	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	RESPONSABLE	REGISTRO
1.	Recomendaciones	<ul style="list-style-type: none"> Tener en cuenta los criterios de rechazo para estas muestras: <ul style="list-style-type: none"> Muestras hemolíticas Muestras lipémicas Utilizar todas las medidas de protección necesarias con el buen uso de EPP. Recuerde verificar los cálculos antes de iniciar el procesamiento. Las pipetas deben estar al día con su calibración. El material debe estar limpio y estéril. Mantenga los reactivos a la temperatura adecuada. El flujo de trabajo debe ser en un sólo sentido y sin devolverse, ya que esto puede generar contaminaciones. 	Bacteriólogo	No Aplica

6. OBSERVACIONES

- Todos los equipos que se usen deben ser registrados en el formato MI-INV-LAB-FO-93 CONTROL USO DE EQUIPOS
- Usar todos los EPP a lo largo de todos los experimentos para prevenir la contaminación
- Se debe hacer cambio o desinfección de guantes después de tocarse la piel (por ejemplo, la cara)
- Contar con un juego de micropipetas dedicado exclusivamente al trabajo con ELISA.

7. DOCUMENTOS REFERENCIADOS:

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO

ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgG SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE



CÓDIGO

MI-INV-LAB-PR

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2021

PÁGINA

8 de 9

- World Health Organization. WHO manual for the establishment of national and other secondary standards for antibodies against infectious agents focusing on SARS-CoV-2. 2021. Draft version 12/10/2021.
- Ministerio de Salud y Protección Social. Lineamientos para el uso de pruebas moleculares RT-PCR, pruebas de antígeno y pruebas serológicas para SARS-CoV-2 (COVID-19) en Colombia.
- Stadlbauer D et al. A detailed protocol for a serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans: antigen production and test setup. Current Protocols in Microbiology. 2020. 57:1-15.
- Amanat F et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. 2020. Nature Medicine. 26: 1033-1036

8. CONTROL DE CAMBIOS

VERSION	DOCUMENTO Y FECHA DE APROBACIÓN	DESCRIPCIÓN DE CAMBIOS
1	Febrero de 2022	Creación del Documento.

ELABORÓ

REVISÓ

APROBÓ

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
LABORATORIO**

**ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA
DETECCIÓN DE IgG SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE**



SC 7384-1



SA-CERE 557626



OS-CER 597555



CÓDIGO

MI-INV-LAB-PR

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2021

PÁGINA

9 de 9

SANDRA LILIANA DELGADO MARTÍNEZ
Líder de Calidad

VoBo: CARLOS FERNANDO NARVAEZ
Coordinador Laboratorio de Infección e Inmunidad

ARIADNA HOYOS STERLING
Coordinador SGC

MAYRA ALEJANDRA BERMEO BALAGUERA
Coordinador SGC

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

ANEXO 8.

IgM-N

	Condition		Totals
	Absent	Present	
Test Positive	23	61	84
Test Negative	139	23	162
Totals	162	84	246

Calculate

Reset

	Estimated Value	95% Confidence Interval	
		Lower Limit	Upper Limit
Prevalence	0.341463	0.283133	0.404835
Sensitivity	0.72619	0.616243	0.815153
Specificity	0.858025	0.792492	0.906041
For any particular test result, the probability that it will be:			
Positive	0.341463	0.283133	0.404835
Negative	0.658537	0.595165	0.716867
For any particular positive test result, the probability that it is:			
True Positive (Positive Predictive Value)	0.72619	0.616243	0.815153
False Positive	0.27381	0.184847	0.383757
For any particular negative test result, the probability that it is:			
True Negative (Negative Predictive Value)	0.858025	0.792492	0.906041
False Negative	0.141975	0.093959	0.207508
likelihood Ratios:			
[C] = conventional			
[W] = weighted by prevalence [definitions]			
Positive [C]	5.114907	3.426272	7.635784
Negative [C]	0.319116	0.224818	0.452968
Positive [W]	2.652174	1.827927	3.84809
Negative [W]	0.165468	0.113094	0.242096
The entry 'NaN' in any of the above cells means that the calculation cannot be performed because the values entered include one or more instances of zero.			
Technical note on calculation of confidence intervals.			

