

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

**SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR PARA LA DETECCIÓN DE
SARS-CoV-2 POSTVACUNA RELACIONADAS CON LAS
CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS
EN CINCUENTA ESTUDIANTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA – UNSAAC**

PRESENTADA POR:

- Bach. Lucana Alvarez, Wendy Alcione
- Bach. Solorzano Huarcaya, Katherin

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO**

ASESORA:

- Blga. Cjuno Huanca, Olga Libia

CO ASESORA:

- Dra. Quispe Ricalde, María Antonieta

CUSCO – PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, Asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: Semi-Nested Multiplex PCR para la detección de SARS-CoV-2 postvacuna relacionadas con las características sociodemográficas y epidemiológicas en cincuenta estudiantes de la Escuela Profesional de Biología - UNSAAC.

presentado por: Kathenn Solorzano Huarcayo con DNI Nro.: 73045222, presentado por: Windy Alcione Lucena Alvarez con DNI Nro.: 47496868 para optar el título profesional/grado académico de Biología.

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 1 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del *Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC* y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 7%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	<input checked="" type="checkbox"/>
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	<input type="checkbox"/>
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	<input type="checkbox"/>

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 21 de Mayo de 2024



Firma

Post firma OLGA L. CÍVICO HUANCÍA

Nro. de DNI 23941477

ORCID del Asesor 0000-0002-6419-5834

ORCID del Co-Asesor: 0000-0001-6349-1095

DNI co-Asesor: 23932572

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: old: 27259-293596344

Activa
Ir a Cor

NOMBRE DEL TRABAJO

TESIS COVID VACUNAS Lucana Alvarez & Solorzano Huarcaya.pdf

AUTOR

Wendy & Katherin Lucana & Solorzano

RECUENTO DE PALABRAS

35526 Words

RECUENTO DE CARACTERES

202637 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

147 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.6MB

FECHA DE ENTREGA

Dec 8, 2023 7:48 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Dec 8, 2023 7:51 AM GMT-5

● **7% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 6% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente

Activar W
Ir a Configu

INDICE

INTRODUCCIÓN	xv
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	xvii
JUSTIFICACIÓN	xix
OBJETIVOS	xx
OBJETIVO GENERAL	xx
HIPÓTESIS	xxi
VARIABLES	xxi
Variable dependiente	xxi
Variables independientes	xxi
CAPÍTULO I	22
MARCO TEÓRICO	22
1. ANTECEDENTES	22
1.1.INTERNACIONALES	22
1.2.NACIONALES	27
1.3.LOCALES	28
2. SARS-CoV-2	29
2.1.1. Origen	29
2.1.2. Taxonomía	29
2.1.3. Estructura	30
2.1.4. Replicación	32
2.1.5. Patogénesis	33
2.1.6. Variantes	35
2.1.7. Mutaciones	36
2.2. DIAGNÓSTICO DE SARS - CoV-2	37
2.2.1. PCR en Tiempo Real (RT- PCR)	37
2.2.2. Pruebas de antígenos	37
2.2.3. Serología (pruebas de anticuerpos)	37
2.2.4. Limitaciones de los métodos de diagnóstico	37
2.3. EXTRACCIÓN DE ARN	39
2.4. RETROTRANSCRIPCIÓN	39
2.5. PCR	39
2.6. ELECTROFORESIS	43
2.6.1. Gel Agarosa	43

2.6.2. SYBR Safe.....	44
2.6.3. Periodo de detección de SARS-CoV-2 A través de PCR.....	44
2.7. VACUNAS.....	45
2.7.1. Mecanismo de acción.....	45
2.7.2. Respuesta inmunitaria.....	45
2.7.3. Efectividad y duración de la protección.....	45
2.7.4. Componentes de la vacuna	46
2.7.5. Tipos de Vacunas utilizadas en Perú contra SARS-CoV-2.....	47
2.7.6. Efectos secundarios de las vacunas	49
2.8. Distribución de casos y defunciones por COVID - 19 en Cusco	50
2.8.1. Epidemiología del SARS-CoV-2 en Perú y la región de Cusco.....	50
CAPÍTULO II	53
MATERIALES Y MÉTODOS	53
2.1. Lugar de ejecución de la investigación	53
2.2. Material biológico.....	53
2.3. Materiales de laboratorio.....	54
2.4. Metodología	56
2.4.1. Tipo de investigación.....	56
2.4.2. Flujograma de la investigación	57
2.4.3. Descripción de las características sociodemográficas y epidemiológicas de la población en estudio.....	58
2.4.4. Detección de material genético de SARS-CoV-2 por el método Semi- nested Multiplex PCR	58
2.4.5. Criterios utilizados para determinar la positividad del sars-cov-2 en semi-nested multiplex per, y la interpretación clínica de los resultados.....	67
2.5. Análisis estadístico.....	68
CAPÍTULO III.....	70
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	70
3.1. Descripción univariable de características sociodemográficas y epidemiológicas de la población en estudio.....	70
3.2. Detección del material genético del SARS-CoV-2 mediante en método Semi-Nested multiplex PCR	83
3.3. Evaluación de la influencia de las variables independientes sobre casos positivos de SARS-CoV-2.....	90
3.4. Generación de un modelo que explique las probabilidades de los casos positivos de SARS-CoV-2.....	102

CONCLUSIONES.....	103
RECOMENDACIONES	105
REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	106
ANEXOS	116

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Forma y estructura del virión de SARS-CoV-2	30
Figura N° 2: Mecanismos de patogénesis de SARS-CoV-2.....	34
Figura N° 3: Detección de SARS-CoV-2	44
Figura N° 4: Distribución de casos y defunciones por COVID-19 en Cusco.....	50
Figura N° 5: Porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función a las personas con quien vive	72
Figura N° 6: Porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al lugar de alimentación	74
Figura N° 7: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al lavado de manos.....	75
Figura N° 8: Porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al foro	76
Figura N° 9: Signos y síntomas de la COVID-19 que presentaron los estudiantes de la escuela profesional de Biología	78
Figura N° 10: Efectos adversos postvacuna que presentaron los estudiantes de la escuela profesional de Biología	82
Figura N° 11: Marcador de peso molecular de 100 pb de las muestras N° 01, 02, 03, 04, 05, 06 y 07	84
Figura N° 12: Marcador de peso molecular de 100pb, las muestras N° 08, 09,10,11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,18, 19 y 20	85
Figura N° 13: Marcador de peso molecular de 100pb, las muestras N° 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32 y 33	853
Figura N° 14: Marcador de peso molecular de 100pb, las muestras N° 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 y 44.....	87
Figura N° 15: Marcador de peso molecular de 100pb, las muestras N° 45, 46, 47, 48, 49 y 50 ...	88
Figura N° 16: Casos positivos con relación al sexo	92
Figura N° 17: Porcentajes de alumnos en relación a los tipos de vacunas aplicadas en la última dosis como protección contra el SARS-CoV-2.	94
Figura N° 18: Tiempo transcurrido (semanas) desde la última dosis de la vacuna recibida por los alumnos hasta el momento de la toma de muestra.	95
Figura N° 19: Relación de uso de mascarilla y resultado de la Semi-nested Multiplex PCR para SARS-CoV-2.....	97

Figura N° 20: Relación de la distancia con el resultado de la Semi-nested Multiplex PCR para SARS-CoV-2	98
Figura N° 21: Relación de contacto con personas positivas y resultado de la Semi-nested Multiplex PCR para SARS-CoV-2.	99
Figura N° 22: Relación de los estudiantes positivos y negativos en función a la sintomatología.	100
Figura N° 23: Resultado predictivo de las pruebas COVID-19	103

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Cebadores usados para la amplificación del gen E y N del SARS-CoV-2	60
Tabla N° 2: Secuencias de los cebadores del gen E.....	61
Tabla N° 3: Secuencias de los cebadores del gen N	61
Tabla N° 4: Componentes y concentraciones de la retrotranscripción de la Semi-Nested Multiplex PCR.....	62
Tabla N° 5: Componentes y concentraciones de la 1ra PCR Multiplex	63
Tabla N° 6: Componentes y concentraciones de la 2da PCR Multiplex.	65
Tabla N° 7: Lugar de procedencia de los estudiantes de la escuela profesional de Biología.	
Tabla N° 8: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al sexo.....	71
Tabla N° 9: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función a la edad	72
Tabla N° 10: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al tipo de transporte utilizado	73
Tabla N° 11: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al uso de mascarillas	74
Tabla N° 12: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al distanciamiento	76
Tabla N° 13: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al contacto con personas positivas	77
Tabla N° 14: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función a las comorbilidades	77
Tabla N° 15: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al número de dosis de vacunas recibidas	79
Tabla N° 16: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función a las vacunas recibidas	80
Tabla N° 17: Frecuencia y porcentaje de la última dosis de vacuna recibida contra la COVID-19	80
Tabla N° 18: Frecuencia y porcentaje del tiempo (semanas) desde la última dosis de la vacuna recibida	81
Tabla N° 19: Tamaño de las bandas del gen E y del gen N presentes en el producto de la electroforesis de muestras positivas para SARS-CoV-2.....	89

Tabla N° 20: Tabla de contingencia de la prueba Chi- X^2 de las variables independientes con la condición positiva a la COVID-19.....	90
Tabla N° 21: Resumen del modelo	102
Tabla N° 22: Índice de concordancia de kappa	103

ABREVIATURAS

ADNc: Ácido desoxirribonucleico complementario.

ARN: Ácido ribonucleico.

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.

CP: Control positivo

CN: Control negativo

Ct: (Cycle Thershold) Ciclo de umbral.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

RT- qPCR: Transcriptasa reversa- reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa.

STN RT-PCR: Single tube nested.

RT-PCR Tm: Temperatura de melting

SARS-CoV-2: (Severe acute respiratory syndrome- related coronavirus) Coronavirus relacionado con el síndrome respiratorio agudo severo.

ACTB: Beta- actina.

ECA2: Enzima conversiva de la angiotensina 2.

RdRp: (RNA- dependent RNA polimerase) ARN dependiente de ARN polimerasa.

E: (Envelope) Envoltura.

N: (Nucleocapsid) Nucleocápside.

S: (Spike) Espiga.

ORF: (Open reading frame) Marco abierto de lectura.

OSN-qRT-PCR: (One- Step Single- Tube Nested Quantitative Real- Time PCR) PCR en tiempo real cuantitativa anidada de un solo tubo de un solo paso.

ABSTRACT

In the present study, the detection of infection by the SARS-CoV-2 virus was carried out in post-vaccinated students belonging to the Professional School of Biology of the National University of San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), using the technique of SEMI-NESTED multiplex PCR. The main objective was to identify both asymptomatic and symptomatic infections, evaluate the effectiveness of the administered vaccines and understand the dynamics of virus transmission.

50 nasopharyngeal/oropharyngeal swab samples were collected from students of the Faculty of Biology, of which 95% had received three doses of vaccination and 5% had completed four doses with various vaccines, such as Pfizer, Sinopharm, AstraZeneca and Moderna. Sociodemographic and epidemiological data, as well as information on vaccination status, were collected using a modified research form and subjected to statistical analysis using the Chi-square test. For SEMI-NESTED multiplex PCR, specific primers targeting the envelope (E) and nucleocapsid (N) genes of SARS-CoV-2 were used.

The results revealed the presence of SARS-CoV-2 genetic material in 18% (n=9) of the students, while 82% (n=41) tested negative. Within the positive group, 66% remained asymptomatic, while 14% presented symptoms such as cough, sore throat and nasal congestion. All positive students had completed three doses of vaccination, with AstraZeneca being the most common (50%), followed by Sinopharm (24%), Pfizer (18%) and Moderna (8%). The average time from the last dose to the study was 36 to 40 weeks, and some students experienced post-vaccine discomfort, such as arm pain, myalgias, and fever.

The analysis of epidemiological variables using Pearson's Chi square test revealed that factors such as the use of masks, social distancing and contact with positive people had a statistical significance of $p < 0.05$, indicating their influence on the probability of result. positive or negative to SARS-CoV-2. The spread of the virus in the studied population was evaluated by calculating Cox and Snell's R square and Nagelkerke's R square, with significant results of 76.8% and 73.8%, respectively, for the dependent variable. Furthermore, the Kappa coefficient was 0.70, indicating good agreement between the variables and the positive result for SARS-CoV-2.

Keywords: SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR, SARS CoV-2, PCR, COVID-19.

RESUMEN

En el presente estudio, se llevó a cabo la detección de la infección por el virus SARS-CoV-2 en estudiantes postvacunados pertenecientes a la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), empleando la técnica de PCR multiplex SEMI-NESTED. El objetivo principal consistió en identificar tanto infecciones asintomáticas como sintomáticas, evaluar la efectividad de las vacunas administradas y comprender la dinámica de transmisión del virus.

Se recolectaron 50 muestras de hisopos nasofaríngeos/orofaríngeos de estudiantes de la Facultad de Ciencia Biológicas, de los cuales el 95% habían recibido tres dosis de vacunación y el 5% habían completado cuatro dosis con diversas vacunas, como Pfizer, Sinopharm, AstraZeneca y Moderna. Se recopilaron datos sociodemográficos y epidemiológicos, así como información sobre el estado de vacunación mediante una ficha de investigación modificada, y se sometieron a análisis estadístico mediante la prueba de Chi cuadrado. Para la PCR multiplex SEMI-NESTED, se emplearon cebadores específicos dirigidos a los genes de la envoltura (E) y la nucleocápside (N) del SARS-CoV-2.

Los resultados revelaron la presencia del material genético del SARS-CoV-2 en el 18% (n=9) de los estudiantes, mientras que el 82% (n=41) resultaron negativos en la prueba. Dentro del grupo positivo, el 66% permanecía asintomático, mientras que el 14% presentaba síntomas como tos, dolor de garganta y congestión nasal. Todos los estudiantes positivos habían completado tres dosis de vacunación, siendo AstraZeneca la más común (50%), seguida por Sinopharm (24%), Pfizer (18%) y Moderna (8%). El tiempo promedio transcurrido desde la última dosis hasta el estudio fue de 36 a 40 semanas, y algunos estudiantes experimentaron molestias postvacuna, como dolor en el brazo, mialgias y fiebre.

El análisis de variables epidemiológicas mediante la prueba de Chi cuadrado de Pearson reveló que factores como el uso de mascarillas, el distanciamiento social y el contacto con personas positivas tenían una significancia estadística de $p < 0,05$, indicando su influencia en la probabilidad de resultado positivo o negativo al SARS-CoV-2. La propagación del virus en la población estudiada se evaluó mediante el cálculo de R cuadrado de Cox y Snell y R cuadrado de Nagelkerke, con resultados significativos del 76,8% y 73,8%, respectivamente, para la variable dependiente.

Además, el coeficiente de Kappa fue de 0,70, indicando una buena concordancia entre las variables y el resultado positivo para SARS-CoV-2.

Palabras clave: SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR, SARS CoV-2, PCR, COVID-19.

INTRODUCCIÓN

El virus causante del síndrome respiratorio agudo severo originado en China en diciembre de 2019 se identificó como SARS-CoV-2. La enfermedad, denominada COVID-19, fue declarada pandemia el 11 de marzo de 2020 por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2021).

En Perú, la interacción entre el sistema de salud, los desafíos económicos, sociales y demográficos ha contribuido a una tasa de letalidad de hasta el 8,96%, una de las más altas en América Latina, con 4'142,104 casos positivos y un 5,2% de defunciones durante la segunda ola de contagios (INS, 2022). La población más afectada incluye adultos mayores y aquellos con comorbilidades como obesidad, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Oliva et al., 2022). En respuesta, se han implementado estrategias, destacando la vacunación masiva y las pruebas de detección de SARS-CoV-2. La vacunación se reconoce como efectiva para prevenir la enfermedad y reducir la propagación del virus (OMS, 2021), y se destaca la importancia de evaluar la respuesta inmunitaria en aquellos vacunados a medida que avanza el proceso.

En Perú el total de dosis administradas al mes de mayo de 2023 fue de 89'520,690 donde hay un total de 26,878,200 personas vacunadas con la primera dosis, 25'832,758 personas vacunadas con la segunda dosis; 21'330,684 personas vacunadas con la tercera dosis y 6'944,650 personas vacunadas con la cuarta dosis (MINSA, 2023). En Cusco, las dosis administradas son de un 87% contra la COVID-19 (REUNIS, 2023) con las diversas vacunas: BNT162b2 de Pfizer-BioNTech, Oxford/AstraZeneca, Ad26.CoV-2. S de Janssen, Moderna (ARNm-1273), Sinopharm, CoronaVac de Sinovac (MINSA, 2023),

Entre todas las técnicas que surgieron para la detección del SARS-CoV-2, la técnica de Semi-nested Multiplex PCR es una herramienta prometedora en la detección precisa y rápida del virus, permitiendo identificar la presencia del material genético viral en muestras clínicas (Kim *et al.*, 2021), esta técnica combina la sensibilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con la capacidad de detectar múltiples objetivos en una sola reacción, lo que permite identificar diferentes genes del SARS-CoV-2.

La importancia en la continuidad del desarrollo de las actividades laborales y el proceso educativo se ve significativamente influida por el regreso a las actividades presenciales. Aunque las altas tasas de vacunación reducen el riesgo de infección y aceleran la eliminación viral, es crucial tener en cuenta que existen antecedentes que indican que las variantes delta y

ómicron del SARS-CoV-2 pueden ser altamente transmisibles incluso en personas que han sido vacunadas (Singanayagam, 2022).

Al llevar a cabo esta investigación, se pretende obtener información de la infección por SARS-CoV-2 en los estudiantes postvacunados de la Facultad de Ciencias Biológicas. Esto permitirá evaluar la efectividad de las vacunas utilizadas y comprender mejor la dinámica de transmisión del virus en este grupo específico. Además, se podrán identificar posibles casos de infección asintomática o sintomática, lo que ayudará a implementar medidas de control y prevención adecuadas para evitar la propagación del virus (Torre *et al.*, 2012).

La finalidad de este trabajo de investigación es llenar un vacío en el conocimiento científico al determinar la infección por SARS-CoV-2 en estudiantes postvacunados de la Facultad de Ciencias Biológicas utilizando la técnica de Semi-nested Multiplex PCR. Los resultados obtenidos serán de relevancia para la salud pública y contribuirán a la implementación de medidas efectivas de control y prevención en entornos educativos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La pandemia ocasionada por la COVID-19 ha producido un total de 4'530,204 casos positivos y un total de 220,602 fallecidos en el Perú, hasta el 12 de diciembre 2023 (MINSA, 2023).

Desde la identificación del virus que causó la pandemia, se han desarrollado diversas vacunas contra la COVID-19 para que de esta manera se pueda inmunizar a la población y controlar la propagación del virus.

Según el boletín epidemiológico N°37 del Ministerio de Salud, en diciembre de 2022 se inició la quinta ola en el Perú, debido a que el aumento de contagios ha superado el 5%, siendo Lima la ciudad con mayor número de contagiados, por lo que el ministro de salud exhortó a la población a dirigirse a los centros de vacunación con el fin de recibir la tercera y cuarta dosis de la vacuna.

Según el Ministerio de Salud hasta 10 de diciembre de 2023 hay un total de 91' 412, 580 dosis aplicadas entre la primera, segunda, tercera, cuarta dosis y la vacuna bivalente en todo el país, en Cusco el total de dosis aplicadas es de 1'253, 527 entre la primera, segunda, tercera, cuarta dosis y la vacuna bivalente (vacuna de refuerzo que protege al virus original y los linajes de la variante ómicron) (MINSA, 2023).

En razón a que más del 50% de la población ya se encuentran inmunizados con la vacuna contra la COVID-19, el gobierno peruano dispuso el retorno a la presencialidad en universidades públicas y privadas, así como en escuelas de postgrado a partir del segundo semestre de 2022 de acuerdo a las disposiciones vigentes, según la Resolución Ministerial N° 094-2022-MINEDU (anexo N°01). De esta manera el Vicerrectorado Académico de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), aprobó la Directiva para la implementación de actividades académicas presenciales en la UNSAAC, plasmada en la Resolución N° CU-220-2022-UNSAAC (anexo N°02), dicha resolución establece los lineamientos, acciones y procedimientos para un retorno seguro a la UNSAAC.

La problemática del presente trabajo se centra en la detección de la infección por SARS-CoV-2 en estudiantes postvacunados que han retomado las clases presenciales a un 100 % de aforo, posterior a dichas disposiciones por la UNSAAC, porque la asistencia a clases presenciales aumenta el riesgo de transmisión del virus, aunque se hayan implementado medidas de prevención, como el uso de mascarillas y el distanciamiento físico, sin embargo el tiempo de permanencia y la inestabilidad de las medidas de protección, además de la concentración de

personas en espacios cerrados, juegan un papel importante en la transmisión de la enfermedad de la COVID-19 (Pinzón, 2020).

La Seminested Multiplex PCR se desarrolló para mejorar la sensibilidad y tiene la ventaja de detectar varios genes diana simultáneamente; a diferencia de la PCR convencional que detecta cada gen diana por separado.

En ese sentido se plantea la siguiente interrogante:

¿La Semi-nested Multiplex PCR, detectará a SARS-CoV-2 postvacuna en estudiantes de la escuela profesional de Biología – UNSAAC?

JUSTIFICACIÓN

Aunque todas las vacunas autorizadas han demostrado eficacia en la reducción de la enfermedad y la transmisión del virus SARS-CoV-2, es importante señalar que ninguna de estas vacunas garantiza una protección del 100%. Con la aparición de la variante ómicron el número de personas vacunadas e infectadas aumentó considerablemente, cabe recalcar que el estar vacunado protege de enfermarse gravemente o morir, más no de volver a contagiarse (ISGLOBAL, 2022), de manera que, persiste la preocupación de que los estudiantes postvacunados puedan contraer y propagar el virus de manera asintomática o con síntomas leves.

Como resultado en los avances de la vacunación, disminución de contagios, mayor cantidad de altas hospitalarias y disminución en número de fallecidos, el gobierno peruano adoptó una serie de medidas y recomendaciones a nivel nacional en respuesta a la pandemia por COVID-19 en Perú, medidas de control establecidas en el Decreto Supremo N° 118-2022-PCM (anexo N°03) publicado el 01 de octubre de 2022, como lavarse las manos con agua y jabón frecuentemente; el uso de mascarillas en establecimientos de salud, en servicios de transporte terrestre de personas, en espacios cerrados sin ventilación y en espacios abiertos es opcional; evitar aglomeraciones; además que las entidades públicas y privadas deben tener sus locales debidamente ventilados.

La UNSAAC no es ajena a esta situación, así mismo es responsable en la aplicación de las medidas de seguridad en las aulas de clases, laboratorios, comedor y espacios dentro de la universidad, evitando aglomeraciones, para salvaguardar la salud de los estudiantes, y realizar un control a todo el personal administrativo, docente y estudiantes, para evitar la propagación de esta enfermedad. Por lo expuesto se propone investigar y evaluar la eficacia de la técnica de Semi-nested Multiplex PCR en la detección temprana del SARS-CoV-2 en estudiantes de biología que asisten a clases presenciales. Se busca determinar si esta técnica es capaz de identificar de manera precisa y sensible la presencia del virus en muestras de estudiantes, lo que permitiría detectar los casos positivos de manera oportuna y tomar acciones para prevenir la propagación del virus en el entorno universitario, brindando un ambiente más seguro para el desarrollo académico y personal de los estudiantes, así como de todos los trabajadores de la UNSAAC.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la infección por SARS- CoV-2, en los estudiantes postvacunados contra COVID-19 de la Facultad de Ciencias Biológicas por el método de Semi-nested Multiplex PCR.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características sociodemográficas y epidemiológicas de la población en estudio.
- Detectar el material genético del SARS-CoV-2 mediante el método Semi-nested Multiplex PCR.
- Evaluar la influencia de los estudiantes de la Escuela Profesional de Biología sobre casos positivos de SARS-CoV-2.
- Generar un modelo que explique las probabilidades de los casos positivos de SARS-CoV-2.

HIPÓTESIS

Es posible detectar a SARS-CoV-2 en estudiantes postvacunados contra COVID-19 de la Facultad de Ciencias Biológicas mediante la técnica Semi-nested Multiplex PCR.

VARIABLES

Variable dependiente

- Detección del SARS-CoV-2 (positivo/negativo).

Variables independientes

- Estudiantes de la escuela profesional de Biología

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. ANTECEDENTES

1.1. INTERNACIONALES

Amparo *et al.* (2021). En España analizaron la “Efectividad de la vacuna COVID-19: Información para la acción en la vigilancia centinela de Infección Respiratoria Aguda Grave (IRAG)”, de los 1,104 pacientes estudiados, concluyeron que existe una efectividad considerable en las vacunas superando el 90%, con relación a la protección de infección por COVID-19 sin importar la diferencia de edad, sin embargo, en adultos mayores de 80 años, la protección disminuye a un 83%. La vacuna mRNA (Pfizer, Moderna) ofrece un 90% de efectividad, Janssen 79% y AstraZeneca 73% con alta protección frente a variantes Alpha y Delta, demostrando que a partir del quinto mes ocurre una disminución progresiva en la efectividad de la vacuna.

Alonso *et al.* (2022). En Cataluña evaluaron la reapertura escolar y las estrategias preventivas implementadas en las escuelas en términos de riesgo general para los niños y la transmisión comunitaria, comparando las tasas de transmisión en niños detectadas por una plataforma de vigilancia COVID-19 durante el primer trimestre de clases (septiembre-diciembre de 2020). Encontraron 30,486 infecciones (2,12%) de 1,5 millones de alumnos, con el 54 % de casos en primaria y el 97,5% en secundaria, en comparación con los resultados implica una menor transmisibilidad para los niños en el contexto de las medidas aplicadas que son minimizar el riesgo individual, garantizar la detección rápida y el aislamiento posterior de cualquier caso positivo. Aislar y examinar los contactos cercanos de los casos positivos así deberían mantenerse para el funcionamiento adecuado y seguro de las actividades escolares normales académicas y presenciales.