IgM-S

	Condition		Totals
	Absent	Present	
Test Positive	6	78	84
Test Negative	154	8	162
Totals	160	86	246

Calculate

Reset

	Estimated Value	95% Confidence Interval	
		Lower Limit	Upper Limit
Prevalence	0.349593	0.290811	0.413158
Sensitivity	0.906977	0.819958	0.956093
Specificity	0.9625	0.916514	0.984665
For any particular test result, the probability that it will be:			
Positive	0.341463	0.283133	0.404835
Negative	0.658537	0.595165	0.716867
For any particular positive test result, the probability that it is:			
True Positive (Positive Predictive Value)	0.928571	0.845284	0.97063
False Positive	0.071429	0.02937	0.154716
For any particular negative test result, the probability that it is:			
True Negative (Negative Predictive Value)	0.950617	0.901681	0.976857
False Negative	0.049383	0.023143	0.098319
likelihood Ratios:			
[C] = conventional			
[W] = weighted by prevalence [definitions]			
Positive [C]	24.186047	10.999602	53.180546
Negative [C]	0.096648	0.049932	0.18707
Positive [W]	13	5.999208	28.170387
Negative [W]	0.051948	0.026417	0.102156
The entry 'NaN' in any of the above cells means that the calculation cannot be performed because the values entered include one or more instances of zero. Technical note on calculation of confidence intervals.			

Printable Report

IgG-S

	Condition		Totals
	Absent	Present	
Test Positive	4	72	76
Test Negative	161	9	170
Totals	165	81	246

Calculate

Reset

	Estimated Value	95% Confidence Interval	
		Lower Limit	Upper Limit
Prevalence	0.329268	0.271651	0.392316
Sensitivity	0.888889	0.794763	0.944796
Specificity	0.975758	0.935153	0.992206
For any particular test result, the probability that it will be:			
Positive	0.308943	0.252613	0.371353
Negative	0.691057	0.628647	0.747387
For any particular positive test result, the probability that it is:			
True Positive (Positive Predictive Value)	0.947368	0.863636	0.983006
False Positive	0.052632	0.016994	0.136364
For any particular negative test result, the probability that it is:			
True Negative (Negative Predictive Value)	0.947059	0.898777	0.973946
False Negative	0.052941	0.026054	0.101223
Likelihood Ratios:			
[C] = conventional			
[W] = weighted by prevalence [definitions]			
Positive [C]	36.666667	13.884628	96.829703
Negative [C]	0.113872	0.061487	0.210887
Positive [W]	18	6.924449	46.790729
Negative [W]	0.055901	0.029581	0.105637
The entry 'NaN' in any of the above cells means that the calculation cannot be performed because the values entered include one or more instances of zero.			
Technical note on calculation of confidence intervals.			

Printable Report

IgG-RBD

	Condition		Totals
	Absent	Present	
Test Positive	4	72	76
Test Negative	162	8	170
Totals	167	79	246

Calculate

Reset

	Estimated Value	95% Confidence Interval	
		Lower Limit	Upper Limit
Prevalence	0.321138	0.264021	0.383946
Sensitivity	0.911392	0.820423	0.960614
Specificity	0.976048	0.935908	0.9923
For any particular test result, the probability that it will be:			
Positive	0.308943	0.252613	0.371353
Negative	0.691057	0.628647	0.747387
For any particular positive test result, the probability that it is:			
True Positive (Positive Predictive Value)	0.947368	0.863636	0.983006
False Positive	0.052632	0.016994	0.136364
For any particular negative test result, the probability that it is:			
True Negative (Negative Predictive Value)	0.958824	0.913663	0.981838
False Negative	0.041176	0.018162	0.086337
likelihood Ratios:			
[C] = conventional			
[W] = weighted by prevalence [definitions]			
Positive [C]	38.050633	14.415539	100.436802
Negative [C]	0.090782	0.044744	0.184189
Positive [W]	18	6.924449	46.790729
Negative [W]	0.042945	0.020781	0.088747
The entry 'NaN' in any of the above cells means that the calculation cannot be performed because the values entered include one or more instances of zero.			
Technical note on calculation of confidence intervals.			

Printable Report

ANEXO 9.



UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

FORTALECIMIENTO DE CAPACIDADES INSTALADAS DE CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE LA GOBERNACIÓN DEL HUILA Y LA UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA PARA ATENDER PROBLEMÁTICAS ASOCIADAS CON
AGENTES BIOLÓGICOS DE ALTO RIESGO PARA LA SALUD HUMANA EN
EL DEPARTAMENTO DEL HUILA

[BPIN 2020000100145](#)

Carlos Fernando Narváez
Médico Inmunólogo
Jefe División de Inmunología
cfnarvaez@usco.edu.co

Febrero de 2022



UNIVERSIDAD
SURCOLOMBIANA

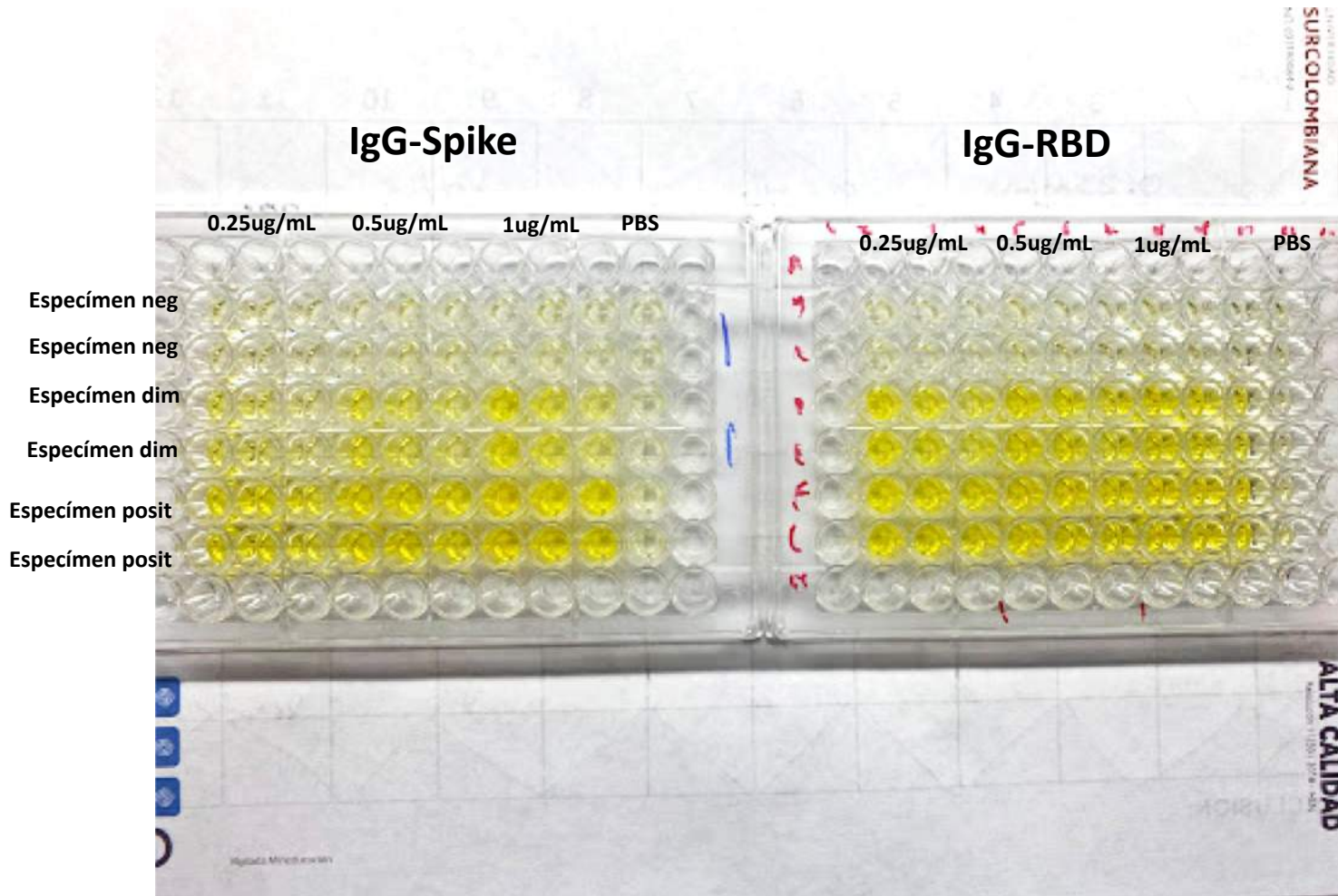
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