Bart *et al.* (2021). En Connecticut analizaron el brote de SARS-CoV-2 en una universidad con alto porcentaje de vacunación contra la COVID-19 durante agosto de 2021 a septiembre de 2021. Mediante encuesta estudiantil anónima en línea se recopiló datos demográficos, historial de casos de SARS-CoV-2, vacunación y actividades realizadas anteriores al brote. Obtuvieron, 11% de los estudiantes (199/1788) tenían infección por SARS-CoV-2 confirmada por laboratorio; la mayoría estaba completamente vacunados (194/199, 97%). Las tasas de contagio fueron más altas entre los estudiantes de segundo año (72/414, 17 %) y los estudiantes no vacunados (5/18, 28 %). Asistir a clases en persona con un estudiante infeccioso no se asoció con la infección (ODDs ratio ajustado [aOR], 1,0; intervalo de confianza del 95 % [IC], 0,5–

2.2). En comparación con los estudiantes no infectados, los estudiantes infectados tenían más probabilidades de ser estudiantes de segundo año (ORa, 3,3; IC del 95 %, 1,1–10,7), asistir a reuniones sociales sin mascarillas antes del brote (aOR, 2,8; IC 95 %, 1,3–6,4) y completar una serie de vacunas ≥ 180 días antes (ORa, 5,5; IC 95 %, 1,8–16,2). Los análisis filogenéticos sugirieron una fuente viral común para la mayoría de los casos. Concluyeron en que la infección por SARS-CoV-2 en esta población universitaria altamente vacunada se asoció con personas fuera del campus sin mascarilla en reuniones sociales, no con las clases presenciales.

Becker *et al.* (2021). Realizaron un estudio en Paraguay analizando las reacciones adversas postvacunación y la eventual infección por COVID-19 en odontólogos. La investigación, de tipo observacional descriptivo de corte transversal y llevada a cabo mediante encuestas en línea, reveló que de los 675 odontólogos encuestados, el 87,20% tenían todas las vacunas completas. El 76,3% experimentó alguna reacción adversa, siendo la astenia la más común (28,4%). Tras la vacunación, el 9,3% afirmó haberse infectado con SARS-CoV-2, con un 6,3% de ellos requiriendo hospitalización. El estudio concluyó que no hay asociación entre grupos de edad ni tipo de vacuna con la infección postvacunación, y no se reportaron reacciones graves postvacuna.

Cárdenas *et al.* (2023). llevaron a cabo un estudio en España durante el primer trimestre del curso 2021/2022 para evaluar la transmisión, incidencia e impacto de las nuevas variantes del SARS-CoV-2 en escolares. La investigación, de tipo observacional descriptivo longitudinal, abarcó alumnos de diferentes niveles educativos. Los resultados mostraron 1,526 casos de SARS-CoV-2, con una incidencia acumulada del 3,17% en la población general y del 0,48% en el ámbito escolar, siendo el 20,9% de los casos vacunados. Se observó un aumento significativo de la incidencia a partir de la semana 49, coincidiendo con la propagación de la variante ómicron en España, con un aumento especialmente notable en bachillerato. La correlación alta ($R^2=0,59$) entre la incidencia provincial y escolar fue evidente. Los autores concluyeron que la educación presencial no debe considerarse como un foco de infección, sino como un amplificador de la transmisión comunitaria. Recomiendan fortalecer las acciones preventivas, la vigilancia epidemiológica en estudiantes y promover la vacunación en todos los rangos de edad.

Doyle *et al.* (2021). En Illinois, Chicago determinaron múltiples variantes de SARS-CoV-2 en un brote universitario después de las vacaciones de primavera de marzo a mayo de 2021. Se diagnosticaron un total de 158 casos de COVID-19 entre estudiantes universitarios entre el 15 de marzo y el 3 de mayo de 2021; la mayoría de los casos (114; 72,2%) vivía en dormitorios

en el campus. Entre los 140 estudiantes infectados que fueron entrevistados, 89 (63,6 %) informaron viajes recientes fuera de Chicago durante las vacaciones de primavera y 57 (40,7 %) informaron exposiciones sociales en interiores, solo tres de los estudiantes con COVID-19 (1,9%) estaban completamente vacunados. La secuenciación del genoma completo (WGS) de 104 especímenes reveló múltiples linajes distintos de SARS-CoV-2, lo que sugiere varias introducciones casi simultáneas, mayoría de los especímenes (66; 63,5 %) eran B.1.1.222, un linaje poco detectado en Chicago antes o después de este brote.

Foddis *et al.* (2022). En Italia, compararon los títulos resultantes de la vacunación y trataron de comprender los factores potenciales que afectan la respuesta inmune a las vacunas contra el SARS-CoV-2 disponible, a través de pruebas de seropositividad. Usaron 670 voluntarios empleados en la Universidad de Pisa (Italia) y sometidos a un programa de vigilancia de la salud en el Hospital Universitario de Pisa. Para cada participante se tomaron 10 mL de sangre, información sobre contactos con casos confirmados de la COVID-19, edad, sexo, estado de vacunación contra el SARS-CoV-2, infección previa por SARS-CoV 2 y síntomas, tipo y fecha de administración de la vacuna. En el análisis multivariado se encontró que el tipo de vacuna, la presencia de síntomas en individuos positivos al SARS-CoV-2 y la distancia desde la segunda dosis afectaron significativamente el título de anticuerpos; la vacunación combinada reflejó una disminución más rápida en el tiempo en comparación con los otros tipos de vacunación. No se observaron diferencias significativas entre Spikevax y Comirnaty ($p > 0,05$), mientras que los niveles de anticuerpos se mantuvieron más estables en los sujetos que recibieron la vacuna Vaxzevria ($p < 0,01$) en comparación con las vacunas basadas en ARNm.

Good *et al.* (2022). En Estados Unidos determinaron las infecciones y reinfecciones en atletas entre una Universidad totalmente vacunada y otra no vacunada de enero a noviembre de 2021. Con una población de 1378 estudiantes previo a la aparición de la variante Ómicron. Observaron que 61,4% ($n=308$) de los estudiantes atletas se infectaron después de completar la vacunación. En relación a la diferencia por raza, se encontró una significativa disparidad entre los estudiantes atletas negros (14,7%, $n=40$) y blancos (23,9%, $n=168$) en términos de infección por SARS-CoV-2 después de completar la vacunación ($P < 0,01$). Sin embargo, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas por sexo en las proporciones de infecciones entre individuos completamente vacunados ($P=0,06$). Se utilizó una metodología que implicó la recopilación de información individual de los estudiantes atletas, incluyendo datos demográficos, fechas de prueba de la COVID-19, resultados de las pruebas, fechas de vacunación y tipo de vacuna. Además, se llevaron a cabo análisis de chi-cuadrado y análisis de

contraste para comparar el estado de vacunación y las infecciones entre los vacunados completos según características demográficas. Los resultados revelaron que, de las 846 personas completamente vacunadas que dieron positivo por la COVID-19, el 61,6% recibió la vacuna Pfizer-BioNTech, el 24,0% recibió la vacuna J&J/Janssen, y el 14,8% recibió la vacuna Moderna. También se encontraron diferencias significativas en las proporciones de infecciones después de la vacunación completa entre los diferentes tipos de vacunas. Aquellos que recibieron la vacuna J&J/Janssen tuvieron una proporción de infección más alta en comparación con aquellos que recibieron Pfizer y Moderna ($P < 0,01$).

Luzuriaga *et al.* (2021). En un estudio realizado en la ciudad de Buenos Aires, examinaron el efecto de la administración de las vacunas contra la COVID-19 en la tasa de nuevos casos la presencia de la enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2 en los profesionales de la salud. Mediante el Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS) identificaron casos confirmados entre los meses de abril 2020 hasta marzo del 2021. Lograron identificar la disminución de casos positivos del personal de salud en comparación a la población. El 42% del personal de salud contaba con la primera dosis de vacuna y el 24% con la segunda dosis, observándose que la cantidad de contagiados en la población aumentó a 10 % sin embargo en el personal de salud disminuyó a 35% desde el comienzo de la administración de las vacunas contra la COVID-19 a fines de diciembre de 2020. se observó una reducción en el número de nuevos casos de la COVID-19 en el personal médico. Así mismo encontraron una reducción proporcional de los casos en el personal de salud después de la vacunación en la provincia de Buenos Aires, y se presentaron los primeros datos disponibles en el país acerca del efecto de las vacunas contra la COVID-19.

Muangman *et al.* (2022). Determinaron la prevalencia de infección por la COVID -19 en estudiantes y personal en la Universidad privada de Rangsit de Tailandia utilizando un kit de detección rápida de antígenos de SARS-CoV-2 realizaron un estudio retrospectivo que analizó los datos de cuestionarios proporcionados por 2466 individuos que trabajaban y estudiaban en la Universidad, recopilaron datos sobre género, estado de vacunación, tipo de vacuna, síntomas iniciales y entorno. El 93,71 % de los estudiantes y el estuvieron vacunados, 1,18% de los estudiantes y el personal estaban infectados. Todos los casos de infección fueron confirmados mediante pruebas de PCR en tiempo real. Las vacunas utilizadas fueron CoronaVac y AstraZeneca en 66,02% y 33,98%, respectivamente. El porcentaje de infectados después de la vacunación no difirió entre las dos vacunas. El porcentaje de personas infectadas fue de 0,31

% para CoronaVac y 0,29 % para AstraZeneca. La vacunación demostró ser efectiva en la prevención de la infección, y los síntomas iniciales y el entorno son factores importantes que aumentan el riesgo de infectarse.

Petros *et al.* (2023). En Estados Unidos, describieron el rápido dominio de Ómicron luego de su introducción en tres universidades con programas de vigilancia asintomática. Mediante un estudio descriptivo, colectaron 1758 muestras de las fosas nasales y analizaron mediante RT-qPCR, del cual eliminaron 152 muestras por no ser de las variantes Ómicron o Delta. En este trabajo encontraron que las muestras de Ómicron no tenían cargas virales más altas que las muestras de Delta, lo que sugiere que una mayor transmisión de Ómicron no está impulsada por cargas virales más altas. Encontraron que 90% de las muestras positivas son de la variante Ómicron, lo que indica que la trayectoria hacia la fijación de Ómicron ocurrió más rápidamente en las tres Universidades.

Singanayagam *et al.* (2022). En Reino Unido realizaron un estudio prospectivo y longitudinal en personas vacunadas y no vacunadas en las cuales calcularon la transmisión colectiva y activa de la carga viral de la variante delta del SARS-CoV-2 (B.1.617.2). Se identificaron 471 casos de la COVID-19, con 8145 muestras nasofaríngeas diarias durante 20 días, donde la SAR (tasa de ataque secundario) para las personas completamente vacunadas, fue del 25 % (IC del 95 %: 18 a 33), en las personas no vacunadas fue 38 % (24 a 53). El tiempo transcurrido desde la segunda dosis de la vacuna hasta el día del estudio, fue de (mediana de 101 días [RIC 74-120]) y de 64 días [32-97], $p = 0,001$, para las personas no infectadas. La carga viral máxima no difirió según el estado de vacunación o el tipo de variante, aumentó modestamente con la edad (diferencia de 0,39 [intervalo de credibilidad del 95 % -0,03 a 0,79] en la carga viral máxima la carga viral máxima log₁₀ por ml entre los de 10 años y 50 años). Las personas completamente vacunadas con infección por la variante delta tuvieron una tasa media más rápida (probabilidad posterior >0,84) de disminución de la carga viral (0,95 log₁₀ copias por ml por día) que las personas no vacunadas con pre-alfa (0,69), alfa (0,82) o infecciones variantes delta (0,79). La vacunación reduce el riesgo de infección por la variante delta y acelera la eliminación viral. No obstante, las personas completamente vacunadas con infecciones irruptivas tienen una carga viral máxima similar a los casos no vacunados y pueden transmitir la infección de manera eficiente en entornos domésticos, incluso a contactos completamente vacunados.

Layan *et al.* (2022). En Israel realizaron un estudio observacional sobre el impacto de la vacunación con BNT162b2 de Pfizer-BioNTech en la transmisión del SARS-CoV-2 en hogares israelíes 7 días después de la segunda dosis desde diciembre de 2020 hasta abril de 2021, identificaron casos confirmados entre trabajadores de la salud del Centro Médico Sheba y sus familiares. Los datos se analizaron utilizando un marco bayesiano de aumento de datos. Trabajaron con 210 hogares con 215 casos confirmados; 269/667 (40%) contactos domésticos susceptibles desarrollaron una infección por SARS-CoV-2, de ellos, 170 (63%) desarrollaron síntomas. En comparación con los contactos adultos/adolescentes (mayores de 12 años) no vacunados y no aislados, la vacunación redujo el riesgo de infección entre los contactos adultos/adolescentes no aislados (riesgo relativo (RR) = 0,21, intervalo creíble (CrI) del 95 %: 0,08, 0,44), y el aislamiento redujo el riesgo de infección entre adultos/adolescentes no vacunados (RR = 0,12, 95% CrI: 0,06, 0,21) y contactos infantiles (RR = 0,17, 95% CrI: 0,08, 0,32). La infectividad se redujo en los casos vacunados (RR = 0,25, 95% CrI: 0,06, 0,77).

Wang *et al.* (2020). En China desarrollaron y evaluaron un nuevo ensayo de PCR en tiempo real cuantitativa de un solo paso y de tubo único, anidado (OSN-qRT-PCR) para la detección altamente sensible del SARS-CoV-2. El ensayo OSN-qRT-PCR demostró una sensibilidad 10 veces mayor que el kit comercial de PCR en tiempo real (qRT-PCR), con una sensibilidad de detección de 1 copia por reacción. Se evaluó el rendimiento clínico del ensayo OSN-qRT-PCR utilizando 181 muestras clínicas. Se detectaron 14 muestras negativas por qRT-PCR mediante OSN-qRT-PCR, incluyendo 7 muestras sin resultados repetitivos y 7 muestras sin valores de umbral de ciclo (CT). Además, las 7 muestras qRT-PCR positivas en la zona gris (CT de ORF1ab entre 37,48 y 39,07, y CT de N entre 37,34 y 38,75) fueron consideradas positivas por OSN-qRT-PCR, lo que indica que la positividad de estas muestras es confirmatoria. En comparación con el kit de qRT-PCR, el ensayo OSN-qRT-PCR reveló una mayor sensibilidad y especificidad, mostrando una mejor adecuación para la detección del SARS-CoV-2 en pacientes con una carga viral baja.

NACIONALES

Pareja *et al.* (2021). En Lima detectaron anticuerpos neutralizantes en profesionales de la salud vacunados contra el SARS-CoV-2. Formaron parte de este estudio 117 profesionales de la salud vacunados con la segunda dosis de la vacuna Sinopharm, consideraron edad, sexo, infección previa por la COVID-19 y concentración de anticuerpos neutralizantes en el suero, detectados mediante inmunoensayo de electro quimioluminiscencia (eCLIA). Concluyeron que

personas vacunadas e infectadas previamente por SARS-CoV-2 aumentaba significativamente la concentración de anticuerpos neutralizantes en relación con las que se vacunaron, pero no presentaron infección previa.

Valladares *et al.* (2022). En Lambayeque realizaron un análisis de cohorte retrospectivo para determinar los factores clínico-epidemiológicos asociados a la positividad para SARS-CoV-2 en pacientes atendidos en el Hospital Regional de Lambayeque durante el periodo de emergencia sanitaria en el contexto de la pandemia por la COVID 19. Observaron que, a medida que aumentaba el grupo etario demográfico, aumentaba el porcentaje de seropositividad, siendo positivos el 66,8% de los adultos mayores, frente al 37,4% de los niños ($p < 0,001$). Evidenciaron más hombres seropositivos que mujeres (61,1% vs. 54,1%; $p < 0,001$). Los síntomas más frecuentes de los pacientes con sospecha de la COVID-19 fueron tos (65,0%), ageusia (78,6%) y fiebre (77,6%) (p -valor $< 0,001$). Las comorbilidades con más pacientes seropositivos fueron obesidad (80,7%) y diabetes mellitus (73,6%) (p -value $< 0,001$). En cuanto a los signos de la enfermedad, los hallazgos anormales en la resonancia magnética (98,11%) y la disnea (28,7%) fueron los más comunes en los pacientes con sospecha de la COVID-19, al igual que en los pacientes seropositivos, que fueron la disnea (81,4%) y los hallazgos anormales en la tomografía (75,3 %) (valor $p < 0,001$). Se encontró una asociación significativa entre la edad, el género, los síntomas y las comorbilidades con la positividad del virus de SARS-CoV-2.

1.2. LOCALES

Soto (2022). En Cusco estandarizó y validó la SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR para el diagnóstico de COVID-19, para lo cual seleccionó un conjunto de cebadores dirigidos a los genes de la envoltura (E) y la nucleocápside (N) del SARS – CoV- 2; La validación lo realizó analizando 152 muestras (39 positivas y 113 negativas, comparando los resultados de SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR con detección estándar por RT- qPCR, la concordancia entre ambas se determinó calculando el coeficiente de kappa. La SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR obtuvo una sensibilidad de 92,31%, especificidad de 96,46%, VPP 90,00%, VPN 97,32%, el coeficiente de kappa fue de 0,89 lo que indica una alta concordancia entre la técnica de SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR y la RT-qPCR. Posteriormente, se realizó la validación del cebador F_E26080 mediante el análisis de 25 muestras positivas y 47 muestras negativas. Los resultados mostraron una sensibilidad del 96%, especificidad del 97,8%, valor predictivo positivo del 96%, valor predictivo negativo del 98,83% y un coeficiente de kappa de 0,93.

2. SARS-CoV-2

El síndrome agudo respiratorio severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) es causado por un virus altamente transmisible y patógeno que consta de un segmento de ácido nucleico (ARN) en el interior de una cubierta proteica denominada cápside, posee variación genética y la capacidad de mutar (Hu,2021).

Pertencen a la familia de los coronavirus, que también incluye otros virus como el SARS-CoV- 1 y el MERS-CoV, cuyas diferencias son el número, tipo y tamaño de las proteínas en su estructura, que provocan enfermedades en el humano, de éstas, cuatro son prevalentes y causan síntomas típicos de resfriado (229E, OC43, NL63, HKU1) (Vargas *et al.*, 2020).

2.1.1. Origen

Según algunos investigadores existe un vínculo entre el SARS-CoV-2 y otros coronavirus similares previamente conocidos, encontrados en la subespecie de murciélagos *Rhinolophus affinis*, que tiene una amplia distribución en el sureste chino (Cortés, 2020).

2.1.2. Taxonomía

Según Aragón *et al.*, (2019) la taxonomía perteneciente al SARS- CoV- 2 es la siguiente:

Reino: Orthornavirae

Phylum: Pisuviricota

Clase: Pisoniviricetes

Orden: Nidovirales

Suborden: Cornidovirineae

Familia: Coronaviridae

Subfamilia: Orthocoronaviridae

Género: Betacoronavirus

Subgénero Sarbecovirus

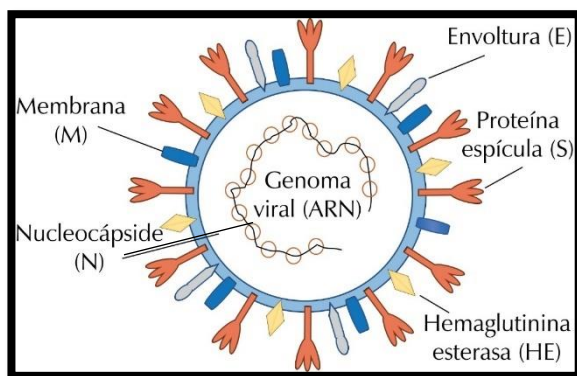
Especies: SARS-CoV-2

2.1.3. Estructura

Presentan forma esférica, con diámetro de 80 a 160 nanómetros con picos en la membrana de 9 a 12 nanómetros, que le confiere la apariencia de corona. Contiene una cadena de ARN monocatenario de sentido positivo como su material genético. El ARN viral de 26 a 32 kb de longitud, contiene la información genética necesaria para la replicación y la síntesis de proteínas virales. SARS-CoV-2 contiene cinco proteínas estructurales principales, las cuales son: las proteínas espiga (S), membrana (M), envoltura (E) y nucleocápside (N) y la Hemaglutinina-esterasa (HE) (Wang *et al.*, 2020) que se puede observar en la figura N°01.

Figura N° 1:

Forma y estructura del virión de SARS-CoV-2



Nota: (Wang *et al.*, 2020).

SARS-CoV-2, el virus responsable de la enfermedad COVID-19, contiene diversas proteínas que desempeñan funciones clave en su estructura, replicación y patogenicidad. A continuación, se describen las principales proteínas del SARS-CoV-2 y sus funciones:

- **Proteína Spike (S):** Las proteínas de espícula son una característica distintiva del SARS-CoV-2. Estas proteínas se encuentran en la superficie del virus y forman estructuras en forma de espícula que le dan al virus su apariencia de "corona". Las proteínas de espícula están compuestas por dos subunidades: S1 y S2. La subunidad S1 es responsable de la unión del virus a los receptores de la célula hospedera, como el receptor ACE2, mientras que la subunidad S2 está involucrada en la fusión del virus con la membrana celular. Es una de las principales dianas para la respuesta inmunitaria y la generación de anticuerpos neutralizantes (Jiménez *et al.*, 2023).
- **Proteína de la envoltura (E):** Es una proteína estructural que forma la envoltura del virus. Juega un papel importante en la formación y estabilidad del virus. También puede

desempeñar funciones en la respuesta inmunitaria y en la liberación de las partículas virales de las células infectadas (Hurtado, 2022).

- Proteína de la membrana (M): Es otra proteína estructural que se encuentra en la envoltura del virus. Participa en la formación de la estructura viral y en el ensamblaje con otras proteínas virales. También puede estar involucrada en la patogenicidad del virus (Jiménez *et al.*, 2023).
- Proteína Nucleocápside (N): Es una proteína que rodea el material genético del virus, estas proteínas se unen al ARN viral y forman un complejo con él, conocido como nucleocápside. La proteína N juega un papel esencial en la replicación y transcripción del virus, así como en la modulación de la respuesta inmunitaria del huésped (Gámez *et al.*, 2022).

Además de estas proteínas estructurales, el SARS-CoV-2 también contiene otras proteínas accesorias que desempeñan funciones diversas, como la supresión de la respuesta inmunitaria del huésped y la modulación de la replicación viral (Alfaro, 2022).

Algunas de estas proteínas accesorias según Ruiz, 2022 son:

- Proteína ORF (Open reading frame - Marco abierto de lectura) 3a: Esta proteína se encuentra en la membrana del virus y puede desempeñar un papel en la patogenicidad viral y en la modulación de la respuesta inmunitaria del huésped.
- Proteína ORF6: Esta proteína puede interferir con la respuesta inmunitaria del huésped al inhibir la producción de interferones, que son importantes moléculas antivirales.
- Proteína ORF7a: Se ha propuesto que esta proteína está involucrada en la evasión del sistema inmunitario del huésped, aunque aún se están investigando sus funciones precisas.
- Proteína ORF7b: Similar a la proteína ORF7a, se cree que esta proteína también puede estar involucrada en la modulación de la respuesta inmunitaria del huésped.
- Proteína ORF8: Se ha sugerido que esta proteína puede tener funciones inmunomoduladores y estar involucrada en la patogenicidad del virus. Sin embargo, su papel exacto aún se está investigando.

Algunas características de SARS-CoV-2

- Transmisión y propagación: El SARS-CoV-2, se transmite de persona a persona a través de las gotitas respiratorias que se producen cuando una persona infectada tose, estornuda, habla o exhala. Estas gotículas pueden ser inhaladas por personas cercanas o pueden caer sobre superficies y objetos, donde el virus puede sobrevivir durante un período de tiempo.

La transmisión también puede ocurrir al tocar superficies u objetos contaminados y luego tocarse la boca, la nariz o los ojos (Romero *et al.*, 2022).

- Alta capacidad de contagio: Característica importante del SARS-CoV-2 es su alta capacidad de contagio. Se estima que este virus se propaga más fácilmente que otros coronavirus, como el SARS-CoV y el MERS-CoV. La combinación de la alta carga viral en las vías respiratorias superiores, la presencia de la proteína Spike que se une eficientemente al receptor ACE2 y la liberación de partículas virales infecciosas antes de que los síntomas aparezcan, contribuye a su rápida propagación en la población (Romero *et al.*, 2022).
- Variabilidad genética: Al igual que otros virus, el SARS-CoV-2 puede experimentar mutaciones a medida que se replica. Estas mutaciones pueden dar lugar a diferentes variantes del virus, algunas de las cuales pueden tener características distintivas, como una mayor transmisibilidad o capacidad de escape inmunológico. El monitoreo y estudio de estas variantes es importante para comprender su impacto en la propagación del virus y en la efectividad de las medidas de control, como las vacunas (Pilaquinga, 2022).