SOPORTES EN IMÁGENES DE LA ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DEL INMUNOENSAYO LIGADO A ENZIMA PARA DETECCIÓN DE IgM e IgG SARS-CoV-2 ESPECÍFICA CIRCULANTE

Carlos Fernando Narváez
Médico Inmunólogo
Jefe División de Inmunología
Facultad de Salud
cfnarvaez@usco.edu.co
Neiva – Huila

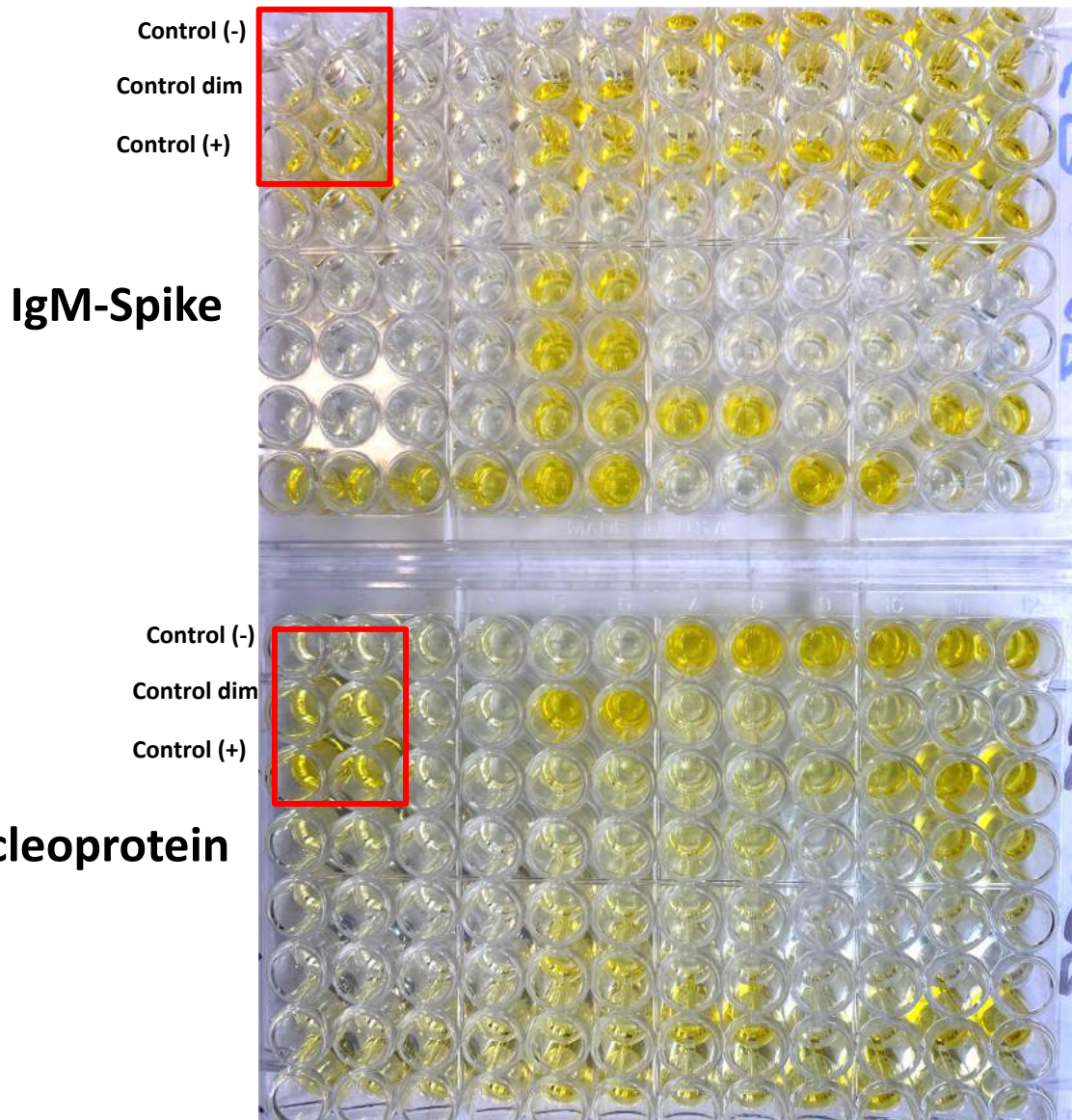
Sexto Informe Técnico Trimestral
Universidad Surcolombiana
Facultad de Salud – Programa de Medicina