2.1.4. Replicación

El primer paso de una infección viral es la unión a un receptor expresado por las células hospedadoras. El receptor celular que se ha identificado para la glicoproteína espiga S de SARS-CoV-2 es la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2), la cual se expresa en las células epiteliales del pulmón y el intestino delgado, que son los blancos primarios del SARS-CoV-2, y también es expresada en otros tejidos como riñón y corazón (Herrera, 2020). Este proceso es parte de la etapa de entrada del virus, en la cual la glicoproteína de espícula S utiliza sus dos subunidades funcionales para llevarlo a cabo: la subunidad S1, encargada de la interacción con el receptor de la célula huésped y la subunidad S2, que es responsable de fusionar el virus con las membranas celulares, es un proceso crucial en el ciclo de replicación viral (Wang *et al.* 2020). Al unirse la glicoproteína espiga (S) de SARS-CoV-2 al receptor ECA2, el complejo resultante es procesado proteolíticamente por la serina proteasa transmembrana 2 (TMPRSS2), lo que conduce a la escisión de ECA2 y a la activación de la glicoproteína espiga S, dando inicio al proceso de unión y fusión del virus con la membrana celular, finalizando con la entrada del virus a la célula hospedadora (Cano, 2022). Una vez que se ha establecido la unión entre el virus y la membrana celular, se inicia el proceso de fusión entre ambos. Una vez que se completa esta fusión, el material genético del virus, conocido como ARN genómico, es liberado en el citoplasma y se expone, lo que desencadena la formación de las poliproteínas pp1a y pp1b

lab, la transcripción de los ARN genómico y sub genómicos, los cuales son traducidos en proteínas estructurales (S, E, M y N). Posteriormente, las glicoproteínas de envoltura recién formadas se insertan en el retículo endoplásmico rugoso o en las membranas de Golgi. A continuación, el ARN mensajero y las proteínas de nucleocápside se unen para dar lugar a la formación de los viriones. Las partículas virales recién formadas son liberadas en el compartimento intermedio del Retículo Endoplásmico-Golgi. Desde este compartimento, las vesículas que contienen los viriones emergen y se desplazan hacia la membrana plasmática celular. Las partículas virales son liberadas por la célula y se dirigen a infectar células nuevas, en un ciclo continuo que finaliza con la recuperación o el fallecimiento del individuo (Oliva, 2020).

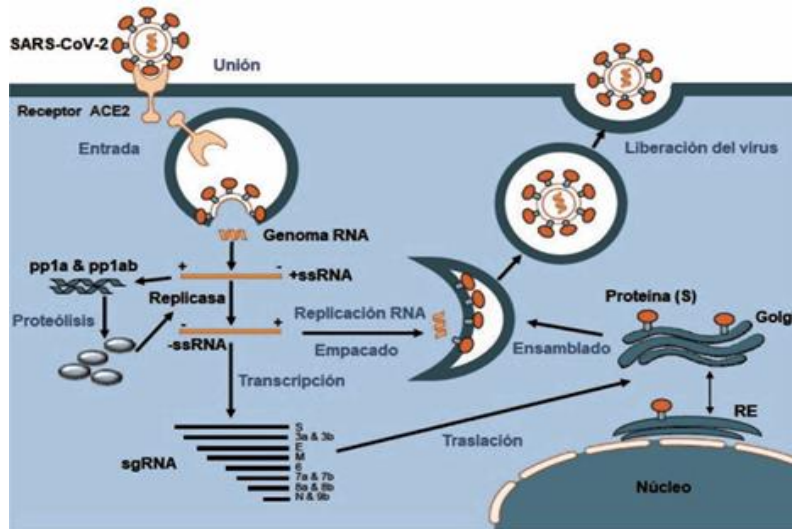
2.1.5. Patogénesis

El virus del SARS- CoV-2 ingresa al tracto respiratorio por medio de tejidos epiteliales mucosos de la cavidad nasal, orofaríngeo y laringe para terminar en los pulmones, posteriormente pasa a la sangre ocasionando viremia y ataca a los demás órganos que expresan ECA2. (Letko *et al.*, 2020). Esta enzima se encuentra presente en la membrana celular de diversas células del cuerpo, como las del cerebro, corazón, arterias, endotelio respiratorio, pulmones (específicamente en las células alveolares tipo II), hígado, intestinos, riñones y testículo. Su función principal es regular la presión arterial al descomponer el péptido vasoconstrictor ECA2 en angiotensina 1-7, que actúa como un vasodilatador (Hamming *et al.*, 2004).

El virus al unirse a la célula corporal desencadena una respuesta inflamatoria, la cual inicia con una tormenta de citosinas pro inflamatorias, causando un daño alveolar, ocasionando dificultad respiratoria aguda insuficiencia múltiple y hasta la muerte. Es importante tener en cuenta que algunos de los signos y síntomas neurológicos observados en casos de COVID-19 podrían ser consecuencia de la falta de oxígeno, la acidosis respiratoria o metabólica, en etapas avanzadas de la enfermedad (Letko *et al.*, 2020) (ver figura N° 02).

Figura N° 2:

Mecanismos de patogénesis de SARS-CoV-2



Nota. Pastrían, (2020).

Los principales mecanismos de transmisión son:

- Transmisión por gotículas respiratorias: Es considerada la forma más común de propagación del SARS-CoV-2. Cuando una persona infectada tose, estornuda, habla o exhala, puede liberar pequeñas gotas de líquido respiratorio que contienen el virus. Estas gotículas pueden ser inhaladas por personas cercanas (generalmente a menos de 1 metro de distancia) y llegar a sus vías respiratorias, lo que puede resultar en la infección (Fajardo, 2022).
- Transmisión por contacto cercano: Ocurre cuando una persona entra en contacto directo con una superficie u objeto contaminado con el virus y luego se toca la boca, nariz u ojos. Por ejemplo, si una persona infectada se cubre la boca al toser o estornudar con las manos y luego toca una superficie, como una manija de puerta o un pasamanos, el virus puede sobrevivir en esa superficie y ser transferido a otras personas que toquen la misma área (Romero *et al.*, 2022).
- Transmisión por aerosoles: Además de las gotículas respiratorias más grandes, el SARS-CoV-2 también puede transmitirse a través de aerosoles, que son partículas más pequeñas que pueden permanecer suspendidas en el aire durante períodos de tiempo más largos y viajar distancias mayores. Los aerosoles pueden ser generados por actividades como hablar, cantar, gritar o respirar en espacios cerrados y con poca ventilación. La inhalación de aerosoles que contienen el virus puede llevar a la infección (McNeill, 2022).

- Transmisión fecal-oral: Existe evidencia de que el SARS-CoV-2 puede ser detectado en muestras de heces de personas infectadas. Si bien la transmisión fecal-oral no es considerada la principal vía de transmisión, es posible que el virus pueda transmitirse al entrar en contacto con superficies contaminadas con heces y luego llevarse las manos contaminadas a la boca (Termansen *et al.*, 2023).

2.1.6. Variantes

El material genético de un organismo sufre un cambio en la secuencia de nucleótidos ocasionando así su mutación y dando origen a las variantes, sin embargo, el SARS COV 2 posee una ARN polimerasa dependiente del ARN que corrige errores, esto hace que este virus tenga una baja tasa de variabilidad (Fernández, 2020).

Es el secuenciamiento genético del virus a nivel epidemiológico el que nos permite observar esta evolución, los coronavirus son clasificados en cuatro géneros: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus y Deltacoronavirus (Dabanch, 2021). De estos géneros, se sabe que el género Alphacoronavirus y Betacoronavirus infectan a los seres humanos ocasionando generalmente afecciones y síntomas tanto respiratorios como gastrointestinales, aunque raramente también pueden ocasionar alteraciones hepáticas y neurológicas (OMS, 2020).

2.1.6.1. Variantes de bajo monitoreo (VBM)

Según la CDC, las variantes de bajo monitoreo incluyen linajes cuyos datos indican que causan una enfermedad más grave o una mayor transmisión pero que ya no se detectan.

- Alpha linajes B1.1.7 y Q
- Beta linajes B.1.35 y descendientes
- Gamma linajes P.1 y descendientes
- Épsilon B.1.43
- Eta B.1.52
- Lota B.1.53
- Kappa b.1.617.1
- Zeta P.2

(CDC, 2021)

2.1.6.2. Variantes de interés (VOI)

Se caracterizan por cambios genéticos que podrían alterar propiedades del virus como la transmisión, gravedad de la infección, escape inmunológico, y factores epidemiológicos que indiquen riesgo para la salud pública, según la OMS las variantes de interés se clasifican en:

- Lambda (C.37).
 - Mu (B.1.621)
- (OMS, 2021).

2.1.6.3. Variantes de preocupación (VOC)

Las variantes de preocupación se caracterizan por mayor transmisibilidad, casos más graves de enfermedad como mayor cantidad de hospitalizaciones o muertes, reducción en la neutralización por los anticuerpos generados durante una infección anterior o por la vacunación; además se requieren realizar investigaciones para determinar la eficacia real de las vacunas y tratamientos contra la variante.

- Delta (linajes B.1.617.2 y AY).
 - Ómicron (linajes B.1.1.529 y BA).
- (CDC, 2021).

2.1.6.4. Variantes con grandes consecuencias (VOHC)

Las variantes de grandes consecuencias muestran que las medidas de prevención o las medidas médicas paliativas y la eficacia de las vacunas han reducido significativamente la efectividad con respecto a las variantes que circularon previamente, una variante de gran consecuencia requeriría notificar a las OMS con el Reglamento Sanitario Internacional y brindar recomendaciones para actualizar los tratamientos y las vacunas.

Actualmente ninguna de las variantes del SARS-CoV-2 tiene la designación de VOHC (CDC, 2021).

2.1.7. Mutaciones

Una mutación es una modificación del genoma, ya sea espontánea o inducida, que provoca una característica o un estado permanente y heredable en la secuencia de ADN. Estos cambios o alteraciones son el resultado de modificaciones en la información genética. Las consecuencias de estas mutaciones pueden variar según el nivel de afectación, desde cambios en la secuencia de nucleótidos hasta alteraciones en los genes o los productos genéticos, e incluso en los tipos de células involucradas (Sánchez *et al.*, 2013). Las mutaciones pueden tener un efecto

perjudicial, efecto favorable o ningún efecto. Ciertas mutaciones producen cáncer u otras enfermedades (NCI, 2020).

2.2. DIAGNÓSTICO DE SARS - CoV-2

Los métodos y técnicas utilizadas para el diagnóstico del SARS-CoV-2

2.2.1. PCR en Tiempo Real (RT- PCR)

Es un método de diagnóstico utilizado a nivel mundial por su capacidad para detectar el SARS-CoV-2 en las secreciones respiratorias. El muestreo se realiza obteniendo exudado nasofaríngeo u orofaríngeo de pacientes que reciben atención ambulatoria y el muestreo se realiza obteniendo exudado nasofaríngeo u orofaríngeo de pacientes intubados, se prefiere la obtención de lavado broncoalveolar. Una vez obtenidas las muestras, se procede a extraer el material genético del virus de las células infectadas para luego procesarlo mediante la técnica de RT-PCR. Esta técnica se basa en la detección y lectura del genoma viral, específicamente en las secuencias que corresponden a las proteínas N, E y S. La RT-PCR puede identificar la presencia del virus incluso en etapas tempranas de la infección (Bai *et al.*, 2020).

2.2.2. Pruebas de antígenos

Las pruebas de antígenos detectan proteínas específicas del virus en las muestras de hisopos nasofaríngeos. Estas pruebas proporcionan resultados rápidos, generalmente en cuestión de minutos, y se pueden realizar en el punto de atención. Sin embargo, las pruebas de antígenos pueden tener una menor sensibilidad en comparación con la RT-PCR, especialmente en personas con cargas virales más bajas (Vásquez *et al.*, 2022).

2.2.3. Serología (pruebas de anticuerpos)

Las pruebas serológicas detectan la presencia de anticuerpos producidos por el sistema inmunitario del cuerpo en respuesta a la infección por SARS-CoV-2. Estas pruebas se realizan en muestras de sangre y pueden ayudar a determinar si una persona ha sido previamente infectada o ha desarrollado una respuesta inmunitaria al virus. Se utilizan diferentes tipos de pruebas serológicas, como las pruebas de detección de IgM e IgG, que pueden indicar diferentes etapas de la infección (Martínez *et al.*, 2022)

2.2.4. Limitaciones de los métodos de diagnóstico

- Sensibilidad y especificidad: La sensibilidad y la especificidad son parámetros importantes para evaluar la precisión de un método de diagnóstico. La sensibilidad se refiere a la

capacidad del método para detectar correctamente la presencia del virus en individuos infectados, mientras que la especificidad se refiere a la capacidad de identificar correctamente a las personas no infectadas. Algunas pruebas, como las pruebas de antígenos, pueden tener una sensibilidad más baja en comparación con la RT-PCR, lo que significa que pueden perder casos de infección, especialmente cuando la carga viral es baja. Esto puede conducir a resultados falsos negativos en personas con infecciones leves o asintomáticas (Ramírez *et al.* 2021).

- **Tiempo de respuesta:** El tiempo de respuesta es otro factor importante a considerar, especialmente en entornos donde se requiere una detección rápida del virus, como en el caso de estudiantes postvacunados antes de ingresar a los campus educativos. Algunas pruebas, como las pruebas de antígenos, pueden proporcionar resultados rápidos en cuestión de minutos. Sin embargo, las pruebas moleculares más sensibles, como la RT-PCR, pueden requerir más tiempo debido a los pasos de extracción y amplificación del material genético viral. Esto puede generar demoras en la obtención de resultados, lo que podría afectar la toma de decisiones rápidas (Rivera *et al.* 2022).
- **Costo:** El costo asociado con los métodos de diagnóstico puede variar significativamente. Algunas pruebas, como las pruebas de antígenos, tienden a ser más económicas en comparación con las pruebas moleculares como la RT-PCR. Sin embargo, el costo puede ser una barrera para la implementación generalizada de pruebas frecuentes en entornos educativos o comunitarios. Además, los costos pueden aumentar si se requieren múltiples pruebas a lo largo del tiempo (Illescas *et al.* 2022).
- **Variabilidad en la interpretación:** La interpretación de los resultados de las pruebas de diagnóstico también puede ser un desafío. Es posible que los resultados falsos positivos o falsos negativos ocurran debido a factores técnicos, problemas de calidad de las muestras o interpretación errónea de los resultados. Esto subraya la importancia de una capacitación adecuada del personal y la interpretación correcta de los resultados para evitar conclusiones erróneas (Llumiyinga, 2022).
- **Detección de variantes:** Con la aparición de nuevas variantes del SARS-CoV-2, es importante considerar la capacidad de los métodos de diagnóstico existentes para detectar estas variantes. Algunas mutaciones en el virus pueden afectar la eficacia de las pruebas, lo que puede conducir a resultados falsos negativos o positivos. Por lo tanto, es necesario realizar un monitoreo continuo y actualizar las pruebas para garantizar su eficacia frente a las variantes emergente. La secuenciación del genoma viral permite obtener información

detallada sobre la composición genética del virus. Esta técnica se utiliza para estudiar la diversidad genética del SARS-CoV-2 y rastrear las variantes emergentes. La secuenciación del genoma también puede proporcionar información valiosa para la investigación epidemiológica y el desarrollo de tratamientos y vacunas (Jiménez *et al.* 2023).

2.3. EXTRACCIÓN DE ARN

Consiste en la descomposición del virus a través del lisado, lo que hace que la mayoría de las proteínas se desnaturalicen y liberen ARN viral, luego la adsorción selectiva de RNA viral utiliza materiales especiales de membrana polimérica, lavado y elución para obtener RNA de alta calidad. El ácido nucleico purificado se puede utilizar en una amplia gama de aplicaciones posteriores de biología molecular, como el análisis de mutantes de secuenciación por PCR y el diagnóstico de la COVID -19, secuenciación completa en estudios epidemiológicos (Checa, 2017).

2.4. RETROTRANSCRIPCIÓN

La reacción para la conversión del ARN en ADN_C se denomina retrotranscripción, este proceso se realiza cuando se pretende analizar secuencias de ARN. Al realizar consecutivamente una retrotranscripción y una PCR se conoce como RT-PCR. La técnica utilizada es una versión modificada de la PCR convencional, diseñada para amplificar un ARN específico y determinar su expresión o presencia. Esta técnica se basa en la utilización de la transcriptasa inversa de los retrovirus, la cual tiene la capacidad de sintetizar ADN a partir del ARN (Sandoval, 2013).

2.5. PCR

Llamada también reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es una técnica de diagnóstico molecular sensible, rápida y específica en la que se generan copias de un fragmento específico de ADN a partir de una muestra (Vásquez *et al.*, 2022). Según Serrato, para llevar a cabo la PCR se necesitan una cadena de ADN complementaria como molde, una enzima de ADN polimerasa, cofactores como Mn⁺² o Mg⁺² para la actividad enzimática, desoxinucleótidos (dNTPs) y oligonucleótidos para iniciar la síntesis. Estos reactivos se mezclan y se someten a ciclos de amplificación en el termociclador (Serrato *et al.*, 2014).

2.5.1. PCR anidada:

Denominada también como Nested PCR, variante de la PCR convencional que consta de dos rondas de amplificación con diferentes pares de cebadores en cada ronda con la finalidad de

incrementar la sensibilidad y especificidad de la detección. Inicialmente, se lleva a cabo una reacción utilizando los cebadores externos para amplificar una región más amplia de ADN que incluye el segmento objetivo. El ADN obtenido en la primera PCR se utiliza como plantilla en una segunda PCR utilizando cebadores internos para amplificar la región específica (Megía, 2022).

2.5.2. PCR múltiple

Se utilizan múltiples pares de cebadores en una sola reacción con el objetivo de amplificar simultáneamente diferentes secuencias específicas en un solo tubo, lo que permite detectar la presencia de varios patógenos en una misma reacción. Esto implica que los reactivos mezclados y el programa utilizado deben ser óptimos para garantizar la detección de cada objetivo sin interferir con la detección de los demás. Es necesario tener en cuenta:

- Al seleccionar o diseñar los oligonucleótidos, se debe asegurar que no interactúen entre sí, es decir, que no forman oligómeros.
- Presenten temperaturas de anillamiento similares.
- Cada par de cebadores debe amplificar una única secuencia objetivo.
- Los amplicones generados deben tener tamaños diferentes para poder separarlos y diferenciarlos después de la amplificación.
- Es importante comenzar con la menor concentración de ADN molde posible y asegurarse de que no haya sustancias inhibitoras que puedan interferir en la reacción. Para lograr este objetivo, los métodos de purificación se adaptarán según el tipo de muestra clínica utilizada como punto de partida (Méndez *et al.* 2004).

2.5.3. PCR en tiempo real o cuantitativa (PCR-TR)

Es una técnica basada en la PCR de punto final, difiriendo en la forma de detección y análisis de los productos de la amplificación, una de las principales ventajas que presenta esta PCR, es que permite medir en tiempo real los fragmentos de material genético que van produciendo durante cada ciclo de amplificación y no al final; garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia. Los reactivos químicos utilizados en la PCR en tiempo real son los mismos que se emplean en la PCR punto final, incluyendo la enzima, los dNTPs, el Mg^{2+} , el buffer y el sistema de detección de los productos amplificados mediante técnicas de fluorescencia. Estos reactivos se suministran como un conjunto en una solución conocida como "Master mix", mientras que el agua, que no contiene nucleasas, se proporciona por separado. Los primers son

diseñados de forma especial para asegurar una alta especificidad y generar amplicones con un tamaño que normalmente oscila entre 100 y 150 pb. No obstante, si los productos amplificados son más grandes, la eficiencia de la reacción puede disminuir. Se utiliza un termociclador que mide la fluorescencia en un momento específico de cada ciclo de amplificación para detectar estos productos (Moraleda *et al.* 2021).

2.5.4. Tipos de PCR para el diagnóstico de SARS-CoV-2

- RT-qPCR: esta es la técnica usada para el diagnóstico de virus como el SARS-CoV-2 que causa la COVID-19, tras aislar y purificar el ARN se emplea transcripción inversa para sintetizar una molécula de ADN complementario (ADNc), con el cual se realiza posteriormente la PCR correspondiente. De esta forma se pueden amplificar genes que estaban expresados en el momento del estudio (Álvarez *et al.* 2021).

La PCR-TR tiene tres pasos:

- ✓ Primer paso: Retrotranscripción a partir del ARN.
- ✓ Segundo paso: A partir de la hebra de DNAc se realiza la amplificación
- ✓ Tercer paso: PCR estándar (Vásquez *et al.*, 2022).

- Semi-nested Múltiplex PCR

La Semi-nested Multiplex PCR o PCR semianidada es una modificación de la PCR anidada. Que consiste en utilizar dos parejas de cebadores, utilizando uno o los dos cebadores para la segunda ronda. Este tipo de PCR es sensible como la PCR anidada, pero una de sus desventajas es la posibilidad de una contaminación cruzada. Este proceso de amplificación en la que las parejas de cebadores tienen que ser específicos para diferentes dianas son introducidas al mismo tubo (Perera *et al.*, 2018).

El principio de funcionamiento de la Semi-nested Multiplex PCR implica la utilización de dos pares de cebadores (primers) en dos etapas de amplificación. En la primera etapa, se utilizan dos cebadores externos que se unen a regiones específicas del ARN viral y amplifican una región más larga del genoma viral. Luego, en la segunda etapa, se realiza una amplificación Semi-nested utilizando un cebador interno y uno de los cebadores externos. Esto permite amplificar una región más corta y específica del genoma viral (Perera *et al.*, 2018).

2.5.4.1. Las ventajas de la técnica de Semi-nested Multiplex PCR en la detección del SARS-CoV-2, según Soto, 2022 son las siguientes:

- **Sensibilidad:** Permite la detección sensible del ARN viral incluso en muestras con una baja carga viral.
- **Especificidad:** Los cebadores diseñados específicamente para regiones conservadas del genoma viral aseguran la amplificación específica del SARS-CoV-2 y minimizan la amplificación de otros virus o contaminantes.
- **Multiplexación:** Permite la amplificación simultánea de múltiples secuencias de interés, lo que ahorra tiempo y recursos.
- **Rapidez:** La Semi-nested Multiplex PCR es una técnica relativamente rápida que puede proporcionar resultados en un corto período de tiempo.
- **Aplicaciones:** Además de la detección del SARS-CoV-2, esta técnica se puede utilizar para la identificación de variantes genéticas, genotipado viral y estudios epidemiológicos.

2.5.4.2. Limitaciones y desventajas de la Semi-nested Multiplex PCR.

Perera et al., 2018

- **Complejidad técnica:** La Semi-nested Multiplex PCR requiere un diseño cuidadoso de cebadores y optimización de condiciones de amplificación. Esto puede ser más complejo en comparación con otras técnicas de detección del SARS-CoV-2.
- **Posibilidad de contaminación:** Dado que se realizan múltiples amplificaciones en una sola reacción, existe un mayor riesgo de contaminación cruzada entre las muestras. Es importante seguir estrictas medidas de control de calidad y utilizar controles negativos adecuados para minimizar este riesgo.
- **Requiere equipamiento y reactivos específicos:** Para llevar a cabo la Semi-nested Multiplex PCR, es necesario contar con el equipamiento adecuado, como termocicladores y gel de electroforesis, así como con los reactivos específicos requeridos para la técnica.
- **Mayor costo:** En comparación con algunas técnicas de detección más simples, la Semi-nested Multiplex PCR puede ser más costosa debido a la necesidad de utilizar múltiples cebadores y reactivos específicos.
- **Sensibilidad a la calidad de la muestra:** La calidad y el manejo adecuado de la muestra son cruciales para obtener resultados precisos y confiables con la Semi-nested Multiplex PCR. La presencia de inhibidores o la degradación del ARN viral pueden afectar la sensibilidad y la interpretación de los resultados.

2.5.5. CEBADORES (PRIMERS)

Los cebadores o primers utilizados en la técnica de Semi-nested Multiplex PCR son secuencias de oligonucleótidos cortos y específicos que se diseñan para reconocer y amplificar regiones específicas del ADN o ARN objetivo. En el caso de la detección del SARS-CoV-2, se utilizan cebadores específicos para amplificar regiones conservadas del genoma viral (Soto, 2022).

Los cebadores se dividen en dos categorías principales: cebadores externos (primers externos) y cebadores internos (primers internos). Los cebadores externos se diseñan para amplificar la región objetivo inicialmente, mientras que los cebadores internos se diseñan para amplificar una región más específica dentro del producto de PCR amplificado por los cebadores externos (Benalcázar *et al.*, 2023).

En la Semi-nested Multiplex PCR, se utilizan múltiples pares de cebadores para amplificar diferentes regiones del ADN o ARN objetivo en una sola reacción. Esto permite la detección simultánea de múltiples secuencias de interés. Los cebadores se diseñan de manera que sean específicos para las secuencias conservadas del SARS-CoV-2, lo que garantiza una amplificación específica del virus. Estos cebadores suelen diseñarse utilizando herramientas bioinformáticas y teniendo en cuenta la especificidad, la estabilidad de la secuencia y otros parámetros relevantes (Soto, 2022).

2.6. ELECTROFORESIS

La electroforesis en gel es un método empleado para la separación de fragmentos de ADN en base a su tamaño. Los fragmentos de ADN poseen una carga negativa, lo que hace que se desplacen hacia el electrodo positivo. A medida que avanzan a través del gel, los fragmentos más pequeños se mueven con mayor rapidez. Cuando un gel se tiñe con un pigmento que se une al ADN, los fragmentos se pueden observar como bandas las cuales representan un grupo de fragmentos de ADN del mismo tamaño, y para determinar el tamaño de las moléculas de una muestra se usan estándares de tamaños conocidos que se separan en el mismo gel y luego se comparan con la muestra (Padilla *et al.*, 2022).

2.6.1. Gel Agarosa

Se utiliza como soporte sólido un gel preparado con agarosa (2%) y se utiliza para separar moléculas de ADN (INS, 2016).