Titulación de la concentración de las proteínas recombinantes usada para la cubierta de los ELISAS para detectar IgG SARS-CoV-2 específica





Detección de IgM SARS-CoV-2 específica en pacientes pandémicos

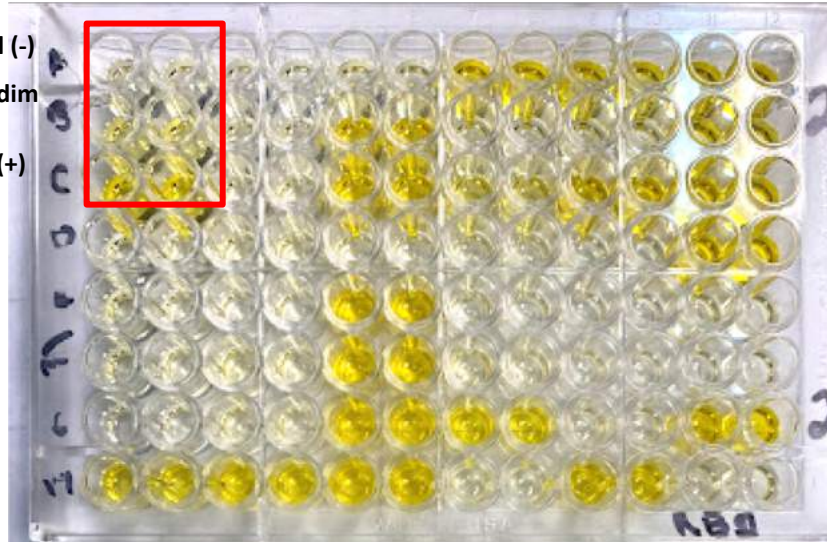


**45 pacientes
Pandémicos
por duplicado
Para las dos
proteínas**

Detección de IgG SARS-CoV-2 específica en pacientes pandémicos

IgG-RBD

Control (-)
Control dim
Control (+)



IgG-Spike

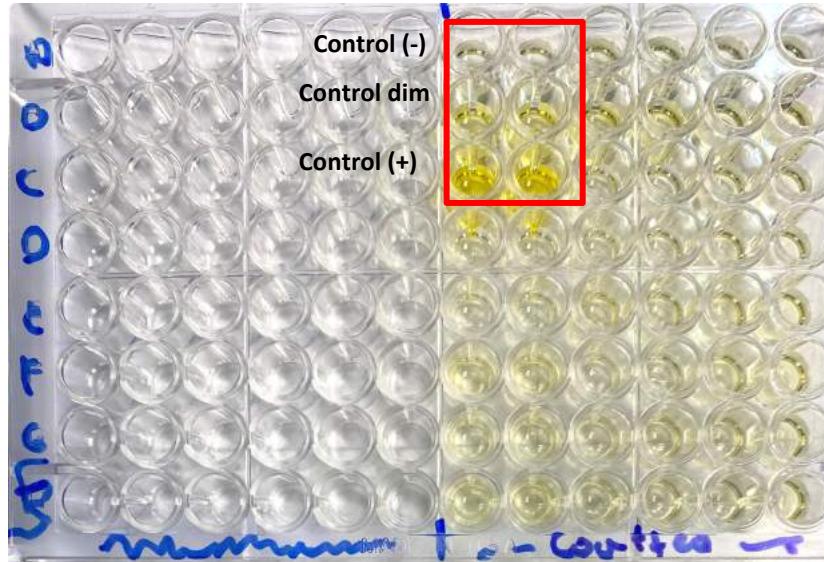
Control (-)
Control dim
Control (+)





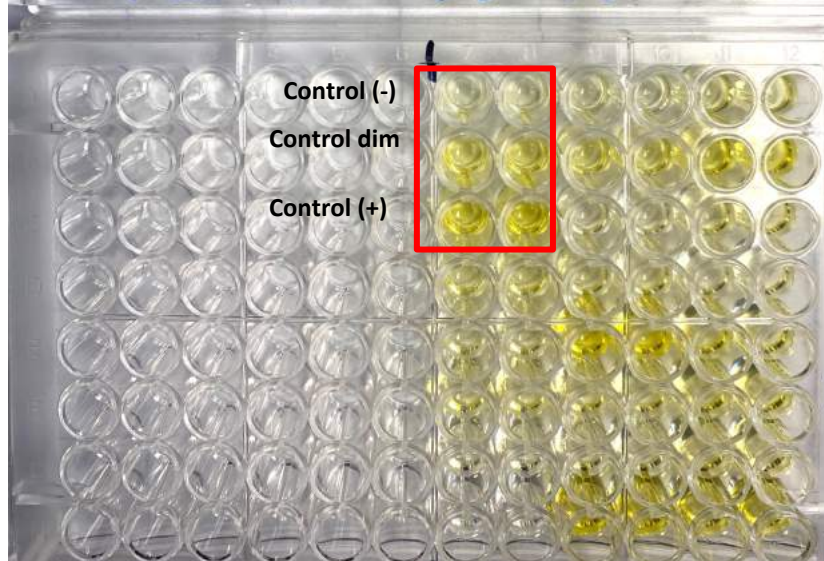
Evaluación de la reactividad cruzada para IgM SARS-CoV-2 específica