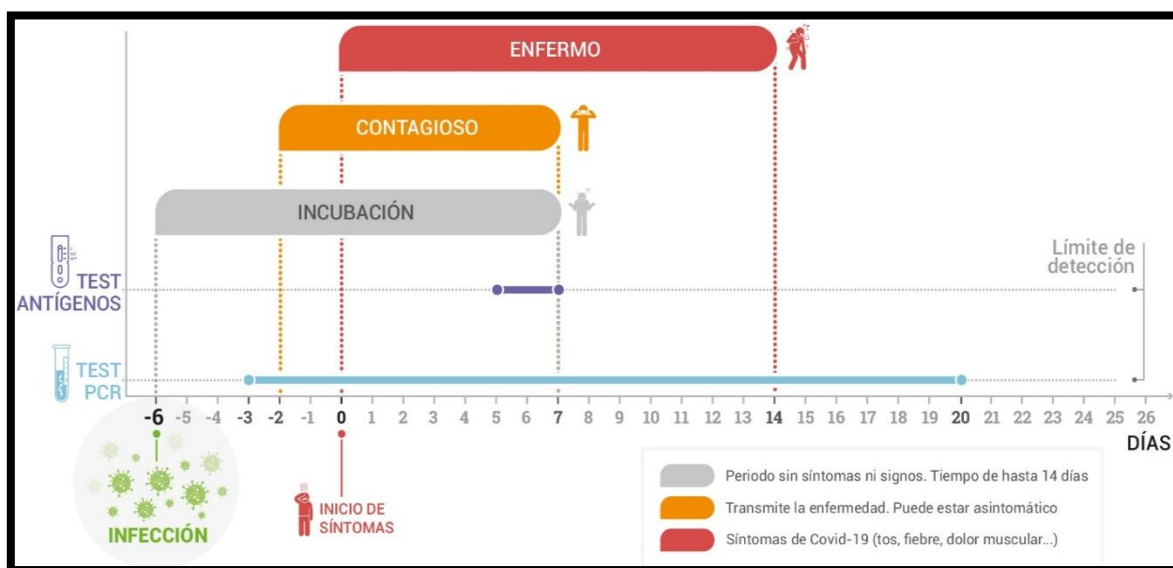
2.6.2. SYBR Safe

Es un colorante fluorescente que se utiliza como alternativa al bromuro de etidio. Es menos tóxico y más seguro de manejar. Proporciona una detección sensible de los ácidos nucleicos y se puede utilizar con los mismos equipos y protocolos que el bromuro de etidio (Thermofisher, 2023).

2.6.3. Periodo de detección de SARS-CoV-2 A través de PCR

Figura N° 3:

Detección de SARS-CoV-2



Nota The Lancet, NJEM, OMS (2021). Incubación, transmisibilidad y detección de SARS-CoV-2.

Según la OMS (2021). La enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2 se manifiesta de manera variada, desde la ausencia de síntomas hasta la aparición de neumonía grave y, en algunos casos, la muerte. El periodo de incubación promedio es de aproximadamente 5 días después de haber estado en contacto con un caso positivo de COVID-19. A los 7 días, el 95% de los casos sintomáticos ya han desarrollado sus síntomas. Según las observaciones realizadas, se ha determinado que la transmisión de la infección puede comenzar de 1 a 2 días antes del inicio de los síntomas, según lo establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS). El tiempo promedio desde el inicio de los síntomas hasta la recuperación total es de alrededor de 2 semanas en casos leves. Sin embargo, si la enfermedad es grave o crítica, el período de recuperación puede extenderse de 3 a 6 semanas. Por lo tanto, el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta el desarrollo de síntomas graves como la hipoxemia puede variar.

2.7. VACUNAS

Es el preparado formado por antígenos microbianos que son combinados con adyuvantes, que se administran a las personas y así despertar una inmunidad contra infecciones. El antígeno puede estar en forma de microorganismos vivos pero avirulentos, microorganismos muertos, componentes macromoleculares purificados de un microorganismo o un plásmido que contenga el ADN complementario encargado de codificar un antígeno microbiano (Abbas *et al.*, 2022).

Las vacunas actúan desencadenando una respuesta en el sistema inmunitario que al reconocer al microbio invasor genera anticuerpos que son proteínas que el sistema inmunitario produce naturalmente para luchar contra las enfermedades (OMS, 2021).

2.7.1. Mecanismo de acción

Las vacunas contra el SARS-CoV-2, imitan la exposición al virus de manera segura para activar el sistema inmunitario. Cada tipo de vacuna utiliza diferentes enfoques para lograr esto. Las vacunas de ARNm y las de vectores virales introducen genes del virus en las células, mientras que las vacunas de proteínas subunitarias administran directamente proteínas virales. Estos procesos permiten que las células del cuerpo produzcan proteínas virales, lo que desencadena una respuesta inmunitaria (Carrera *et al.* 2022).

2.7.2. Respuesta inmunitaria

Las vacunas contra el SARS-CoV-2 estimulan la respuesta inmunitaria adaptativa, que incluye la producción de anticuerpos y la activación de células T. Los anticuerpos se unen a la proteína Spike del virus y ayudan a neutralizarlo, evitando su entrada en las células. Las células T, por su parte, reconocen y destruyen células infectadas por el virus (Escobar, 2022).

Además de la respuesta inmunitaria adaptativa, las vacunas también pueden activar la respuesta inmunitaria innata, que brinda una primera línea de defensa contra la infección. Esto incluye la producción de citoquinas y la activación de células fagocíticas para eliminar el virus (Luque *et al.*, 2022).

2.7.3. Efectividad y duración de la protección

Las vacunas contra el SARS-CoV-2 han demostrado ser efectivas para prevenir la enfermedad COVID-19 y reducir la gravedad de los síntomas (Pérez, 2022).

2.7.4. Componentes de la vacuna

- Antígeno

Es la proteína viral que desencadena una respuesta inmunitaria en el cuerpo al ser reconocida por el sistema inmunológico. En el caso de las vacunas contra el SARS-CoV-2, el antígeno se refiere a una proteína específica del virus, como la proteína espiga (Spike), que se encuentra en la superficie del virus. El antígeno viral se utiliza en las vacunas para inducir una respuesta inmunitaria protectora y generar una memoria inmunológica contra el virus (CDC, 2023).

- ARNm (ácido ribonucleico mensajero)

Es un tipo de molécula de ácido nucleico que contiene la información genética necesaria para la síntesis de proteínas. En el contexto de las vacunas contra el SARS-CoV-2, algunas vacunas, como las vacunas de ARNm, utilizan una versión sintética del ARNm que codifica la proteína espiga del virus. Este ARNm se entrega al cuerpo mediante la vacuna y es utilizado por las células del organismo para producir la proteína espiga viral. Esta proteína espiga se convierte en el antígeno que estimula la respuesta inmunitaria (CDC, 2023).

- Lípidos

Los lípidos utilizados en las vacunas de ARNm son moléculas grasas que se utilizan para proteger y estabilizar el ARNm. Estos lípidos forman una capa alrededor del ARNm, ayudando a su entrega a las células del cuerpo y protegiéndolo de la degradación (CDC, 2023).

- Sales y azúcares

Las vacunas pueden contener sales y azúcares, como cloruro de sodio y sacarosa, que se agregan para mantener el equilibrio de pH y estabilizar la vacuna (CDC, 2023).

- Adyuvantes

Es el ingrediente que se añade a la vacuna para ayudar a estimular y potenciar la respuesta del sistema inmunológico ante la presencia de la proteína viral producida por el ARNm y facilitan la acción de las vacunas (CDC, 2023).

- Excipientes

Los excipientes son sustancias que se utilizan para ayudar en la fabricación, almacenamiento y administración de la vacuna. Estos pueden incluir estabilizadores, conservantes y otros componentes.

- Conservantes

Garantizan que la vacuna mantenga su eficacia, como evitar que se contaminen al abrir un vial.

- Estabilizantes

Protegen e impiden que la vacuna produzca reacciones químicas durante su transporte y almacenamiento (OMS, 2021).

2.7.5. Tipos de Vacunas utilizadas en Perú contra SARS-CoV-2

A nivel mundial la OMS hasta el 26 de noviembre del 2021 incluyó 7 vacunas para la COVID-19. Que son BNT162b2 de Pfizer-BioNTech, Oxford/AstraZeneca, Ad26.COV2. S de Janssen, vacuna moderna contra la COVID-19 (ARNm-1273), vacuna de Sinopharm, vacuna de CoronaVac de Sinovac y la vacuna BBV152 (covaxin) de Bharat biotech (Quinto *et al.*, 2022). La DIGEMID (Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas) autorizó en Perú el suministro de 4 de estas vacunas que son la vacuna AstraZeneca, BNT162b2 de Pfizer-BioNTech, ARNm MODERNA (mRNA-1273), Sinopharm.

2.7.5.1.VACUNA ASTRAZENECA

Desarrollada por la Universidad de Oxford y AstraZeneca, Consiste en un vector de adenovirus modificado no replicante ChAdOx1 de chimpancé defectuoso, el adenovirus modificado ingresa a las células humanas y libera el material genético del SARS-CoV-2. Esto desencadena una respuesta inmunológica, incluida la producción de anticuerpos y la activación de células T, brindando protección contra la infección por SARS-CoV-2. Ensayos clínicos de fase I/II y III y su Aprobación de las entidades OMS, EMA y FDA. La dosis administrada consistió en dos para dosis IM en los días 0 y 28, el estudio mostró una eficacia del 70,4 % (efecto total) 62,1 % (dosis estándar) 90,0 % (dosis baja y dosis estándar) (Chaparro *et al.*, 2022)

Ensayos clínicos de fase I/II y III y su Aprobación de las entidades OMS, EMA y FDA. La dosis administrada consistió en dos para dosis IM en los días 0 y 28, el estudio mostró una eficacia del 70,4 % (efecto total) 62,1 % (dosis estándar) 90,0 % (dosis baja y dosis estándar) (Chaparro *et al.* 2022)

2.7.5.2.VACUNA PZIFER

También denominado BNT162b2 y desarrollado por BioNTech y Pfizer, es una vacuna de ARNm modificada con nucleósidos formulada con nanopartículas lipídicas que sintetizan la expresión del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Glicoproteína S viral. Estudio fase II y III aprobado por OMS, EMA y FDA con dos dosis por vía intramuscular los días 0 y 21. Su eficacia es 91,3% (12 años y más) 90,7% (niños de 5 a 11 años). Su mecanismo de acción consiste en la administración de una pequeña porción de ARN

m que codifica la proteína espiga del virus SARS-CoV-2. Una vez que se administra la vacuna, las células del cuerpo humano utilizan el ARNm para producir la proteína espiga, lo que desencadena una respuesta inmunológica. Esta respuesta incluye la producción de anticuerpos y la activación de células T, que brindan protección contra la infección por SARS-CoV-2 (Bulgarín *et al.* 2021).

2.7.5.3.VACUNA DE ARNm MODERNA (mRNA-1273)

La vacuna Moderna se basa en el uso de moléculas de ARNm, que está recubierto por nanopartículas de lípidos porque el ARNm desarmado es degradado por RNAsas o ribonucleasas cuando ingresa al cuerpo. De hecho, las nanopartículas de lípidos se unen a la membrana plasmática y liberan ARNm en el citoplasma. Así es como comienza todo el proceso. El ARNm contiene las instrucciones para que las células del cuerpo humano produzcan una proteína específica del virus, en este caso la proteína espiga del virus SARS-CoV-2, que es crucial para su capacidad de infectar las células humanas. La producción de la proteína espiga por parte de las células desencadena una respuesta inmunitaria en el organismo, el sistema inmunológico reconoce la proteína espiga como una sustancia extraña y produce una respuesta defensiva para combatirla, Como resultado de la respuesta inmunitaria, se generan anticuerpos específicos contra la proteína espiga y se activan células T, que son células del sistema inmunológico. Estos anticuerpos y células T brindan protección al organismo en caso de una posterior exposición al virus SARS-CoV-2. Fue desarrollado por el Instituto Nacional de Alergias y enfermedades infecciosas (NIAID) y la empresa estadounidense Moderna. Estudio de fase III aprobado por la OMS, la EMA y la FDA, inyección intramuscular dos veces en los días 0 y 28, su eficacia es del 93,2 % (mayores de 18 años) 93,3 % (sujetos de 12 a 17 años (Fase, I. Vacuna de ARNm de Moderna (mRNA-1273) (Bulgarín *et al.* 2021).

2.7.5.4.VACUNA SINOPHARM

La vacuna contra el SARS-CoV-2 (VeroCell) de Sinopharm, también conocida como BBIBP-CorV, desarrollada conjuntamente por el Instituto de Productos Biológicos de Beijing y Sinopharm, se encuentra en un estudio de fase III con dos inyecciones intramusculares los días 0 y 21 con una potencia de 86 %. Es una vacuna o cepa inactivadas de SARS-CoV-2 HB02 suplementada con hidróxido de aluminio contra la COVID-19, que puede estimular el sistema inmunológico humano y no tiene riesgo de causar enfermedad. Como parte de su mecanismo

de acción las vacunas de Sinopharm inducen y producen anticuerpos contra el virus SARS-CoV-2, que se adhieren a las proteínas del virus y se comen a las espigas que cubren su superficie, y debido a que el virus BBIBP-CorV está inactivo, se pueden inyectar en el brazo sin causar la COVID-19. Una vez dentro del cuerpo, parte del virus inactivado es recogido por células inmunitarias llamadas células presentadoras de antígenos, esta célula descompone el coronavirus y muestra sus piezas en la superficie, que luego pueden ser detectadas por las células T colaboradoras, y si la pieza coincide con una de sus proteínas de superficie, las células T se activan y pueden ayudar a reclutar otras células inmunitarias, para responder a una vacuna. Otro tipo de célula inmunitaria llamada linfocitos B también puede hacer frente a los coronavirus inactivados. Las formas de proteína de superficie de los linfocitos B son muy diversas y varias pueden ser adecuadas para capturar el coronavirus. Cuando se adhiere un linfocito B, puede engullir parte o la totalidad del virus y mostrar fragmentos del coronavirus en su superficie; Las células T auxiliares activadas también pueden unirse a los mismos fragmentos. Cuando esto sucede, los linfocitos B también se activan, se multiplican y secretan anticuerpos que tienen la misma forma que sus proteínas de superficie. Por lo tanto, cuando se vacuna la vacuna BBIBP-CorV, el sistema inmunitario reacciona ante una infección viva por coronavirus. Los linfocitos B producen anticuerpos que se unen a los invasores. Los anticuerpos contra la proteína espiga evitan que el virus ingrese a las células, y otros tipos de anticuerpos bloquean el virus de otras maneras (Ayme *et al.*, 2022).

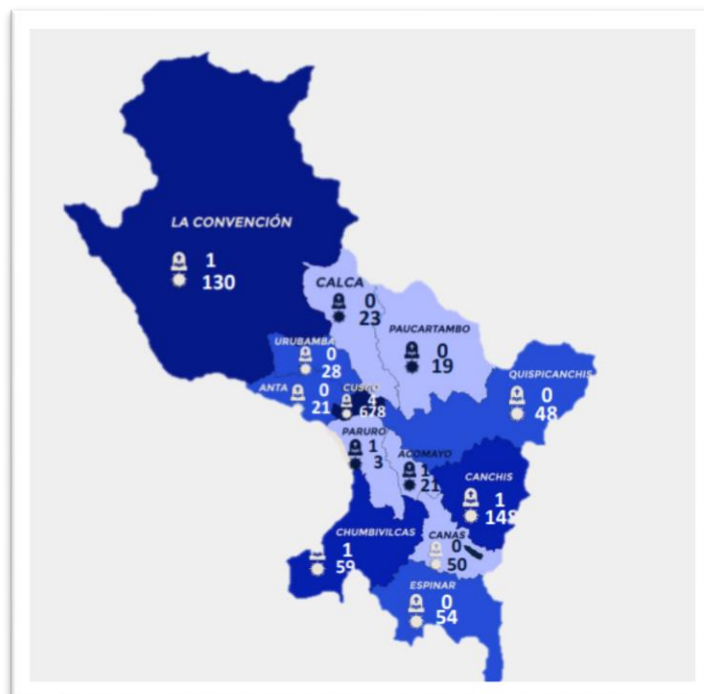
2.7.6. Efectos secundarios de las vacunas

Los efectos secundarios de las vacunas pueden variar dependiendo del tipo de vacuna y la respuesta individual de cada persona. Pueden causar efectos secundarios leves como fiebre, dolor o enrojecimiento en el lugar de la inyección, etc. que desaparecen espontáneamente al pasar los días. Son una señal de que el sistema inmunológico está respondiendo a la vacuna y generando protección contra el virus. Raramente las vacunas producen reacciones graves (OMS, 2021).

2.8. DISTRIBUCIÓN DE CASOS Y DEFUNCIONES POR COVID-19 EN CUSCO



Figura N° 4:

Distribución de casos y defunciones por COVID-19 en Cusco



Nota. Sala situacional de la COVID-19, setiembre - 2024.

Leyenda:

-  Personas fallecidas por Covid-19
-  Contagiados por Covid-19

2.8.1. Epidemiología del SARS-CoV-2 en Perú y la región de Cusco

Según las cifras del Ministerio de Salud MINSALUD - PERÚ, desde el 2020 al 12 de diciembre de 2023 se ha muestreado un total de 1'358,160 personas del cual hay 147 917 casos sintomáticos positivos (MINSALUD, 2023).

En la Región Cusco desde el inicio de la pandemia hasta el 28 de enero de 2024 hubo un total de 211, 987 casos positivos a COVID- 19 que representa el 16,06 % de tasa de positividad, los distritos más afectados son Cusco, Santiago, Santa Ana, Wanchaq, San Sebastián y San Jerónimo, donde el total de pruebas procesadas fueron 1'319,631 entre pruebas rápidas, antígenas y moleculares. Hay un total de 4,636 de fallecidos que representa al 8,54% la tasa de mortalidad y 2,19% la tasa de letalidad (Sala situacional COVID-19, 2024).

Letalidad por COVID- 19 según ola y curso de vida

Primera ola (SE10-2020 SE44-2020)	Curso de vida	Defunciones	Confirmados	Letalidad (%)
	Niño	441	35 794	1,23
	Adolescente	150	27 019	0,56
	Joven	1 147	190 709	0,60
	Adulto	240 040	560 567	4,29
	Adulto mayor	62 439	170 741	36,57
	Total	88 217	984 830	8,96

Nota. Sistema de Vigilancia Noti – Sistema de Defunciones SINADEF – MINSA (2023)

Segunda ola (SE 45-2020 SE42-2021)	Curso de vida	Defunciones	Confirmados	Letalidad (%)
	Niño	391	29 085	1,34
	Adolescente	196	43 415	0,45
	Joven	1 383	269 790	0,51
	Adulto	34 143	709 965	4,81
	Adulto mayor	76 310	212 689	35,88
	Total	112 423	1 264 944	8,89

Nota: Sistema de Vigilancia Noti – Sistema de Defunciones SINADEF – MINSA (2023).

Tercera ola (SE43-2021 SE17-2022)	Curso de vida	Defunciones	Confirmados	Letalidad (%)
	Niño	170	58 380	0,29
	Adolescente	64	48 652	0,13
	Joven	246	351 411	0,07
	Adulto	2 221	727 163	0,31
	Adulto mayor	9 107	160 543	5,67
	Total	11 808	1 346 149	0,88

Nota. Sistema de Vigilancia Noti – Sistema de Defunciones SINADEF – MINSA (2023)

Cuarta ola (SE 18-2022 SE 41-2022)	Curso de vida	Defunciones	Confirmados	Letalidad (%)
	Niño	93	25 836	0.36
	Adolescente	50	34 543	0.14
	Joven	199	108 299	0.18
	Adulto	970	305 409	0,32
	Adulto mayor	3 541	93 360	3,79
	Total	4 853	567 447	0,86

Nota. Sistema de Vigilancia Noti – Sistema de Defunciones SINADEF – MINSA (2023)

Quinta ola (SE42-2022 SE04-2023)	Curso de vida	Defunciones	Confirmados	Letalidad (%)
	Niño	42	6 178	0.68
	Adolescente	11	10 530	0.10
	Joven	28	56 577	0.05
	Adulto	320	179 481	0,18
	Adulto mayor	1 603	67 082	2,39
	Total	2 004	319 848	0,63

Nota. Sistema de Vigilancia Noti – Sistema de Defunciones SINADEF – MINSA (2023)

Periodo de baja transmisibilidad (SE05-2023 actualidad)	Curso de vida	Defunciones	Confirmados
	Niño	15	706
	Adolescente	5	813
	Joven	30	3 641
	Adulto	274	12 768
	Adulto mayor	1 004	5 623
	Total	1 328	23 551

Nota. Sistema de Vigilancia Noti – Sistema de Defunciones SINADEF – MINSA (2023)

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. LUGAR DE EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La toma de muestras nasofaríngeas/orofaríngeas del presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Biología celular (C-270) de la Facultad de Ciencias Biológicas y estas muestras fueron procesadas en el laboratorio de Genética y Biotecnología Microbiana ubicado en el pabellón de Control de Calidad, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

2.2. MATERIAL BIOLÓGICO

Se recolectaron 50 muestras de hisopados orofaríngeos /nasofaríngeos de alumnos de la Facultad de Ciencias Biológicas dispuestos a colaborar en la investigación previa charla informativa y firmado de un consentimiento informado (Anexo N°04), desde noviembre del 2022 hasta febrero del 2023, muestras que fueron almacenadas dentro de medios virales a una temperatura de 4 – 8 °C para su posterior procesamiento.

Los criterios de inclusión para la toma de muestras fueron:

- Ser estudiante mayor de edad (18 a 35 años) de la escuela profesional de Biología.
- Estudiantes que acepten y firmen el consentimiento informado.
- Estudiantes sintomáticos y asintomáticos.
- Estudiantes postvacunados con la segunda y/o tercera dosis.

También se realizó una recopilación de la información que incluía datos sociodemográficos, síntomas, vacunas, toma de medidas de prevención de cada alumno mediante una ficha epidemiológica (Anexo N°05). Ambos anexos aprobados por el Comité de Bioética Institucional y Sub Comités de Bioética de la UNSAAC (Anexo N° 06).

2.3. MATERIALES DE LABORATORIO

Equipos

- Cabina de Bioseguridad (Marca: Biobase).
- Centrífuga (Marca: Eppendorf 5418).
- Vortex (Marca: SciLogex).
- Baño María (Marca: Thermo Scientific).
- Horno microondas (Marca: LG).
- Cámara de Electroforesis (Marca: Power Pro).
- Equipo para análisis de imágenes GelDoc Go Gel Imaging sistema (Marca: Bio- Rad).
- Termociclador (Marca: Eppendorf).
- Refrigeradora (Marca: Indurama).
- Congeladora (Marca: Electrolux).
- Autoclave (Marca: Greetmed).
- Micropipetas 10µl, 20µl, 100µl y 1000µl (Marca: Eppendorf y Sartorius).
- Balanza analítica (Marca: Ohaus)
- Molde para electroforesis de 20 x 15 cm (Marca: Cleaver Scientific)

Reactivos

- Kit de Toma de muestra: Medio de transporte, hisopo de dracon.
- Kit de extracción Biospin Virus DNA/ARN. Extraction/Purification BioFlux Science and Technology.
- Etanol absoluto (Merck)
- Cloruro de magnesio MgCl₂ 25 mM (Novagen)
- Nova Taq Hot Start DNA polimerase (Novagen).
- Buffer de PCR 2X (Invitrogen).
- Buffer TBE 5x (Tris, Ácido bórico, EDTA – anexo N°07)
- dNTPs: dATP; dGTP; dCTP; dTTP (Promega)
- Agarosa (Agarosa Estándar media EEO, Omnipur).
- Tampón de carga Blue/Orange 6x Loading Dye (Marca: Promega).
- DNA Ladder 100 pb (Marca: Promega).
- SYBR Safe DNA gel stain (Marca: Invitrogen).
- Cebadores seleccionados (Marca: Merk).

- Transcriptasa inversa SuperScript™ III (Marca: Invitrogen™)

Materiales Fungibles y consumibles

- Puntas de pipetas de 10, 100 y 1000 µl sin filtro.
- Puntas de pipetas de 10, 100 y 1000 µl con filtro.
- Portamicropipetas.
- Gradillas de tubos.
- Tachos de descarte.
- Papel toalla.
- Guantes de nitrilo.
- Mascarillas.
- Gorras para laboratorio.
- Desinfectante lejía 1 %
- Tubos de PCR de 1.5 ml
- Tubos de PCR de 0.2 ml

Otros materiales

- SPSS Statistcs Versión 24.
- Image lab 6.0 (Biorad).

Consideraciones éticas

- Valor
- Validez científica
- Selección de los participantes.
- Proporción favorable de riesgo/beneficio.
- Consentimiento informado.
- Respeto hacia los participantes

Este estudio sigue los principios éticos en la investigación estándar de Helsinki. Encuesta tomada de Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional Departamento de Salud (Reg. N°. 25618- 20) y conducta en relación con la vigilancia de la reinfección. Obteniendo el consentimiento informado de los estudiantes, previo al estudio.

2.4. METODOLOGÍA

2.4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Por el enfoque es Cuantitativo

La investigación cuantitativa implica la aplicación de enfoques y técnicas numéricas para recolectar y analizar datos con el objetivo de comprender, describir o predecir fenómenos. En el contexto de la tesis sobre "Seminested Multiplex PCR para SARS-CoV-2 en Estudiantes Posvacunados", este enfoque implica la medición precisa de variables cuantificables relacionadas con la detección del virus. Utiliza métodos estadísticos para generalizar hallazgos, proporcionando una base objetiva que permite abordar cuestionamientos específicos relacionados con la eficacia de la técnica en este grupo particular (Arias, 2021).