IgM-Spike



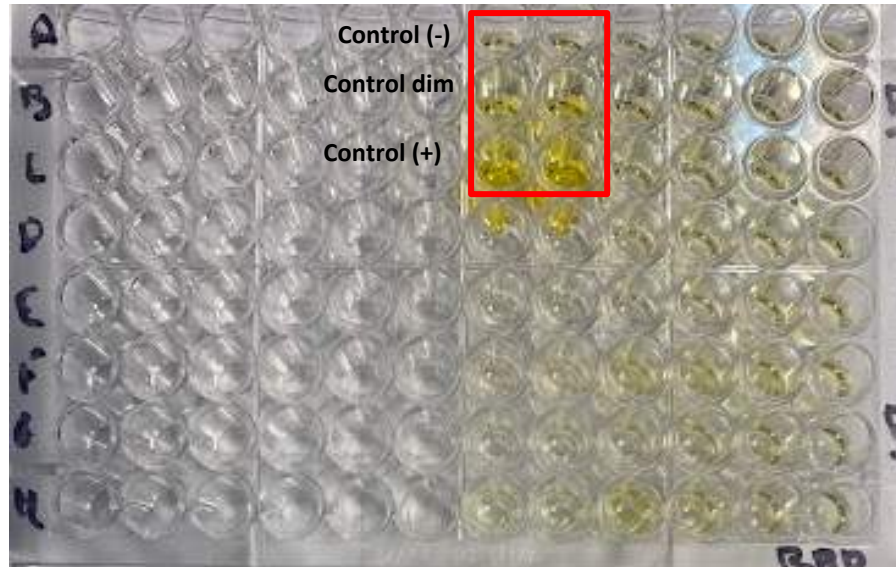
**21 voluntarios sanos
Prepandémicos por
duplicado**