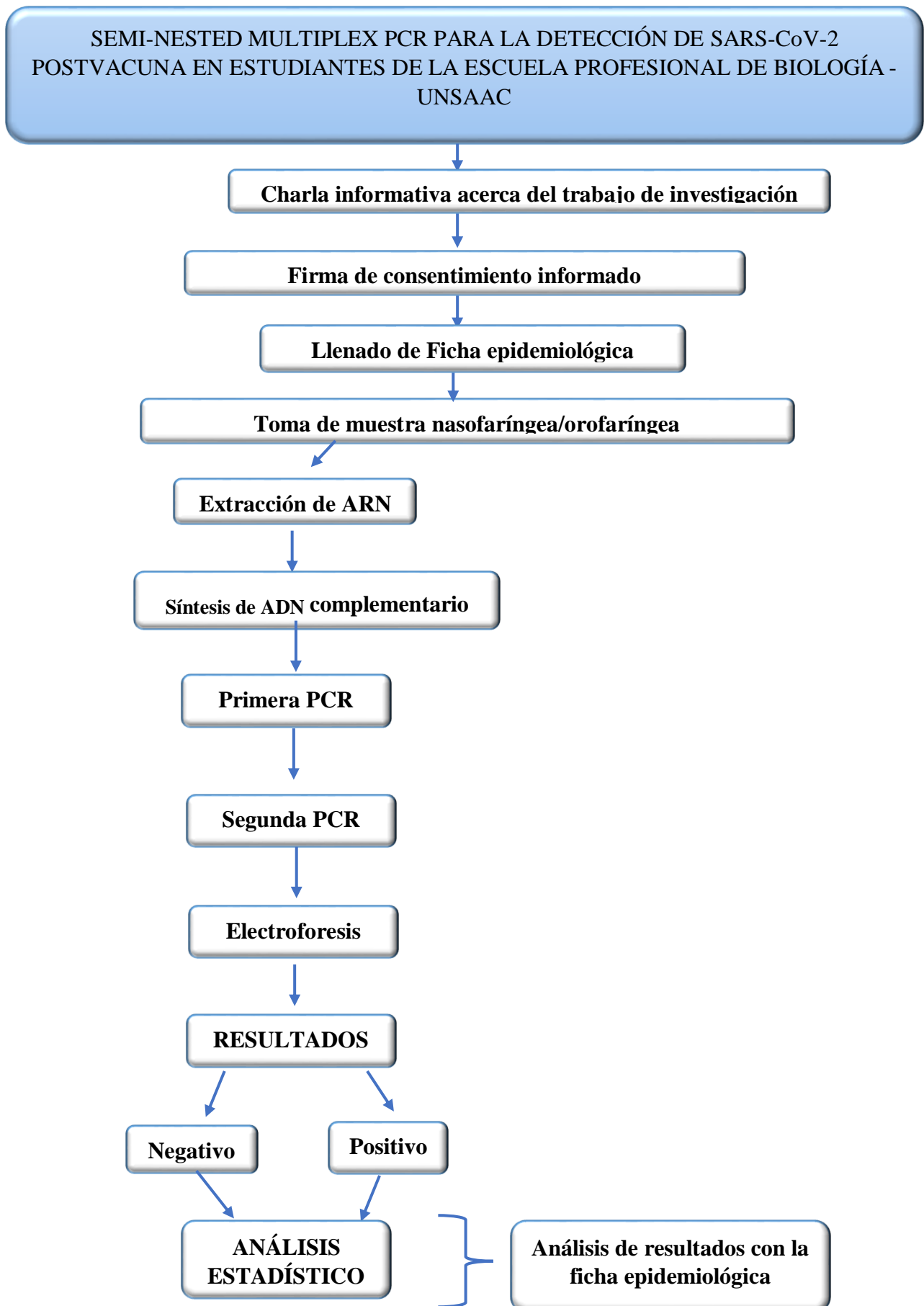
Por el diseño es No experimental

En cambio, la investigación no experimental en este contexto implica una observación detallada y la descripción del comportamiento natural de los estudiantes posvacunados en relación con la detección de SARS-CoV-2. Aquí, los datos se recopilan sin intervenir directamente en las condiciones normales. En lugar de manipular variables, se busca comprender las relaciones existentes entre variables sin perturbar el entorno natural de los estudiantes posvacunados. Este enfoque permite una evaluación holística de la eficacia de la técnica de PCR Seminested Multiplex en este grupo específico (Arias, 2021).

Por el tipo es Descriptivo

Porque implica investigar las posibles razones o factores que podrían explicar los resultados de la prueba de Semi- Nested Multiplex PCR en la población de estudiantes postvacunados contra el SARS-CoV-2 de la escuela profesional de Biología (Arias, 2021).

2.4.2. FLUJOGRAMA DE LA INVESTIGACIÓN



2.4.3. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO.

- Para ello se hizo una encuesta a partir de la bibliografía recopilada, considerando como principal referencia la ficha de investigación clínico epidemiológica de COVID – 19, modificada a partir del formato de la Directiva Sanitaria N°135-MINSA/CDC-2021 (Anexo N° 05) y aprobada por el Comité de Bioética de Institucional y Sub Comités de Bioética de la UNSAAC.
- Se dialogó con los estudiantes de la Facultad de Ciencias Biológicas con la finalidad de explicarles los objetivos de la investigación y así incentivar su participación a los estudiantes que cumplieran con los criterios de inclusión.
- Se comparó y analizó sistemáticamente la información recolectada

2.4.4. PROCEDIMIENTO PARA TOMA DE MUESTRA DE SECRECIÓN NASOFARÍNGEA Y OROFARÍNGEA PARA LA DETECCIÓN DE SARS-CoV-2.

Según la Guía de procedimiento para toma de muestra de secreción nasofaríngea y orofaríngea para la detección de SARS-CoV-2 – MINSA (GP-050/INSN-SB/USDT/SUSD-PC. V.02) y según la capacitación recibida por el laboratorio de la Dirección Regional de Salud Cusco.

➤ HISOPADO NASOFARÍNGEO

- a) Se indicó al estudiante que eleve un poco la cabeza, en un ángulo de aproximadamente 70° mirando hacia arriba.
- b) Se introdujo el hisopo suavemente, deslizándolo suavemente por el piso de la fosa nasal. Primero se introdujo el hisopo por una narina hasta alcanzar la parte posterior de la faringe (nasofaringe).
- c) Se deja el hisopo en contacto con la mucosa aproximadamente 10 segundos girándolo en 180°.
- d) Se introdujo nuevamente en la otra narina con el mismo hisopo y se realizó el mismo procedimiento.
- e) Una vez tomada la muestra en ambas narinas se introdujo el hisopo en el tubo conteniendo el medio de transporte viral, se cerró herméticamente y se rotuló.

➤ HISOPADO OROFARÍNGEO

- a) Se pidió al estudiante que abra la boca para tomarle la muestra.
- b) Se sujetó la lengua con un bajalenguas y se introdujo el hisopo a la parte posterior de la garganta (orofaringe).
- c) Se frotó las mucosas de la orofarínge para obtener la muestra.

- d) Se retiró el hisopo e inmediatamente se introdujo al tubo que contiene el medio de transporte viral, se cerró el tubo herméticamente y se rotuló.

Las muestras obtenidas fueron llevadas al laboratorio de Genética y Biotecnología microbiana para luego ser procesadas, las muestras fueron procesadas inmediatamente o con un lapso máximo de 2 días.

2.4.5. DETECCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO DE SARS-CoV-2 POR EL MÉTODO SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR

2.4.5.1. Extracción de ARN.

Se realizó utilizando el Kit de extracción de ADN/ ARN BioFlux y se siguió los protocolos del inserto:

- Se agregó 10 µl de Proteinasa K en cada tubo de eppendorf de 1.5 ml para cada muestra.
- Se transfirió 200 µl de muestra del hisopado orofaríngeo / nasofaríngeo, y se agregó 200 µl de tampón de lisis.
- Se agitó en el vórtex durante 30 segundos a fondo y se incubó a temperatura de 56 °C en un bloque calefactor (baño maría) durante 15 minutos, se centrifuga los tubos de 1.5 ml para eliminar las gotas del interior de la tapa.
- Se agregó 250 µl de etanol de 96% a la muestra, vortex durante 15 seg.
- Se transfirió 630 µl de la mezcla a una columna spin y se centrifugó a 10,000 rpm durante 1 minuto y se desechó el flujo.
- Se agregó 500 µl de tampón de lavado I en la columna de centrifugación, se centrifugó a 10,000 rpm durante 1 minuto y desechó el flujo.
- Se agregó 500 µl de tampón de lavado II en la columna de centrifugación, y se centrifugó a 10,000 rpm durante 1 minuto y se desechó el flujo.
- Se agregó 500 µl de tampón de lavado II en la columna de centrifugación, y se centrifugó a 10,000 rpm durante 1 minuto y se desechó el flujo.
- Se colocó la columna de centrifugación en un tubo de recogida limpio de 1,5 ml. Y se agregó 100 µl de tampón de elución al centro de la membrana. Se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Se centrifugó a 12,000 rpm durante 1 minuto. Se retiró la columna spin y se desechó.
- El tubo de microcentrífuga contiene el ARN viral.

Cebadores seleccionados para la retrotranscripción, primera PCR y segunda PCR.

Se tomó en cuenta al conjunto de cebadores que están dirigidos a un fragmento del gen de la proteína (E) y al fragmento del gen de la nucleocápside (N) reportados según Soto (2022), como se observa en la tabla N° 01 Los cuales fueron seleccionados debido a que amplificaron con éxito los dos genes diana de SARS-CoV-2.

Tabla N° 1:

Cebadores usados para la amplificación del gen E y N del SARS-CoV-2

RETROTRANSCRIPCIÓN	1 ^{ra} PCR			2 ^{da} PCR		
	CEBADOR FORWARD	CEBADOR REVERSE EXTERNO	TAMAÑO DEL AMPLICON	CEBADOR FORWARD	CEBADOR REVERSE INTERNO	TAMAÑO DEL AMPLICON
R_E26268	E_SARBECO_F	R_E26268	199pb	E_SARBECO_F	E_SARBECO_R	113pb
R_N28742	F_N28147	R_N28742	613pb	F_N28147	R_N28466	339pb

Cebadores dirigidos al gen E

Los cebadores diseñados para el gen E tienen una longitud que oscila entre 20 y 26 pares de bases. El contenido de citosina y guanina (CG) en los cebadores varía entre un 34.6% y un 55%. La temperatura de fusión (T_m) mínima requerida para los cebadores es de 63.5 °C, mientras que la máxima es de 66.3 °C. Estos criterios aseguran la especificidad y eficiencia en la amplificación del gen E; cumplen con los parámetros que debe presentar un cebador óptimo descrito por Sambrook & Russel (2012). Las secuencias de los cebadores del gen E usados se muestran en la tabla N° 02.

Tabla N° 2:

Secuencias de los cebadores del gen E

NOMBRE DEL CEBADOR	SECUENCIA (5'→3')
F_N28147	TTTGGTGGACCCTCAGATTC
R_N28742	CAAAGCAAGAGCAGCATCAC
R_N28466	GCCGTCTTTGTTAGCACCAT

Nota. Soto (2022).

Cebadores dirigidos al gen N

Se muestra que los 3 cebadores dirigidos al gen N tienen una longitud de 20 pb, contenido de CG=50% y Tm mínimo de 63.3°C y máxima de 64.6°C, cumplen con los parámetros que debe presentar un cebador óptimo descritos por Sambrook & Russel (2012). Las secuencias de los cebadores del gen N usados se muestran en la tabla N° 03

Tabla N° 3:

Secuencias de los cebadores del gen N

NOMBRE DEL CEBADOR	SECUENCIA (5' → 3')
E_SARBECO_F	ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT
R_E26268	CCAGAAGATCAGGAACTCTAGAAGA
E_SARBECO_R	ATATTGCAGCAGTACGCACACA

Nota. Soto (2022).

Temperatura de hibridación de los cebadores

Se utiliza la temperatura de 66°C debido a que mantiene la amplificación del gen N (339pb) y del gen E (113pb).

2.4.5.2. Retrotranscripción de la Semi-nested Multiplex PCR

- Con las muestras de ARN obtenidas en la extracción mediante el Kit de extracción de ADN/ARN BioFlux se realizó la retrotranscripción para obtener ADNc, para ello se utilizó el mix de enzimas del kit Novel Coronavirus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit (PCRFluorescence Probing), buffer de PCR 2x Reacción mix Invitrogen de uso comercial, agua para PCR (químicamente pura), 0,1 µl enzima Transcriptasa inversa SuperScript III, así también se combinaron 1 cebador reverse externo dirigido al gen E y 1 cebador reverse externo

dirigido al gen N. La reacción de retrotranscripción se realizó utilizando 5 µl de ARN extraído de cada muestra para SARS-CoV-2 siguiendo las instrucciones del fabricante a 50°C por 30 minutos.

- En un tubo eppendorf se agregó 0,2 µl agua para PCR, 6.0 µl de Buffer 0,4 µl de Primer Reverse N y 0,4 µl de Primer Reverse E con una concentración de 10 µM cada uno; 0,1 µl de enzima retrotranscriptasa y 5,0 µl de muestra ARN. Obteniéndose 12,1 µl de volumen total.
- Luego la mezcla se colocó a tubos eppendorf de 0,2 ml y se ubicó al termociclador previamente configurado por 30 minutos a 50°C. tal como se muestra en la tabla N°04

Tabla N° 4:

Componentes y concentraciones de la retrotranscripción de la Semi-Nested Multiplex PCR.

RETROTRANSCRIPCIÓN		
Componentes	Concentración stock	Volumen por 1 reacción
H₂O	-	0,2 µl
Buffer Reacción mix	2x	6,0 µl
Reverse N	10 µM	0,4 µl
Reverse E	10 µM	0,4 µl
Enzima (retrotranscriptasa)	0,1 µl	0,1 µl
ARN	-	5,0 µl
Volumen final		12,1 µl

2.4.5.3. Amplificación de ADN

Primera PCR

Se utilizó el kit comercial Nova Taq Hot Start DNA Polimerasa para llevar a cabo las reacciones de amplificación. A partir de 2µl de ADN complementario (ADNc) que contenía regiones de los genes de interés E y N, se realizó un tratamiento térmico adicional de 7 a 10 minutos a 95°C. Esto se debe a que la enzima Nova Taq Hot Start DNA Polimerasa requiere un inicio en caliente para su activación óptima. El tratamiento térmico se aplicó a todas las

reacciones de amplificación. La programación del termociclador se llevó a cabo siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante del kit. Como se observa en la tabla N° 05

➤ Para la amplificación de ADN se realizó un master mix en un tubo eppendorf considerando 12,4 µl de agua para PCR; 2,5 µl de Buffer Taq polimerasa; 2,5 µl de dNTPs (200 mM); 1,5 µl de Cloruro de magnesio $MgCl_2$ (1,5 mM); primers (2 µl de Forward, 2 µl de Reverse externo); 0,1 µl de enzima Novataq Hot Start DNA polimerasa y 2 µl de cDNA (producto de la retrotranscripción), se obtuvo un volumen de la reacción de 25 µl.

➤ Luego la mezcla se colocó en tubos eppendorf de 0,2 ml y éstos se ubicaron en el termociclador previamente configurado por tiempo y temperaturas.

La enzima Novataq Hotstar DNA polimerasa necesita un tratamiento térmico previo se realizó a 95°C por 10 minutos.

➤ Se realizó una desnaturalización inicial que será a 94°C por 5 minutos.

➤ Se realizó ciclos sucesivos de desnaturalización, hibridación de cebadores y extensión durante 30 ciclos a 94°C, 64°C y 72°C respectivamente

➤ Luego se realizó la extensión final a 72 °C por 5 minutos.

Tabla N° 5:

Componentes y concentraciones de la 1ra PCR Multiplex

PRIMERA PCR			
Componentes	Concentración stock	Concentración final	Volumen por 1 reacción
Buffer Taq polimerasa	10 x	1 x	2,5 µl
dNTPs	2 mM	0,2 mM	2,5 µl
MgCl₂	25 mM	1,5 mM	1,5 µl
Forward E	10 µM	0,4 µM	1 µl
Reverse externo E	10 µM	0,4 µM	1 µl
Forward N	10 µM	0,4 µM	1 µl
Reverse externo N	10 µM	0,4 µM	1 µl
Nova Taq Hot Start DNA polimerasa	5 U/µl	0,05 U/µl	0,1 µl
H₂O	-	-	12,4 µl
ADNc	-	-	2 µl
Volumen total			25 µl

Nota.: Elaboración propia

Segunda PCR

En la etapa de la segunda ronda de amplificación, se tomó 1µl del producto generado en la primera PCR, donde se observaron los amplicones de 339 pares de bases (pb) y 113 pb correspondientes a los genes E y N, respectivamente. A continuación, se describe el procedimiento de la segunda PCR y se presentan los componentes y las concentraciones utilizadas en la tabla N° 06.

- Se realizó un segundo master mix en un tubo eppendorf considerando agua para PCR; 2,5 µl de Buffer Taq polimerasa (1x); 2,5 µl de dNTPs (200 µM); 2 µl de cloruro de magnesio MgCl₂ (1,5 mM); primers (2µl de Forward, 2µl de Reverse interno); 0,1 µl de enzima Novataq Hot Start DNA polimerasa y 1µl de producto de la primera PCR.

Las condiciones de amplificación de ADN se mantuvieron igual que la primera PCR.

Tabla N° 6:

Componentes y concentraciones de la 2da PCR Multiplex.

SEGUNDA PCR			
Componentes	Concentración stock	Concentración final	Volumen por 1 reacción
Buffer Taq polimerasa	10 x	1 x	2,5 µl
dNTPs	2 mM	0,2 mM	2,5 µl
MgCl₂	25 mM	1,5 mM	1,5 µl
Forward E	10 µM	0,4 µM	1 µl
Reverse externo E	10 µM	0,4 µM	1 µl
Forward N	10 µM	0,4 µM	1 µl
Reverse externo N	10 µM	0,4 µM	1 µl
Nova Taq Hot Start DNA polimerasa	5 U/µl	0,05 U/µl	0,1 µl
H₂O	-	-	12,4 µl
ADNc	-	-	1 µl
Volumen total			25 µl

Nota. Elaboración propia

2.4.5.4. Electroforesis y visualización de los productos de PCR

a. Preparación del Gel de agarosa

- En un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se combinaron 2 gramos de agarosa con 100 ml de buffer TBE diluido a 0,5X.
- La mezcla se calentó en el horno microondas para disolver la agarosa en el buffer TBE 0,5X hasta obtener una mezcla transparente.

- Después, se agregaron 0,5 µl de tinte de gel de ADN SYBR Safe y se homogeneizó la mezcla.
 - Luego, la mezcla se vertió al portagel para geles de 15 x 20 cm para permitir que solidificara, y posteriormente se colocó el gel en la cámara electroforética cubierta con buffer TBE al 0,5X.
- b. Preparación de la muestra para la electroforesis
- Al producto de la segunda PCR de volumen 25 µl de cada microtubo, se añadió 1µl de tampón de carga Blue/Orange 6X Loading Dye por cada 5 µl de producto de la segunda PCR.
- c. Electroforesis
- En el primer pozo se colocó 10 µl de marcador de peso molecular 100 pb DNA Ladder y en los sucesivos pozos se colocó 10 µl de las muestras.
 - Se cubrió el portagel con la tapa y conectamos a la corriente eléctrica para que comience la electroforesis previamente programada a 90 voltios constante, 52 mA, 5 Watt durante 90 minutos.
- d. Visualización de los resultados
- Se colocó el gel de la electroforesis al equipo para análisis de imágenes GelDoc Go Gel Imaging sistema para visualizar las bandas de amplificación de ADN.
- e. Interpretación de resultados
- Los tamaños de las bandas obtenidas se calcularon utilizando el programa informático Imagen lab 6.0 (Biorad).

2.4.6. CRITERIOS UTILIZADOS PARA DETERMINAR LA POSITIVIDAD DEL SARS-CoV-2 EN SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR, Y LA INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE LOS RESULTADOS.

Generalmente se utilizan los siguientes criterios:

- Presencia de bandas amplificadas: En la Semi-nested Multiplex PCR, se espera obtener bandas amplificadas específicas para los genes objetivos del SARS-CoV-2. La amplificación de estas bandas indica la presencia del virus en la muestra y se considera como un resultado positivo.
- Comparación con controles positivos y negativos: Se utilizan controles positivos y negativos en cada corrida de la PCR para validar los resultados. La presencia de una banda amplificada en los controles positivos confirma la funcionalidad del ensayo, mientras que la ausencia de bandas en los controles negativos asegura la ausencia de contaminación.
- Interpretación clínica de los resultados: La interpretación clínica de los resultados de la Semi-nested Multiplex PCR depende del contexto clínico y epidemiológico. Un resultado positivo indica la presencia del virus en la muestra. Se debe considerar en combinación con los síntomas clínicos y la historia epidemiológica del paciente.
- Es importante tener en cuenta que la interpretación de los resultados de la Semi-nested Multiplex PCR debe hacerse en conjunto con otros datos clínicos y epidemiológicos relevantes.

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados mediante el método estadístico SPSS versión 24.

Se realizaron análisis estadísticos descriptivos mediante frecuencia y porcentaje. La prevalencia de la infección se analizó mediante la prueba no paramétrica de chi-cuadrado.

La relación entre variables dependientes e independientes se analizó mediante la regresión logística.

Todos los análisis se realizaron con SPSS versión 24, y un valor de p menor o igual a 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

R Cuadrado de Cox y Snell

La R cuadrado de Cox y Snell representa un coeficiente de determinación generalizado válido para estimar la proporción de varianza de la variable dependiente, explicada por las variables predictoras (independientes). Tiene un valor máximo inferior a 1, inclusive para un modelo “perfecto”. Se fundamenta en la comparación del log de la verosimilitud (LL) para el modelo en relación con el LL para un modelo de línea base. Sus valores fluctúan entre 0 y 1. En la regresión logística, el objetivo es predecir la probabilidad de un evento o resultado binario (por ejemplo, éxito o fracaso) en función de un conjunto de variables predictoras. El R cuadrado de Cox y Snell proporciona una medida de cuánto poder predictivo tiene el modelo de regresión logística en comparación con un modelo nulo (Sánchez *et al.* 2021).

El R cuadrado de Nagelkerke

El R cuadrado de Nagelkerke es una medida de ajuste utilizada en la regresión logística que se basa en el R cuadrado de Cox y Snell. Al igual que el R cuadrado de Cox y Snell, el R cuadrado de Nagelkerke proporciona una medida de la proporción de varianza explicada por el modelo de regresión logística en relación con la varianza total de la variable dependiente. Sin embargo, el R cuadrado de Nagelkerke ha sido ajustado para corregir la escala del coeficiente y cubrir todo el rango de 0 a 1. Esto significa que tiene una interpretación más directa y puede considerarse como una medida más precisa del poder predictivo del modelo en comparación con el R cuadrado de Cox y Snell.

El valor del R cuadrado de Nagelkerke varía entre 0 y 1, donde 0 indica que el modelo no explica ninguna variabilidad en la variable dependiente, y 1 indica que el modelo explica toda la variabilidad. Sin embargo, al estar ajustado, el R cuadrado de Nagelkerke tiende a ser mayor que el R cuadrado de Cox y Snell para el mismo modelo.

El R cuadrado de Nagelkerke se utiliza principalmente para comparar diferentes modelos de regresión logística y evaluar la mejora del ajuste al agregar o eliminar variables predictoras.

Proporciona información adicional sobre la calidad del ajuste del modelo y puede ayudar a los investigadores a seleccionar el mejor modelo para sus datos (Santos, 2023).

Coefficiente de Kappa

El coeficiente de Kappa es una medida estadística que se utiliza para evaluar el grado de concordancia o acuerdo entre dos observadores cuando se trabaja con variables categóricas. Proporciona una medida más precisa que la simple coincidencia por azar y tiene en cuenta la posibilidad de acuerdos casuales. Se calcula restando esta proporción de concordancias esperadas de la proporción de concordancias observadas, y luego se divide por 1 menos la proporción de concordancias esperadas. Esto ajusta el coeficiente para tener en cuenta la posibilidad de acuerdo casual. El coeficiente de Kappa puede variar en un rango de -1 a +1. Un valor de +1 indica una concordancia perfecta entre los observadores, mientras que un valor de 0 indica que la concordancia observada es igual a la esperada por azar. Un valor negativo indica una concordancia inferior a la esperada por azar (Mariño, 2022).

Significación asintótica bilateral

El parámetro estadístico de significación bilateral es utilizado en pruebas de hipótesis para evaluar si hay diferencias significativas en ambos sentidos. El parámetro estadístico utilizado en pruebas de significación bilateral es típicamente el valor p (p-value), el valor p representa la probabilidad de obtener un resultado al menos tan extremo como el observado, asumiendo que la hipótesis nula es verdadera. Si el valor p es menor que un nivel de significancia predeterminado (generalmente 0.05), se considera que hay evidencia estadística suficiente para rechazar la hipótesis nula en ambas direcciones y se concluye que existe una diferencia significativa (Good *et al.*, 2022).

Prueba de Chi Cuadrado

El Chi Cuadrado de Pearson es un modelo estadístico utilizado en la estadística no paramétrica. Se aplica en diferentes casos para realizar pruebas de hipótesis y evaluar la bondad de ajuste, la homogeneidad y la independencia entre variables, compara las frecuencias observadas en un conjunto de datos con las frecuencias esperadas bajo una distribución teórica específica. Se utiliza para determinar si hay una diferencia significativa entre la distribución observada y la distribución esperada (Lastre *et al.*, 2019).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. DESCRIPCIÓN UNIVARIABLE DE CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO

3.1.1 Descripción de características sociodemográficas de los estudiantes postvacunados de la escuela profesional de Biología

En la tabla N°07 se puede apreciar el lugar de procedencia de las personas que han sido evaluadas en el presente trabajo de investigación. De un total de 50 estudiantes que representa el 100% se puede ver que la mayor parte de la población son de la ciudad del Cusco, siendo 27 estudiantes que representan el 54%. El segundo lugar en relación al mayor número de estudiantes, provienen de Abancay, representando el 12% de la población. Los que provienen de las provincias de Canchis y La convención tienen una representatividad de 10% y 6% respectivamente.

Tabla N° 7:

Lugar de procedencia de los estudiantes de la escuela profesional de Biología

Lugar	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
ABANCAY	6	12,0
ANDAHUAYLAS	1	2,0
ANTA	1	2,0
CANCHIS	5	10,0
CUSCO	27	54,0
CALLAO	2	4,0
ESPINAR	2	4,0
LA CONVENCION	3	6,0
PAUCARTAMBO	1	2,0
TAMBOPATA	1	2,0
URUBAMBA	1	2,0
Total	50	100,0

En la tabla N°08 se muestra que, de la población estudiada, 33 estudiantes son del sexo femenino que representa el 66% y 17 estudiantes son del sexo masculino que está representado por el 34% como se muestra a continuación:

Tabla N° 7:

Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al Sexo.

Sexo	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Femenino	33	66,0
Masculino	17	34,0
Total	50	100,0

En la tabla N°09, se puede apreciar que la edad promedio de los estudiantes de biología es de 23,3 años, lo que indica que los estudiantes están en una edad muy joven, con un estado inmunológico óptimo, por lo tanto, no presentan síntomas muy graves, el 50% de los estudiantes en estudio tuvo una edad superior a 23 años, mientras que el otro 50%, una edad inferior. La desviación estándar indica el promedio de las observaciones respecto a la media, indica que es de 3,1 años; que es una dispersión regular. La persona con menor edad que participó del proyecto tuvo 19 años, mientras que la mayor oscila los 30 años, existiendo un rango entre sendos valores de 11 años.

Tabla N° 8:

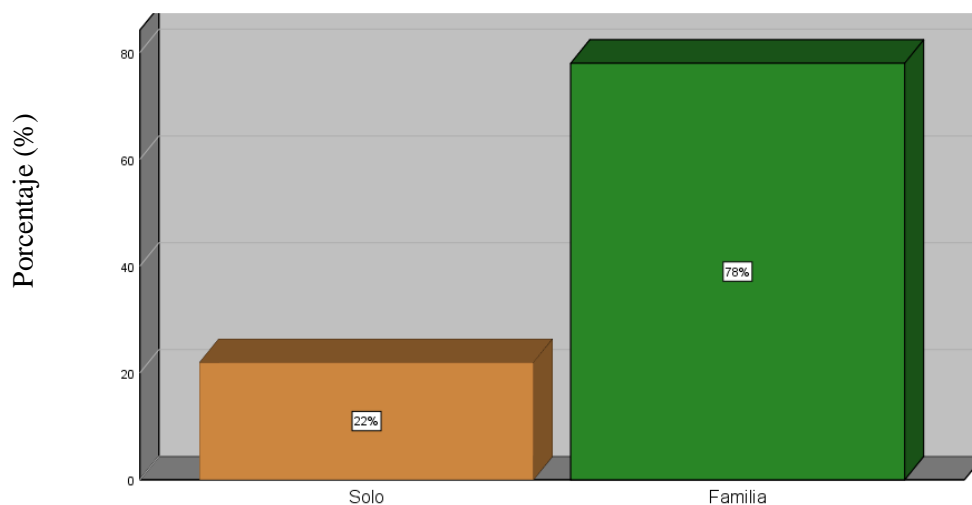
Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función a la edad

	Estadístico	Desv. Error
Media	23,30	0,442
Mediana	23,00	
Varianza	9,765	
Desviación estándar	3,125	
Mínimo	19	
Máximo	30	
Rango	11	

La población en estudio está representada por el 54% de estudiantes que vive en Cusco, por lo cual hay mayor frecuencia de estudiantes que vive con su familia como se puede apreciar en la figura N° 05 que 39 estudiantes representado por el 78% viven con su familia, considerando familia a partir de 1 o más personas y 11 estudiantes representado por el 22% viven solos.

Figura N° 5:

Porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función a las personas con quien vive



Personas con las que vive

La Tabla N°10, muestra la frecuencia y porcentaje del tipo de transporte que usan los estudiantes para ir a la universidad, el 80% se moviliza en transporte urbano y el 20% se moviliza en transporte particular (automóviles, bicicletas, caminando).

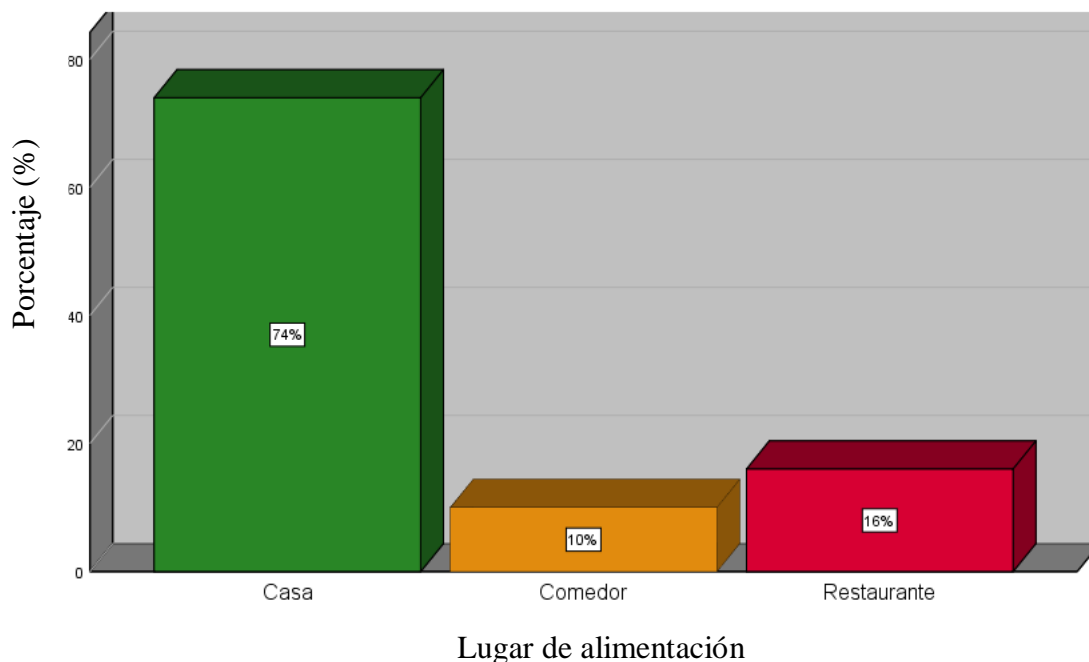
Tabla N° 9:

Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al tipo de transporte utilizado

	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Transporte urbano	40	80,0
Particular	10	20,0
Total	50	100,0

La Figura N° 06 presenta el lugar donde los alumnos frecuentan para alimentarse antes y/o después de realizar sus clases académicas, como usualmente el 78% de los encuestados viven con familias en el Cusco, el 74 % de ellos se alimenta con comida preparada en casa. Mientras que el 10% lo hace en el comedor universitario y el 16% en restaurantes.

Figura N° 6: Porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al lugar de alimentación



3.1.2. Descripción de características epidemiológicas de los estudiantes postvacunados de la escuela profesional de Biología

La tabla N° 11 muestra la frecuencia del uso de la mascarilla por parte de los estudiantes, 9 estudiantes siempre usan la mascarilla, 5 estudiantes nunca usaron la mascarilla y 36 estudiantes casi siempre usan mascarilla, a pesar de que el cumplimiento de las medidas de bioseguridad es obligatorio como lo indica el Anexo N° 2 emitida por la UNSAAC.

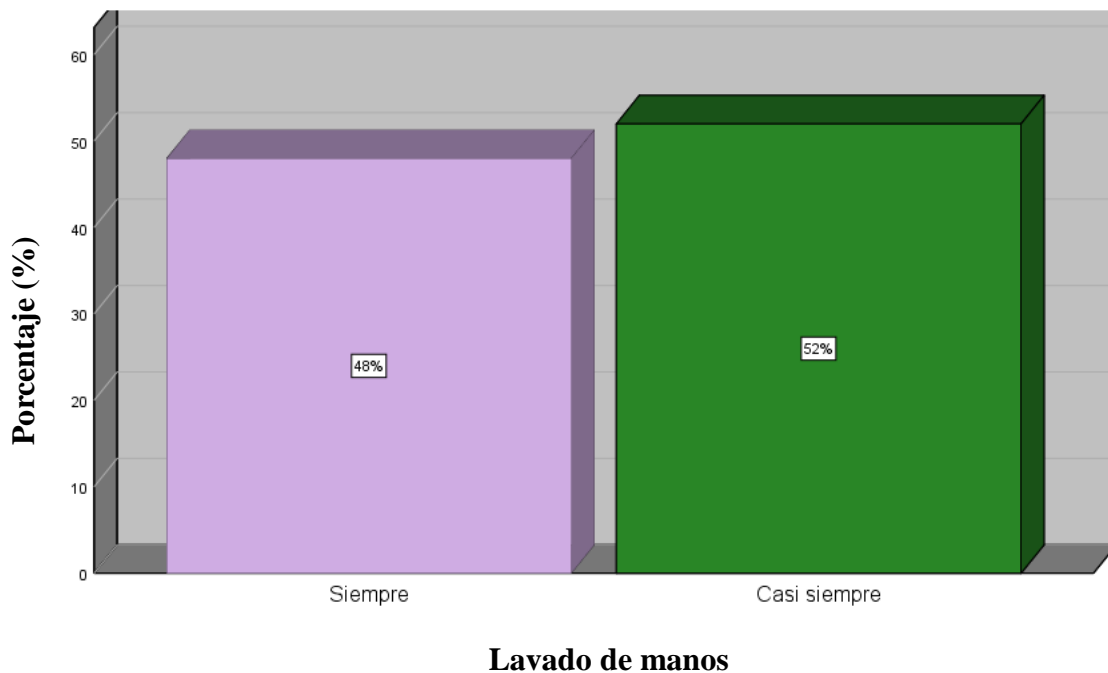
Tabla N° 10:

Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al uso de mascarillas

	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Nunca	5	10,0
Siempre	9	18,0
Casi siempre	36	72,0
Total	50	100,0

La figura N°07 muestra el porcentaje con el que los alumnos se lavan las manos, el 48 % siempre se lavan las manos y el 52% casi siempre, tomando en cuenta que el lavado de manos con alguna sustancia antiséptica es importante porque de esta manera se evita la transmisión de microorganismos y más aún ahora en tiempo de pandemia por la COVID -19, donde seguir los protocolos de bioseguridad como el lavado de manos es imprescindible (Minsa, 2022).

Figura N° 7: Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al lavado de manos



La tabla N° 12 muestra la frecuencia y porcentaje si cumplen con el distanciamiento establecido por los protocolos de bioseguridad de la universidad, 24 estudiantes representado por el 48% nunca cumplen con el distanciamiento, 1 estudiante representado por el 2% siempre cumple y 25 estudiantes que representa el 50 % casi siempre cumple este protocolo.

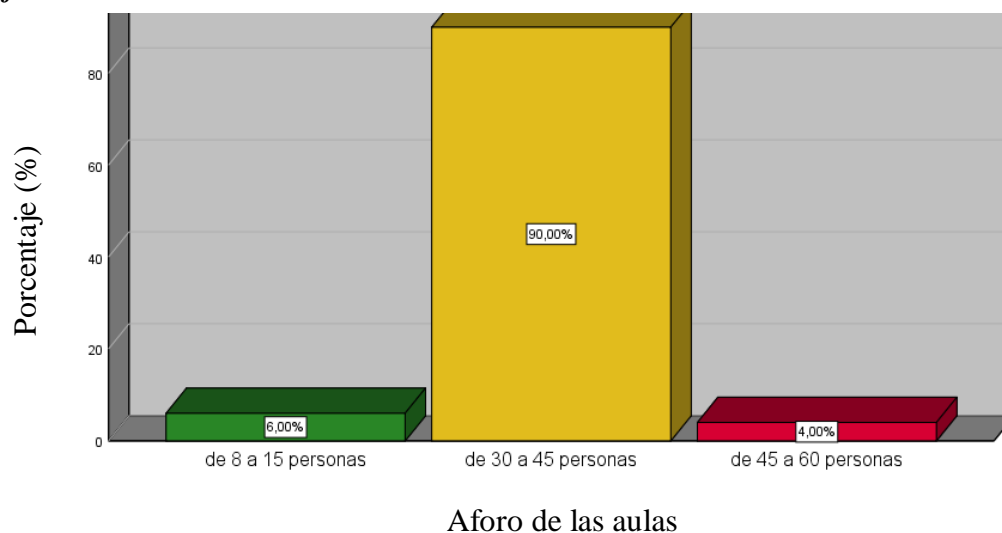
Tabla N° 11:

Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al distanciamiento

	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Nunca	24	48,0
Siempre	1	2,0
Casi siempre	25	50,0
Total	50	100,0

La figura N° 08 muestra el porcentaje de aforo de alumnos en las aulas en la que están nuestros alumnos de estudio, se puede apreciar que la mayoría de clases realizadas en la Facultad de Ciencias Biológicas, cuenta con 30 a 45 alumnos por aula (90%) y solo un 6% asiste a aulas de 8 a 15 personas, las que normalmente suelen ser los laboratorios donde se realizan las prácticas, solamente un 4% asiste a aulas con un aforo de 45 a 60 alumnos, teniendo una menor ventilación y más concentración de CO₂.

Figura N° 8: Porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al aforo



La tabla N° 13, muestra que 7 estudiantes (14%) estuvieron en contacto con personas positivas a la COVID-19, mientras que 43 estudiantes (86%) no estuvieron en contacto con personas positivas a la COVID-19 o desconoce si estuvo en contacto. Considerando que 2 estudiantes que estuvieron en contacto con personas positivas a la COVID-19 resultaron positivos a la COVID-19 y los otros 7 estudiantes desconocían el haber estado en contacto con alguna persona positiva a COVID-19.

Tabla N° 12:

Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al contacto con personas positivas

	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Si	7	14,0
No/desconocido	43	86,0
Total	50	100,0

En la tabla N° 14, muestra las comorbilidades que presentan los estudiantes fueron evaluados donde 7 estudiantes que está representado por el 14% presentan comorbilidades como la obesidad (6 estudiantes), hipertensión arterial (1 estudiante) y 43 estudiantes no presentan comorbilidades representado por el 86%. Coincidiendo con Scruzzi *et al.*, (2022) en su estudio “Vacunación contra SARS-CoV-2 y su relación con enfermedad y muerte por la COVID-19 en Argentina” donde indicó que las comorbilidades con mayor frecuencia fueron la hipertensión arterial, la diabetes, fumar y la obesidad.

Tabla N° 13:

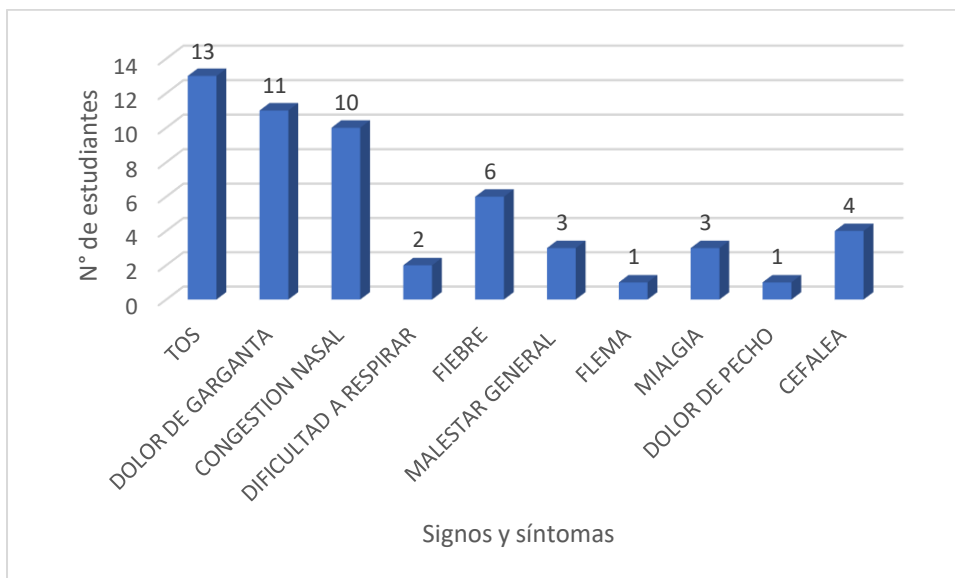
Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función a las comorbilidades.

	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Si	7	14,0
No	43	86,0
Total	50	100,0

Los centros para el control y la prevención de enfermedades – CDC (2022), indica que los síntomas pueden variar con las nuevas variantes de la COVID-19 y variar según el estado de vacunación además varía de acuerdo a las comorbilidades de cada persona presenta. La figura N° 09 muestra los signos y síntomas más frecuentes que presentaron los estudiantes como son: tos, dolor de garganta, congestión nasal, fiebre, cefalea, coincidiendo con Abreu *et al.*, (2020) en su estudio “Características clínico epidemiológicas” donde demostraron que los signos y síntomas más frecuentes para la COVID-19 fueron: fiebre (98 %), tos seca (76 %), disnea (55 %), mialgia o fatiga (44 %) y linfopenia (63 %).

Figura N° 9:

Signos y síntomas de la COVID-19 que presentaron los estudiantes de la escuela profesional de Biología



La tabla N° 15 muestra el número de dosis de vacuna recibidas por los estudiantes, teniendo en cuenta que un criterio de inclusión para este trabajo de investigación fue haber recibido como mínimo 3 dosis de vacuna, 45 estudiantes que representa al 90% recibieron 3 dosis de vacuna y 5 estudiantes representado por el 5% recibieron 4 dosis de vacuna.

Tabla N° 14:

Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función al número de dosis de vacunas recibidas

Dosis suministradas	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
3	45	90,0
4	5	10,0
Total	50	100,0

La tabla N° 16 muestra las vacunas recibidas para el grupo etéreo, 9 estudiantes (18%) recibió tres dosis de vacuna Pfizer, 21 estudiantes (42%) recibieron vacunas Pfizer y AstraZeneca, 1 estudiante (2%) recibió vacunas Pfizer y Moderna, 12 estudiantes (24%) recibieron vacunas Pfizer y Sinopharm, 1 estudiante (2%) recibió vacunas Pfizer, AstraZeneca y Moderna y 6 estudiantes (12%) recibieron vacunas Sinopharm y AstraZeneca. Según Scruzzi *et al.*, (2022), el haber recibido una o dos dosis de vacuna ha demostrado reducir significativamente el riesgo de enfermar, con una eficacia del 98% para una dosis y del 99% para dos dosis. Además, la vacunación disminuye el riesgo de mortalidad en un 83% con una dosis y hasta un 97% con dos dosis en la población en general. En la población afectada por COVID-19, una dosis de vacuna reduce la probabilidad de fallecimiento en un 57%, mientras que dos dosis reducen este riesgo en un 80%, en comparación con aquellos no vacunados, independientemente del tipo de vacuna administrada.

Tabla N° 15:

Frecuencia y porcentaje de los estudiantes de la escuela profesional de Biología en función a las vacunas recibidas

Vacuna	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
PFIZER	9	18,0
PFIZER y ASTRAZENECA	21	42,0
PFIZER y MODERNA	1	2,0
PFIZER y SINOPHARM	12	24,0
PFIZER, ASTRAZENECA y MODERNA	1	2,0
SINOPHARM y ASTRAZENECA	6	12,0
Total	50	100,0

La tabla N° 17 muestra la última dosis de vacuna recibida contra la COVID-19, 25 estudiantes recibieron como su última dosis de vacuna AstraZeneca y 4 estudiantes (8%) recibieron en su última dosis de vacuna a Moderna.

Tabla N° 16:

Frecuencia y porcentaje de la última dosis de vacuna recibida contra la COVID-19.

	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
ASTRAZENECA	25	50,0
MODERNA	4	8,0
PFIZER	9	18,0
SINOPHARM	12	24,0
Total	50	100,0

La tabla N° 18 muestra el tiempo transcurrido en semanas desde la última dosis de vacuna aplicada hasta el día de la obtención de la muestra, donde 4 estudiantes les aplicaron la última dosis 44 semanas antes de la toma de muestra, 12 estudiantes (24%) les aplicaron 36 y 40 semanas antes de la toma de muestra y sólo 3 estudiantes (6%) les aplicaron la última dosis de vacuna 8 semanas antes de la toma de muestra. Amparo *et al.*, (2021) indica que a partir del

quinto mes (20 semanas) disminuye progresivamente la efectividad de la vacuna contra la COVID-19.

Tabla N° 17:

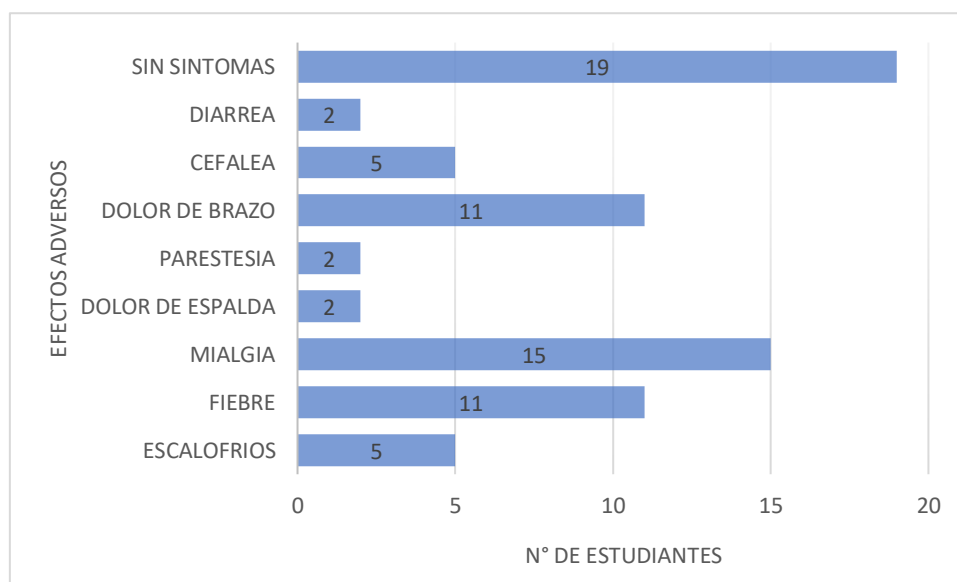
Frecuencia y porcentaje del tiempo (semanas) que pasó desde la última dosis de vacuna recibida

Semanas	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
8	3	6,0
16	2	4,0
20	5	10,0
24	3	6,0
28	1	2,0
32	5	10,0
36	12	24,0
40	12	24,0
44	4	8,0
48	3	6,0
Total	50	100,0

Las vacunas contra la COVID-19 han demostrado en los ensayos clínicos ser eficaces para prevenir la infección como la hospitalización y el fallecimiento, aunque aparecen efectos adversos como la trombocitopenia, linfadenopatía anafilaxia, entre las menos frecuentes y las más frecuentes son cefalea, mareos, somnolencia, náuseas, diarrea, vómitos, mialgia, escalofríos, sensibilidad o dolor en el lugar de la inyección (Gómez *et al.*, 2021). Coincidiendo con Gómez en la figura N° 10 se observa que 21 estudiantes (52%) presentaron efectos adversos y con mayor frecuencia fueron la mialgia y el dolor de brazo y la fiebre seguido por los escalofríos y cefalea y en menor frecuencia diarrea, parestesia y dolor de espalda, sin embargo, se observa que 19 estudiantes (38%) no presentaron efectos adversos postvacuna.

Figura N° 10:

Efectos adversos postvacuna que presentaron los estudiantes de la escuela profesional



3.2. DETECCIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO DEL SARS-CoV-2 MEDIANTE EL MÉTODO SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR

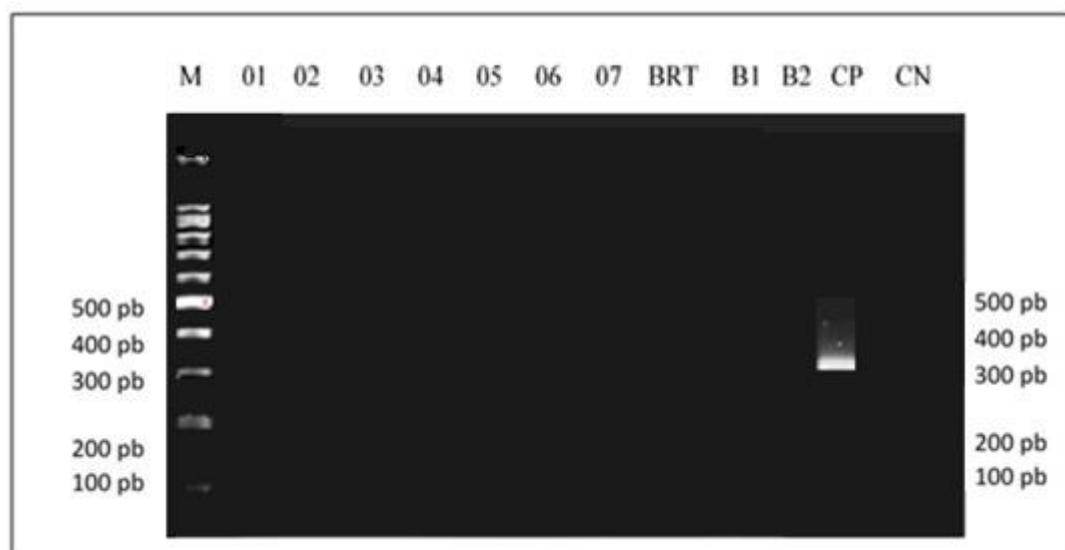
Según la Semi-nested Multiplex PCR, de 50 muestras de los alumnos en estudio, 41 alumnos obtuvieron resultado negativo, 9 dieron positivo para SARS-CoV-2 amplificando las secuencias del gen E y N. Para determinar los productos de la Semi-nested Multiplex PCR se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2%. Los resultados se muestran en la figura N° 11, donde el control positivo mostró un amplicón de 339 pb que corresponde al gen N y un amplicón del gen E de 113 pb del SARS-CoV-2, no hay presencia de amplificación en los controles negativos, lo que indica que no hubo presencia de contaminantes en ninguna reacción (3 reacciones en blanco).