IgM-Nucleoprotein

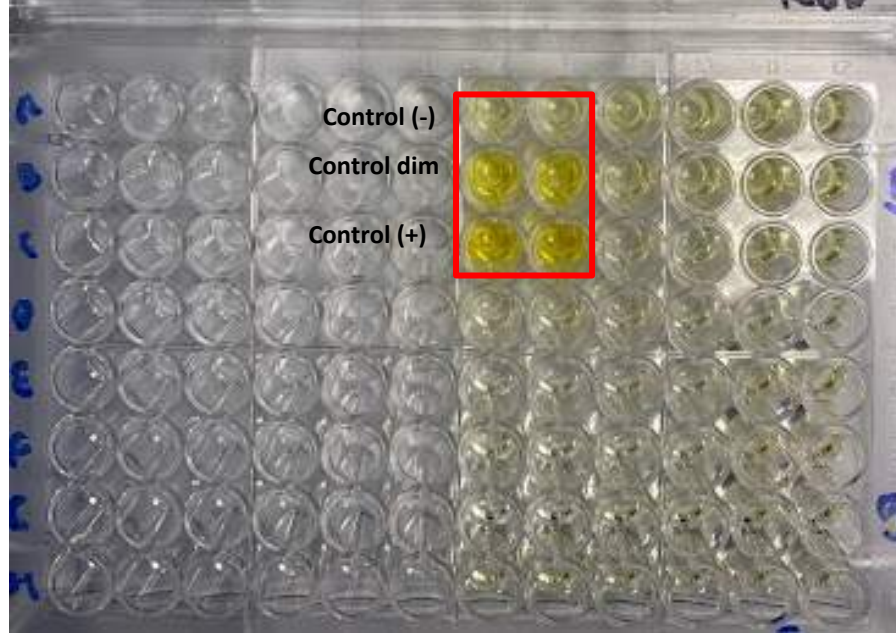


Evaluación de la reactividad cruzada para IgG SARS-CoV-2 específica

IgG-RBD



IgG-Spike

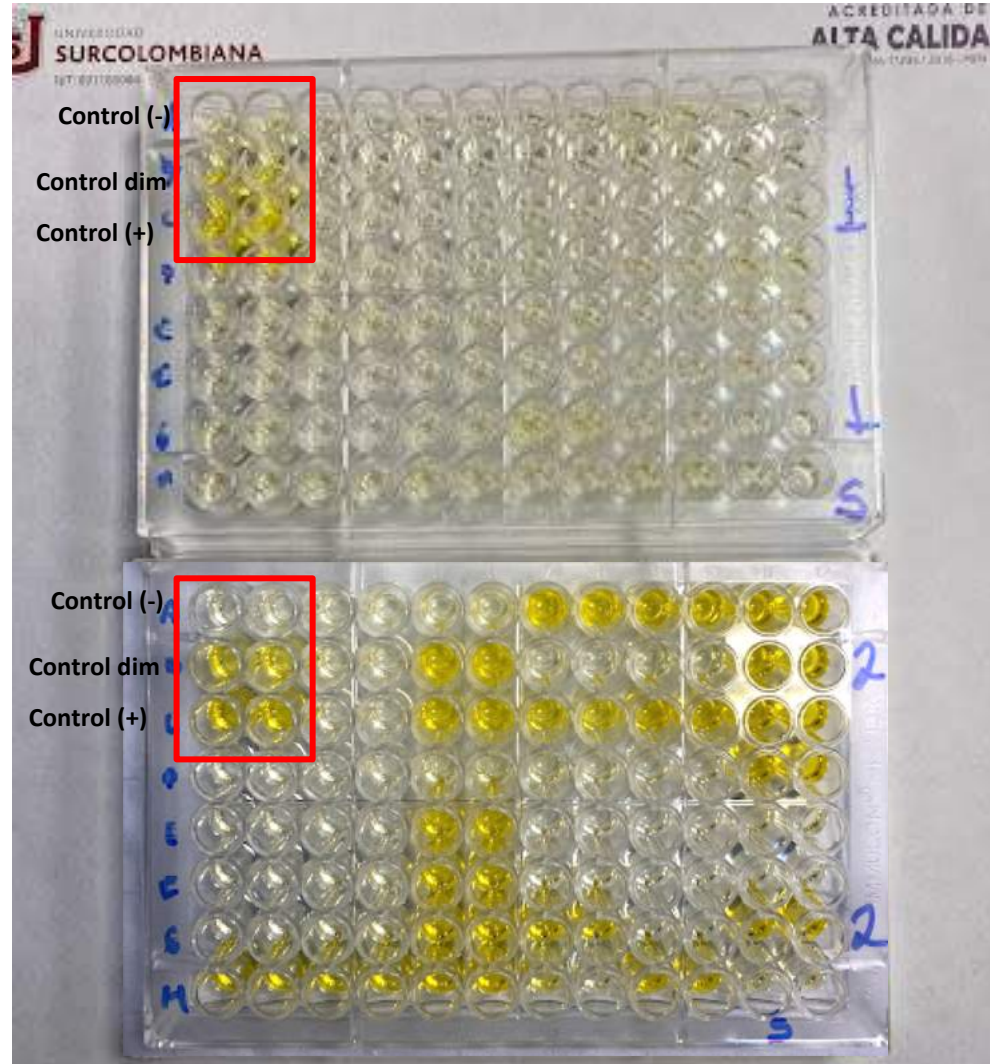


**21 voluntarios sanos
Prepandémicos por
duplicado**

Detección de IgG-Spike específica circulante: Comparación entre pre pandémicos y pandémicos

45 voluntarios sanos

Prepandémicos por duplicado



45 pacientes pandémicos
por duplicado

Resultados finales validación de Inmunoensayo ligado a enzima para detección de IgM e IgG SARS-CoV-2 específica circulante

Tipo de test	Concordancia	Indice Kappa	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
IgM SARS-CoV-2						
IgM-Nucleoprotein	81.3%	0.58 (0.47-0.69)	72.6%	85.8%	72.6%	85.8%
IgM-Spike	94.3%	0.87 (0.81-0.93)	90.6%	96.2%	92.8%	95%
IgG SARS-CoV-2						
IgG- RBD	95.1%	0.88 (0.82-0.94)	91.1%	97.6%	94.7%	95.8
IgG-Spike	94%	0.87 (0.81-0.94)	88.8%	97.5%	94.7%	94.7

VPP: Valor predictivo positivo; VPN: Valor predictivo negativo.

Especímenes positivos evaluados: 84
Especímenes negativos evaluados: 162