Las figuras N° 11, 12, 13, 14 y 15 muestran los resultados de la técnica de Semi-nested Multiplex PCR utilizada en este estudio de investigación para detectar y amplificar simultáneamente múltiples secuencias objetivo. En un estudio previo realizado por Perera *et al.*, (2018), se describió el uso de dos pares de cebadores en dos etapas de amplificación. En la primera etapa, se emplearon dos cebadores externos que se unen a regiones específicas del ARN viral y amplifican una región más larga del genoma viral. Posteriormente, en la segunda etapa, se realizó una amplificación Semi-nested utilizando un cebador interno junto con uno de los cebadores externos. Esto permitió amplificar una región más corta y específica del genoma viral. Esta técnica de amplificación multiplex es efectiva para identificar y amplificar múltiples secuencias objetivo en una sola reacción, lo que facilita el estudio y análisis de muestras virales de manera más eficiente. Además, Soto (2022) encontró que la Semi-nested Multiplex PCR ofrecía una mayor sensibilidad (92,31 %) y especificidad (97,35) en comparación de otras técnicas de PCR convencional, que la hacía más adecuada para aplicaciones clínicas y de diagnóstico.

En la Figura N° 11, se evidencia que las muestras N° 01, 02, 03, 04, 05, 06 y 07 son consideradas como negativas, ya que no se observaron amplicones ni para el gen E ni para el gen N. Esto se confirma también en las muestras blanco de referencia, donde tampoco se visualizó la presencia de amplicones. En contraste, el control positivo demostró la amplificación exitosa de una banda correspondiente al gen N.

Figura N° 11:

Gel de agarosa (2%), electroforesis del segundo producto de la Semi-nested Multiplex PCR usando los primers: F_E26094, R_E26185, F_N28147, R_N28466 de la muestra N° 01 a la muestra N° 07



Nota: **M:** Marcador de peso molecular de 100 pb, muestras N° 01, 02, 03, 04, 05, 06 y 07, **BRT:** Blanco de retrotranscripción, **B1:** Blanco de la 1^{ra} PCR, **B2:** Blanco de la 2^{da} PCR, **CP:** Control positivo, **CN:** Control negativo.

En la Figura N° 12, se evidencia que las muestras N° 08, 11, 12, 13, 15, 16, 17 y 19 no mostraron la presencia de amplicones. La muestra N° 09 exhibe la presencia del gen E, mientras que las muestras N° 10, 14, 18 y 20 lograron amplificar con éxito los genes E de 113 pb y N de 339 pb. Las muestras blanco de referencia dieron resultados negativos, indicando la ausencia de amplificación. Por otro lado, el control positivo sí amplificó una banda para el gen N de 339 pb.

Figura N° 12:

Gel de agarosa (2%), electroforesis del segundo producto de la Semi-nested Multiplex PCR usando los primers: F_E26094, R_E26185, F_N28147, R_N28466 de la muestra N° 08 a la muestra N° 20

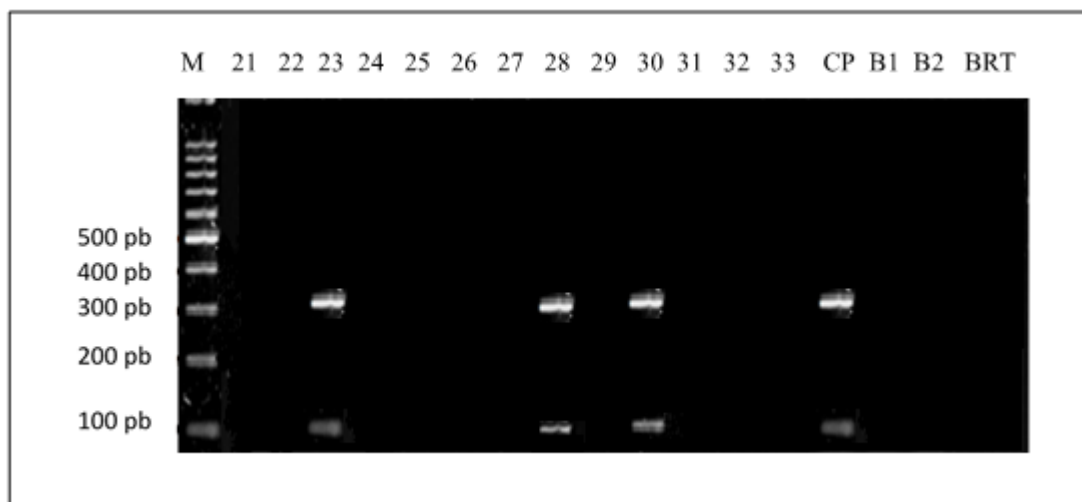
Nota: **M:** Marcador de peso molecular de 100 pb, muestras N° 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18, **BRT:** Blanco de retrotranscripción, **B1:** Blanco de la 1^{ra} PCR, **B2:** Blanco de la 2^{da} PCR, **CP:** Control positivo, **CN:** Control negativo.



En la Figura N° 13, se observa que las muestras N° 21, 22, 24, 25, 26, 27, 29, 31, 32 y 33 se clasifican como negativas al no presentar amplicones. Por otro lado, las muestras N° 23, 28 y 30 exhibieron la amplificación de bandas correspondientes a los genes E y N. Los controles negativos no mostraron la presencia de amplicones, mientras que el control positivo demostró con éxito la amplificación de ambos genes, E y N, con tamaños de 113 pb y 339 pb respectivamente

Figura N° 13:

Gel de agarosa (2%), electroforesis del segundo producto de la Semi-nested Multiplex PCR usando los primers: F_E26094, R_E26185, F_N28147, R_N28466 de la muestra N° 21 a la muestra N° 33.

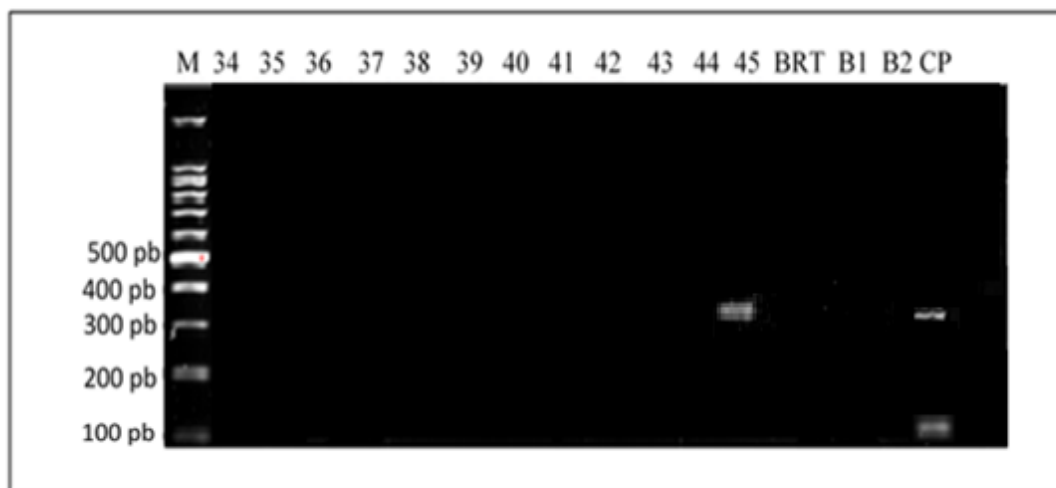


Nota: **M:** Marcador de peso molecular de 100 pb, muestras N21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32 y 33, **BRT:** Blanco de retrotranscripción, **B1:** Blanco de la 1^{ra} PCR, **B2:** Blanco de la 2^{da} PCR, **CP:** Control positivo.

En la Figura N° 14, se evidencia que las muestras N° 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 y 44 son consideradas como negativas, ya que no se observaron amplicones ni para el gen E ni para el gen N, a diferencia de la muestra N° 45 que se considera como positiva debido a que muestra un amplicón para el gen N. En contraste, el control positivo demostró la amplificación exitosa de una banda correspondiente al gen E y otra banda para el gen N.

Figura N° 14:

Gel de agarosa (2%), electroforesis del segundo producto de la Semi-nested Multiplex PCR usando los primers: F_E26094, R_E26185, F_N28147, R_N28466 de la muestra N° 34 a la muestra N° 45.

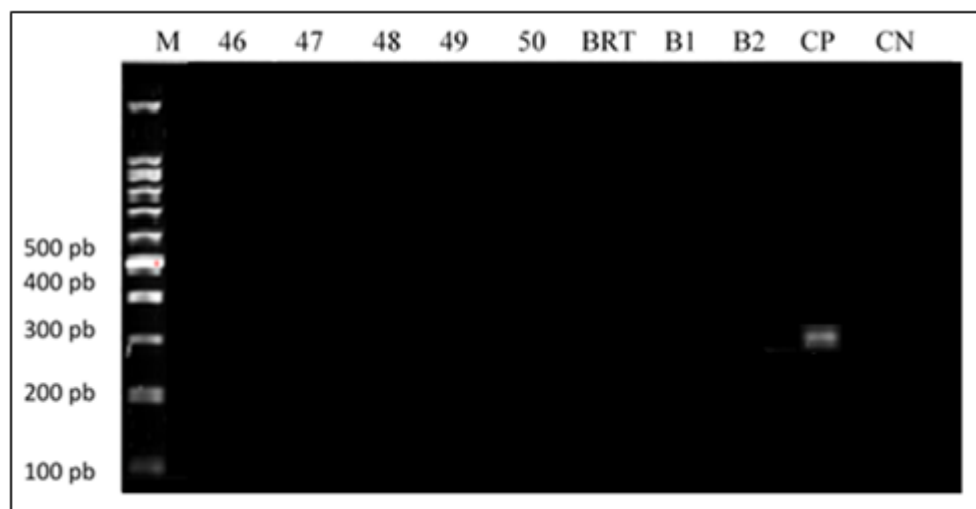


Nota: **M:** Marcador de peso molecular de 100 pb, muestras N21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32 y 33, **BRT:** Blanco de retrotranscripción, **B1:** Blanco de la 1^{ra} PCR, **B2:** Blanco de la 2^{da} PCR, **CP:** Control positivo.

En la Figura N° 15, se evidencia que las muestras N° 46, 47, 48, 49 y 50 son consideradas como negativas, ya que no se observaron amplicones ni para el gen E ni para el gen N. Esto se confirma también en las muestras blanco de referencia, donde tampoco se visualizó la presencia de amplicones. En contraste, el control positivo demostró la amplificación exitosa de una banda correspondiente al gen N.

Figura N° 15:

Gel de agarosa (2%), electroforesis del segundo producto de la Semi-nested Multiplex PCR usando los primers: F_E26094, R_E26185, F_N28147, R_N28466 de la muestra N° 46 a la muestra N° 50.



Nota: **M:** Marcador de peso molecular de 100 pb, muestras N° 46, 47, 48, 49 y 50, **BRT:** Blanco de retrotranscripción, **B1:** Blanco de la 1^{ra} PCR, **B2:** Blanco de la 2^{da} PCR, **CP:** Control positivo, **CN:** Control negativo.

De las figuras N° 11 al 15 se aprecia 50 (100%) muestras estudiadas codificadas desde el TC2022-1 al TC2022-50. resultaron 9 muestras (18%) positivas para SARS-CoV-2, de las cuales el 77.7% muestras amplificaron exitosamente el gen de la envoltura “E” y el gen de la nucleocápside “N”, mientras que el 11,1% amplificó únicamente el gen de la envoltura (E) y el otro 11,1% amplificó únicamente el gen de la nucleocápside (N) (tabla N°19), Reina & Suarez (2020), después de analizar 200 muestras positivas para SARS-CoV-2 al inicio y al final de la infección, se observó que en las etapas iniciales de la infección, la amplificación del gen E es mayor que la del gen N. Sin embargo, este patrón se invierte en las etapas finales de la infección, donde la amplificación del gen N es mayor que la del gen E. Esto sugiere que el

aumento en la detección del gen N se debe a la presencia de restos de virus no viables. Sabiendo que en el momento de la toma de muestra se desconocía si un alumno presentaba el virus del SARS-CoV-2, y el tiempo de infección exacto, se puede deducir que el 11.1% que amplificó el gen E estaba en inicios de la infección y el otro 11.1% que amplificó únicamente el gen N se encontraba en etapas finales, por ello como dice Soto (2022) “Es de suma importancia el diseño multiplex donde se incorpora más de un conjunto de cebadores dirigidos a regiones diferentes del genoma para reducir la posibilidad de reportar falsos negativos”.

En las figuras N° 11 y 12, se empleó la muestra CV0024 proporcionada por la Geresa-Cusco y reportada por Soto (2023) como positiva para ARN de SARS-CoV-2 mediante las técnicas de RT-qPCR y Semi-nested Multiplex PCR. Durante el periodo del 13 al 17 de agosto de 2021, se observó que este control positivo no amplificó la banda del gen E, posiblemente debido a la rápida degradación del ARN durante la manipulación. Sin embargo, la presencia de la amplificación del gen N confirma la validez del ensayo. Por tanto, se utilizó la muestra CV155 como control positivo, la cual fue una de las últimas muestras obtenidas y reportadas como positivas para SARS-CoV-2 en las figuras N° 13, 14 y 15, donde se evidencia la amplificación de ambas bandas correspondientes al gen E y al gen N.

Tabla N° 18:

Tamaño de las bandas del gen E y del gen N presentes en el producto de la electroforesis de muestras positivas para SARS-CoV-2

Código	Amplificación del Gen E (pb)	Amplificación del Gen N (pb)
TC2022- 09	113	-
TC2022- 10	113	339
TC2022-14	113	339
TC2022-18	113	339
TC2022-20	113	339
TC2022-23	113	339
TC2022-28	113	339
TC2022-30	113	339
TC2022-45	-	339
Total	9	

3.3. EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS VARIABLES INDEPENDIENTES SOBRE CASOS POSITIVOS DE SARS-CoV-2.

3.3.1. Prueba de Chi- X^2 para la relación de las variables con la prueba positiva.

Para poder conocer si alguna de las variables, explica o influye significativamente el hecho de salir positivo en la prueba de la COVID-19, se realizó la prueba no paramétrica de Chi- X^2 , para ellos se plantean las siguientes hipótesis:

H_0 : La variable no influye en la prueba positiva de la COVID-19

H_A : La variable influye en la prueba positiva de la COVID-19

Los resultados del análisis, se muestran en la tabla N°20

Tabla N° 19:

Tabla de contingencia de la Prueba de Chi – X^2 de las variables independientes con la condición positiva a la COVID-19

	Chi - X^2	Significancia
Procedencia	19,7	0,07
Sexo	0,002	0,963
Número de vacunas recibida	1,22	0,269
Uso de mascarilla	6,67	0,03
Lavado de manos	0,946	0,331
Distancia	7,362	0,025
Vacunas PFIZER	0,617	0,892
Vacunas SINOPHARM	1,483	0,47
Vacunas ASTRAZENECA	2,737	0,255
Vacunas MODERNA	0,954	0,329
Vacunas recibidas	3,08	0,687
Tiempo desde la última dosis	9,011	0,436
Última dosis recibida	3,621	0,305
Personas con las que vive	0,822	0,365
Medio de transporte	1,22	0,269
Alimentación	0,359	0,836
Aforo de aulas	1,22	0,543
Contacto con personas positivas	25,2	0
Comorbilidad	0,076	0,783

RELACIÓN DE LOS FACTORES SOCIODEMOGRÁFICOS CON LOS RESULTADOS POSITIVOS A SARS-CoV-2

Utilizando los datos de la tabla N°20 se analiza la variable “lugar de procedencia”, cuyo valor de Chi- X^2 fue de 19,7 con una Significancia asintótica de 0,07 obtenido, el cual indica que no fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$), por lo tanto, no hay evidencia suficiente para aceptar la hipótesis alterna. Así se concluye que no existe una asociación significativa entre las variables del lugar de procedencia de los alumnos con la prueba positiva de la Semi-nested Multiplex PCR para SARS-CoV-2.

En la tabla de contingencia N° 20 (prueba de Chi- X^2) entre el SARS-CoV-2 y la variable sexo, se observa que la significación asintótica bilateral es de $0,963 > 0,05$, esto indica que el sexo no depende de que el paciente pueda o no contraer el virus del SARS-CoV-2, como podemos observar en la figura N°12, además coincidimos con Puhach *et al.*, (2022) quienes asociaron los niveles de infección con el sexo, donde no detectaron correlación la infección con el sexo del paciente.

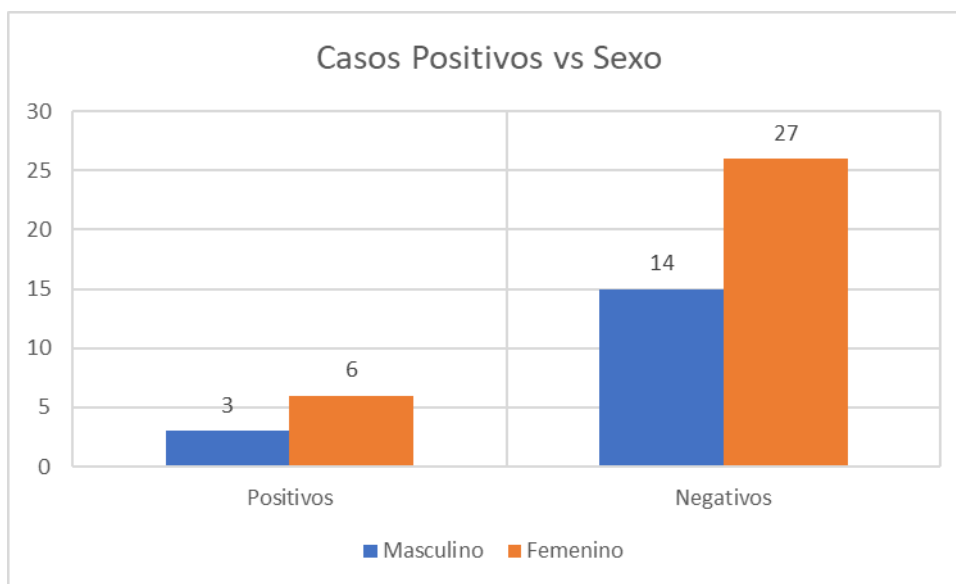
La figura N° 16 muestra que de la población masculina fue del 34% conformado por 17 estudiantes, de los cuales 3 dieron positivo siendo el 6% del total de población infectada y 14 dieron negativo, siendo este último el 28%.

La población femenina abarco el 66% de la población con 33 personas de las cuales 6 dieron positivo siendo el 12% de la población infectada y 26 negativos. Se encontró correlación mediante el uso de chi- X^2 de 0,002 para las variables sexo, positivos y negativos, lo que nos indica que existe una asociación baja entre las variables.

Según Suarez *et al.*, (2020), existen diferencias fundamentales en la respuesta inmune a la infección entre sexos que son más propensas a contribuir a este fenómeno, se ha observado que las mujeres tienden a tener una respuesta inmune innata más robusta que los hombres. Esto incluye una mayor producción de citocinas proinflamatorias y una respuesta de células inmunitarias como los macrófagos y las células dendríticas. Esta respuesta inmune innata más fuerte puede ayudar a las mujeres a combatir infecciones virales y bacterianas de manera más efectiva. En individuos que han contraído la COVID-19, es posible que estas disparidades resulten en un mejor control del virus en las mujeres, lo cual puede contribuir a su menor riesgo de desarrollar una enfermedad grave.

Figura N° 16:

Casos positivos con relación al sexo



En cuanto a las variables del lugar de alimentación ($p=0,836$), medios de transporte ($p=0,269$) aforo de alumnos en las aulas ($p=0,543$) se observa que ninguna de ellas tiene un valor de significancia ($p<0,05$) por consiguiente este estudio muestra que estas variables no tienen influencia significativa en el resultado positivo del SARS-CoV-2; por lo tanto, en este caso se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna. Esto quiere decir que el alumno puede o no contagiarse si se alimenta en casa, restaurantes, comedor u otro tipo de residencia. De igual manera el medio de transporte ya sea urbano o particular usado para movilizarse a su casa de estudios no tiene relevancia en el contagio.

Según Antoñanzas & Gimeno (2022), el lugar de alimentación y la dieta con la que cada persona se alimenta es de suma importancia, una persona al tener una estabilidad alimentaria de una adecuada dimensión nutricional puede evitar la obesidad y la desnutrición; otro factor de transmisión de SARS-CoV-2 son los medios de transporte debido a que generalmente son espacios cerrados donde hay hacinamiento de personas y mala ventilación, que al respirar las gotículas que contienen al SARS-CoV-2 y son suspendidas en las superficies pueden ser aspiradas por otra persona y continuar con la transmisión de COVID-19.

Con respecto al aforo de los alumnos en las diferentes aulas puede o no contribuir al contagio de SARS-CoV-2, más no ser un factor definitivo. Según Mares *et al.*, (2022), indica que para un aforo dentro de un aula de estudiantes sea de 10 a 30 estudiantes en un volumen del salón

de clases de 200 m², con una debida ventilación; de 20 a 60 estudiantes el volumen del salón de clases debería ser 400 m².

El SARS-CoV-2 con respecto a las personas con las que un alumno vive en casa tiene una significancia asintótica bilateral es de $0,365 > 0,05$, esto indica que las personas con las que vive no dependen de que el alumno pueda o no contraer la enfermedad nos afirma que no depende si eres solo o con familia para contraer la enfermedad. Sin embargo, Torres *et al.*, (2021) afirma que la sensibilidad de contraer SARS-CoV-2 fue mayor en el hogar (50,8%; IC 95% 38,9-62,5) que en contactos no domésticos (35,7%; IC 95% 16,3-61,2%).

En cuanto al número y a las vacunas recibidas por los alumnos se considera variables con una significancia mayor al 0,05 siendo 0,269 y 0,687 respectivamente.

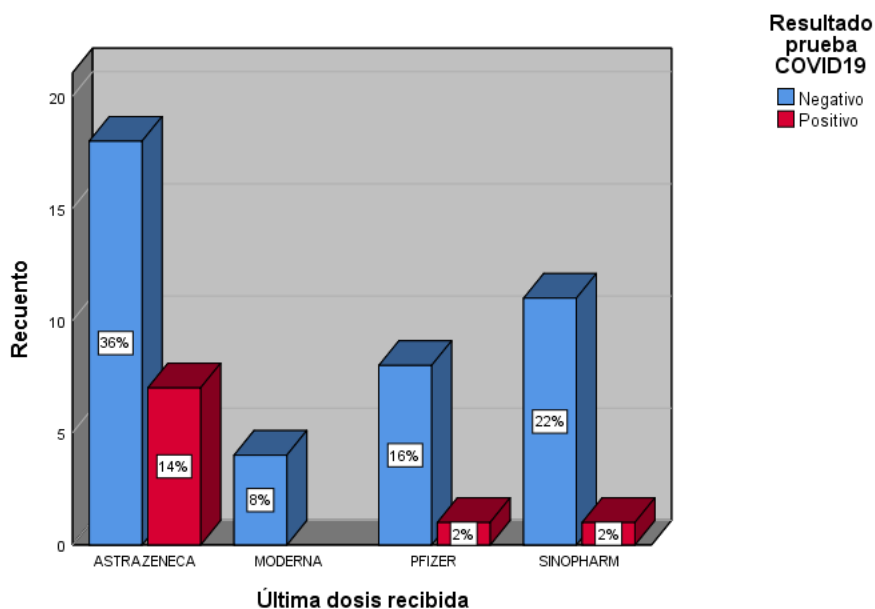
3.3.3 RELACIÓN DE LOS FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS CON LOS RESULTADOS POSITIVOS A SARS-CoV-2

Según la figura N°17 se observa que de los 25 alumnos incluidos (50%), que recibieron la vacuna AstraZeneca como última dosis, 7 de ellos dieron positivo para el virus SARS-CoV-2. Estos hallazgos sugieren que los estudiantes que fueron inoculados con la vacuna AstraZeneca tenían una mayor probabilidad de contraer la infección o una menor eficacia de protección en comparación con aquellos que recibieron las vacunas Pfizer o Sinopharm. Estos resultados son consistentes con los estudios previos realizados por López *et al.*, (2022), quienes determinaron porcentajes de eficacia para las vacunas (AstraZeneca 72%, Sinopharm 78,1% y Pfizer 91%). En contraste, la vacuna de tecnología mRNA, como Pfizer y Moderna, demostró una mayor eficiencia en la protección contra la infección, como se menciona en el estudio de Amparo *et al.*, (2021). Según este estudio, las vacunas mRNA ofrece una efectividad del 90%, seguida por AstraZeneca con un 73%, con una alta protección contra las variantes Alpha y Delta. de manera confirmatoria Good *et al.*, (2022), observó diferencias estadísticamente significativas en las tasas de infección después de completar la vacunación entre aquellos que recibieron la vacuna J&J/Janssen (45,0%, n = 90), aquellos que recibieron la vacuna Pfizer (31,2%, n = 178; $p < 0.01$) y aquellos que recibieron la vacuna Moderna (23,8%, n = 40; $p < 0.01$). Esto indica que las proporciones de infección fueron más altas en aquellos que recibieron la vacuna J&J/Janssen en comparación con aquellos que recibieron las vacunas Pfizer y Moderna. Estas diferencias son consideradas estadísticamente significativas, lo que sugiere que el tipo de vacuna puede tener un impacto en la eficacia de protección contra la infección por COVID-19.

Sin embargo en cuanto a resultados obtenidos en la presente investigación de la prueba de Chi – X^2 nos muestra que para la vacuna Pfizer, la significación asintótica bilateral fue de 0,892 ($p > 0,05$), de la vacuna Sinopharm fue 0,47 ($p > 0,05$), la vacuna AstraZeneca presenta una significancia de 0,255 ($p > 0,05$) y la vacuna Moderna 0,329 ($p > 0,05$), se observa que los valores de significación asintótica bilateral son mayores a 0,05, lo que indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre las vacunas. Es importante tener en cuenta que estos resultados pueden verse influenciados por el tamaño limitado de la muestra utilizada en este estudio.

Figura N° 17:

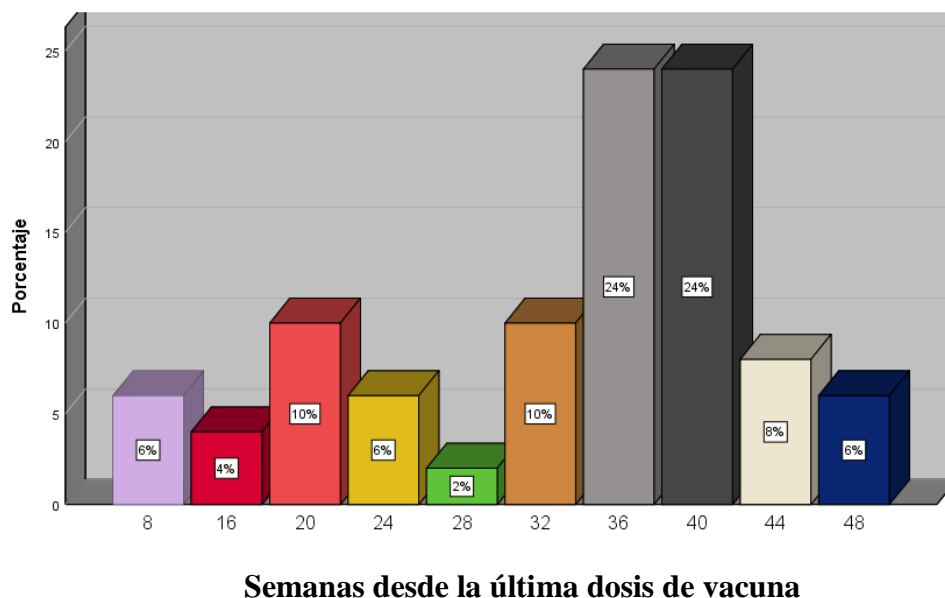
Porcentajes de alumnos en relación a los tipos de vacunas aplicadas en la última dosis como protección contra el SARS-CoV-2.



Según los datos presentados en la figura N° 18, se observa que el mayor porcentaje de los estudiantes tiene entre 36 y 40 semanas en tiempo transcurrido después de recibir la última dosis de las vacunas. Al realizar la prueba de Chi – X², se obtuvo un valor de significancia mayor a 0,05 (p = 0,436). Esto indica que no se considera una variable relevante en relación a la presencia del virus SARS-CoV-2. Amparo et al. (2021) indica que a partir del 5to mes ocurre una disminución progresiva en la efectividad de la vacuna.

Figura N° 18:

Tiempo transcurrido (semanas) desde la última dosis de la vacuna recibida por los alumnos hasta el momento de la toma de muestra.



Podemos observar en la tabla N°20 que, en cuanto a las variables epidemiológicas sobre el uso de mascarillas, distancia social entre los alumnos y contacto con personas positivas al SARS-CoV-2, muestran un nivel de significancia $p < 0,05$ siendo, ($p=0,03$), ($p=0,025$) y ($p=0$) respectivamente, razón por la cual para esas 3 variables se acepta la hipótesis alterna, y se rechaza la hipótesis nula, esto se explica que un alumno puede disminuir el contagio por el virus del SARS-CoV-2 si usa siempre una mascarilla como protección, además de ello mantiene distancia social y más cuando esté en contacto con personas positivas sospechosas al SARS-CoV-2.

En relación a la asociación entre el lavado de manos y la infección con SARS-CoV-2, se observa que la significancia asintótica bilateral es de $p=0,331$. Esto indica que el lavado de manos no influye en la probabilidad de contraer la enfermedad. No obstante, estudios previos

resaltan la importancia de la higiene de manos para reducir las infecciones respiratorias en un rango estimado del 16% al 21% (Aiello *et al.*, 2008). En contraste con nuestros hallazgos, Masai (2021) encontró una asociación significativa entre la frecuencia de lavado y desinfección de manos y los casos informados de enfermedades similares al SARS-CoV-2 entre estudiantes internacionales. Específicamente, aquellos estudiantes que se desinfectaban las manos con mayor frecuencia tenían un 17,1% menos de probabilidades de reportar síntomas de enfermedades similares a la influenza en comparación con aquellos que no lo hacían con la misma frecuencia (índice de riesgo = 0,821, IC del 95% = 0,793-0,915, $p=0,029$). Estos resultados respaldan la importancia de la higiene de manos como medida preventiva para reducir el riesgo de transmisión de enfermedades respiratorias, incluido el SARS-CoV-2. Aunque nuestro estudio no encontró una asociación significativa en esta muestra específica, se recomienda seguir promoviendo la práctica del lavado de manos como una medida clave de prevención en la población en general

La relación de las comorbilidades y el SARS-CoV-2 representan una significación asintótica bilateral de $p=0,783$ siendo mayor a 0,05, esto indica que las comorbilidades no influyen en el contagio por SARS-CoV-2.

Se puede concluir que ninguna de esas condiciones, afecta considerablemente el hecho de salir o no positivo en un examen para SARS-CoV-2, así mismo, no hay riesgo en las observaciones de estas variables por ser no significativas.

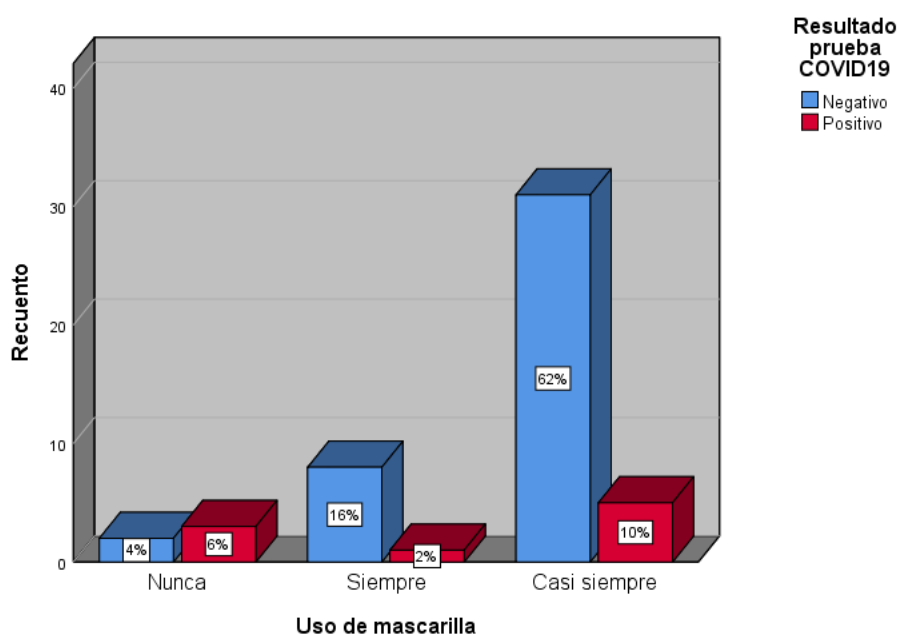
Para poder ver el tipo de influencia que tienen estas variables, se procederá a analizar las figuras a continuación:

En la figura N°19, se observa que las personas que utilizan casi siempre mascarilla presentan una probabilidad del 62% de obtener resultados negativos en las pruebas para detectar el SARS-CoV-2. Por otro lado, aquellas personas que nunca usan mascarillas obtuvieron resultados positivos en un 6% de las ocasiones. Los resultados del análisis de chi cuadrado de Pearson en la tabla N°20 indican que el uso de mascarillas tiene una asociación estadísticamente significativa con la infección por el virus del SARS-CoV-2 ($p=0,03$), cumpliendo con el criterio de $p<0,05$ para rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna. Esto implica que el uso de mascarillas está fuertemente relacionado con los resultados positivos al virus SARS-CoV-2 en una población universitaria con una alta tasa de vacunación (Bart *et al.*, 2022). Esta asociación se explica por las investigaciones previas de Fajardo (2022), McNeill (2022) y Masai (2021). Según Fajardo (2022) y McNeill (2022), la principal forma de

transmisión del virus es a través de las gotículas respiratorias que se liberan cuando una persona infectada tose, estornuda, habla o exhala. Estas gotículas pueden contener el virus y permanecer suspendidas en el aire durante períodos prolongados, y pueden ser inhaladas por personas cercanas, generalmente a menos de 1 metro de distancia, lo que aumenta el riesgo de infección. Masai (2021), en su análisis de regresión de Cox, demostró que los estudiantes que utilizaban mascarillas tenían un 33,6% menos de probabilidades de contraer el SARS-CoV-2, con un valor de $p=0,006$, lo que resalta la efectividad del uso de mascarillas en la población estudiantil. Estos hallazgos respaldan la importancia del uso de mascarillas como una medida eficaz para prevenir la propagación del virus SARS-CoV-2 en la población estudiantil y subrayan la relevancia de su implementación en escenarios universitarios y otros entornos similares.

Figura N° 19:

Relación de uso de mascarilla y resultado de la Semi-nested Multiplex PCR para SARS-CoV-2.

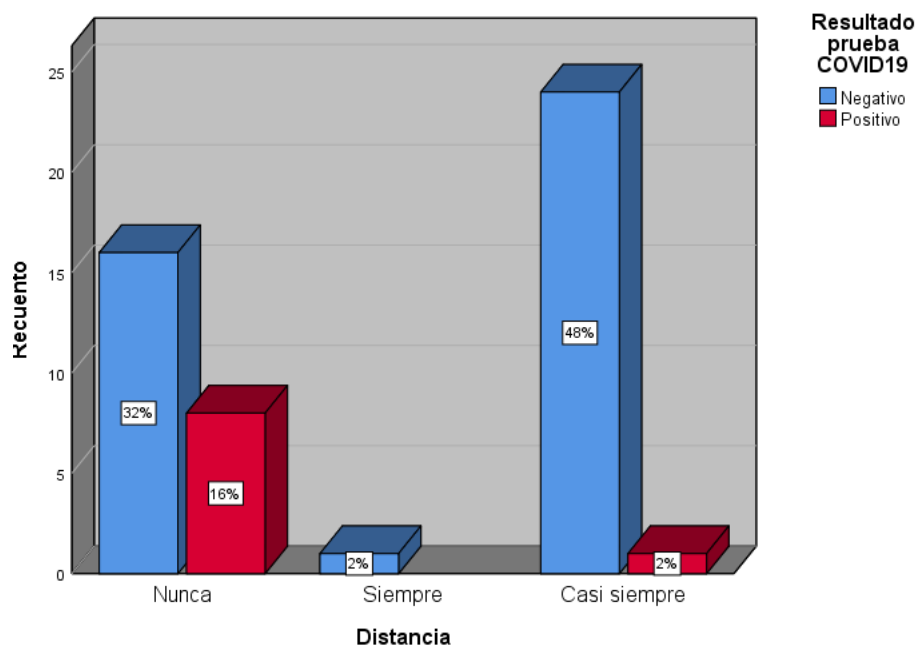


En la figura N° 20, se observa que el 48% de los alumnos que casi siempre mantienen una distancia entre ellas, tienen altas probabilidades de salir negativo en las pruebas para SARS-CoV-2. Así como el 2% de los alumnos que siempre mantienen distanciamiento social son menos propensos a un resultado positivo a SARS-CoV-2, y aquellas personas, que nunca mantienen una distancia, están asociadas a la mayor cantidad de casos positivos. Sun *et al.* (2020) llegaron a una conclusión similar al afirmar que la distancia desempeña un papel crucial

en la prevención del contagio del SARS-CoV-2, ya que el virus puede permanecer en el ambiente a través de aerosoles.

Figura N° 20:

Relación de la distancia con el resultado de la Semi-nested Multiplex PCR para SARS-CoV-2

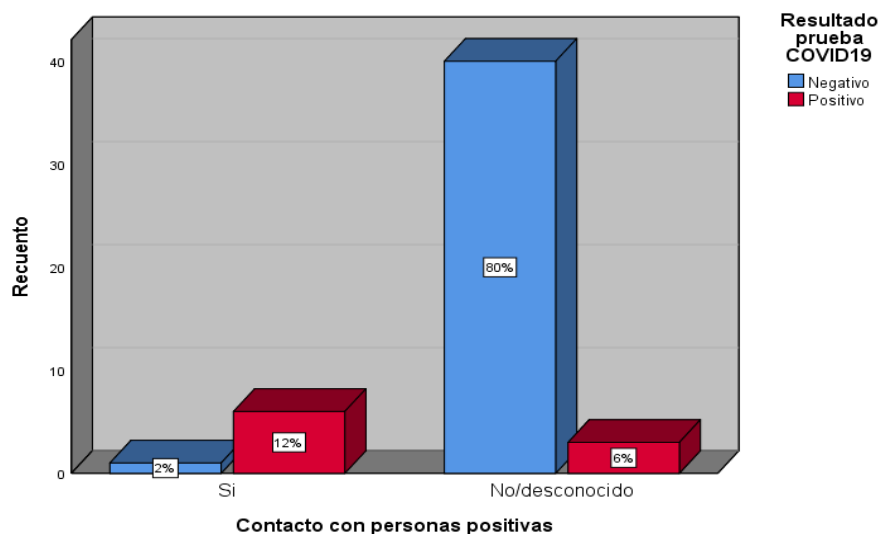


En la figura N° 21, se observa que el 80% de las personas que no tuvieron contacto o desconocen haber estado en contacto con individuos positivos no arrojaron resultados positivos para el virus SARS-CoV-2. Por otro lado, casi todas las personas que informaron haber estado en contacto con casos positivos también dieron positivo en las pruebas. Esto sugiere que el contacto con personas infectadas es uno de los factores de riesgo más significativos para contraer el virus SARS-CoV-2. Estos hallazgos son respaldados por los resultados en la tabla N°20, que muestra un valor de $p=0$, lo cual indica un nivel de significancia $p<0,05$. Ramos *et al.* (2022) informó que el 17.2% de su población de estudio estuvo en contacto con casos positivos de COVID-19 antes de ser diagnosticados con SARS-CoV-2. Además, Cárdenas *et al.* (2023) concluyó que el 66.13% de los estudiantes que presentaron sintomatología reportaron síntomas en los primeros días después del contacto con un caso confirmado de COVID-19. Doyle *et al.* (2021) y Torres *et al.* (2021) mencionaron que los estudiantes que dieron positivo por SARS-CoV-2 proporcionaron al menos el nombre de otro estudiante contagiado con quien habían tenido contacto en las dos semanas previas. Estos estudios

respaldan la importancia de la identificación y el seguimiento de los contactos de casos positivos de COVID-19 para prevenir la propagación del virus. El hecho de estar en contacto con personas infectadas representa un riesgo considerable y resalta la necesidad de implementar medidas de control y seguimiento eficaces para limitar la transmisión del SARS-CoV-2.

Figura N° 21:

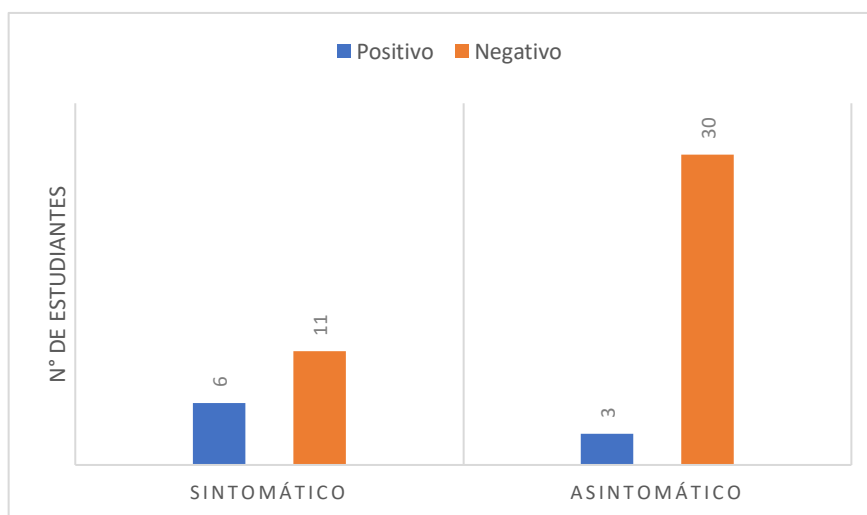
Relación de contacto con personas positivas y resultado de la Semi-nested Multiplex PCR para SARS-CoV-2.



La figura N° 22 muestra que, de los 50 estudiantes, 33 estudiantes (66%) fueron asintomáticos donde 30 estudiantes resultaron negativos y 3 estudiantes resultaron positivos que según la OMS es porque presentan mejores condiciones de salud por este motivo siendo asintomáticos resultaron positivo, además se observó que 17 estudiantes (44%) eran sintomáticos, de los cuales 11 estudiantes resultaron negativo a SARS-CoV-2, pero por su sintomatología podría tratarse de la gripe común donde coincidimos con Riverón *et al.*, (2020) quienes evaluaron a 114 pacientes sintomáticos de COVID-19 con RT-PCR negativo en el centro de aislamiento en Las Tunas, Cuba, estos pacientes en su mayoría adultos con antecedentes de buena salud y sintomatología leve; concluyeron que estos pacientes no presentan COVID-19 sino la gripe común.

Figura N° 22:

Relación de los estudiantes positivos y negativos en función a la sintomatología.



DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS ESTUDIANTES POSITIVOS AL SARS-CoV-2.

Nueve estudiantes dieron positivo al SARS-CoV-2 mediante la prueba de Semi-nested Múltiplex PCR, con una variedad de características sociodemográficas y epidemiológicas significativas:

Características sociodemográficas:

- Sexo: Seis de los estudiantes afectados son mujeres, lo que representa el 66.7% del grupo, mientras que tres son hombres, correspondiente al 33.3%.
- Lugar de procedencia: Un tercio de los estudiantes (33.3%) proviene de Cusco.
- Medio de transporte: La mayoría de los estudiantes afectados (77.8%) utilizan transporte urbano, mientras que el 22.2% utiliza transporte particular.
- Lugar de alimentación: Dos tercios de los estudiantes (66.7%) se alimentan en casa, el 22.2% en restaurantes y el 11.1% en comedores.
- Convivencia: Más de la mitad de los estudiantes (55.6%) viven con su familia, mientras que el restante 44.4% vive solo.

- Síntomas: Dos tercios de los estudiantes (66.7%) presentaron síntomas, siendo la congestión nasal el más común (44.4%), seguido de dolor de garganta y tos (33.3%). El tercio restante (33.3%) fue asintomático.

Características epidemiológicas:

- Contacto con personas positivas: La mayoría de los estudiantes afectados (77.8%) no tuvo o desconoce haber estado en contacto con personas positivas al COVID-19, mientras que el 22.2% estaba seguro de haber estado en contacto con alguien que dio positivo.

- Molestias postvacunación: Tras la vacunación, el 44.4% experimentó fiebre, el 22.2% mialgia, el 22.2% dolor de brazo, el 22.2% escalofríos y dolor de espalda el 11.1%, mientras que el 55.6% no reportó ninguna molestia.

- Aforo de aulas: El 55.6% de los estudiantes estaban en aulas con un aforo de 30 a 45 alumnos.

- Bioseguridad: Respecto al uso de mascarilla, el 44.4% casi siempre la utilizaba, el 33.3% nunca y el 22.2% siempre. En cuanto al lavado de manos, el 77.8% casi siempre lo realizaba, el 22.2% siempre y ningún estudiante indicó nunca hacerlo. En cuanto a mantener la distancia con otras personas, el 66.7% casi siempre lo cumplía, el 22.2% siempre y el 11.1% nunca.

- Última dosis de vacuna: se observa que el 55.5% de estos estudiantes habían recibido la vacuna AstraZeneca, el 33.3% había recibido la vacuna Sinopharm, y el 11.1% había sido vacunado con Pfizer. Estos resultados sugieren que la vacuna AstraZeneca podría ser menos efectiva en prevenir la infección por SARS-CoV-2 en comparación con las vacunas Sinopharm y Pfizer en esta muestra específica de estudiantes.

3.4. GENERACIÓN DE UN MODELO QUE EXPLIQUE LAS PROBABILIDADES DE LOS CASOS POSITIVOS DE SARS-CoV-2.

REGRESIÓN LOGÍSTICA DE LAS VARIABLES INFLUYENTES CON RESULTADOS A PRUEBA COVID-19

Para poder estimar una ecuación de regresión, que nos pueda brindar el grado de influencia de cada una de las variables que han salido significativas, se realizó una regresión logística.

En la tabla N°21, se presentan los resultados del modelo que se ha generado con las 3 variables (uso de mascarillas ($p=0,03$), el distanciamiento social ($p=0,025$) y el contacto con personas positivas ($p=0,0$)), se puede observar que se hizo en 2 pasos, para ambos pasos, el modelo resulta significativo y predice mejor que si no se consideraría las variables. El modelo explica en un 76,8% y 73,8% a la variable dependiente.

Tabla N° 20:

Resumen del modelo

Paso	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	0,469	0,768
2	0,450	0,738

Nota. elaboración propia.

De todos los modelos que se ha logrado generar en base a la combinación de todas las variables significativas, se ha encontrado que el mejor modelo es el que considera una constante y el contacto con personas positivas, siendo la ecuación de predicción la siguiente:

$$\text{Prueba positiva en covid19} = -2,59 + 4,382 (\text{Contacto con pesonas positivas})$$

Existiendo un ODD ratio de 80 para este factor, es decir hay 80 veces más de riesgo de salir positivo en una prueba de COVID-19, si es que se ha tenido contacto con personas que previamente han dado positivo al virus. Los otros modelos, que consideran el uso de la mascarilla y la distancia, no contribuyen significativamente al modelo antes mencionado.

Para poder corroborar el modelo, se hizo una predicción para todos los datos, y se comparó con los valores reales de cada persona. Para ellos se utilizó el índice de concordancia de Kappa, cuyos resultados se muestran en la tabla N°22, donde se puede observar que los valores

predichos, fueron correctos en el 70,3% de los casos, lo que es considerable y se podría asumir como un buen indicador, significa que el modelo acertó 7 de 10 con esos datos.

Tabla N° 21:

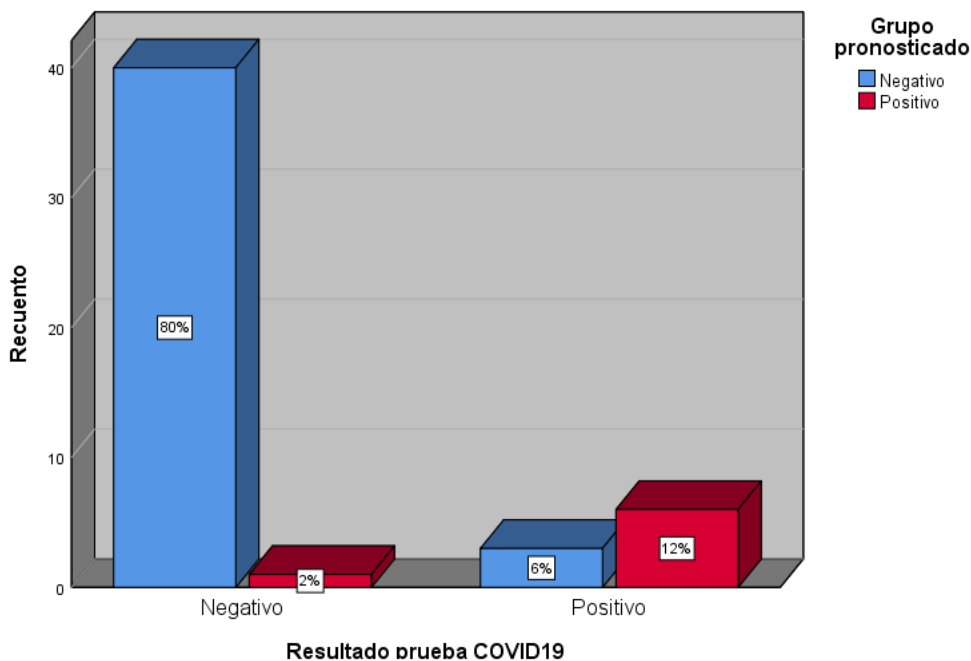
Índice de concordancia de kappa

		Valor	Error estándar asintótico	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	0,703	0,138	0,000
N° de casos válidos		50		

La figura N° 23, muestra que solo 2% de los negativos, fueron predichos como positivos y el 6% de los positivos fueron predichos como negativos.

Figura N° 23:

Resultado predictivo de las pruebas COVID-19



CONCLUSIONES

- 1) La mayoría de los estudiantes (54%) provenían de la ciudad de Cusco, el 66% eran mujeres. El grupo de edad predominante fue de 19 y 30 años. El 78% de los alumnos residían con

familiares. El 80% utiliza el transporte urbano. El 74% de los estudiantes consume sus alimentos en su propio hogar. En relación a las características epidemiológicas, revelaron que un 90% se encontraban en aulas con una capacidad de 30 a 45 alumnos. El 48% se lavaba las manos siempre, y el 72% utilizaba casi siempre mascarilla. En cuanto al mantenimiento de la distancia, aproximadamente el 50% de los estudiantes afirmaba mantenerla casi siempre. Solo un 14% tenía certeza de haber estado en contacto con personas que habían dado positivo al SARS-CoV-2. El 66% se encontraba asintomático, y un 14% presentaba síntomas. Todos los estudiantes habían recibido tres dosis de vacuna, con un tiempo promedio transcurrido entre la última dosis y el estudio de 36 a 40 semanas.

- 2) El material genético del SARS-CoV-2 fue detectado utilizando el método de Semi-nested Multiplex PCR, el cual permitió amplificar los genes E y N específicos del virus en un 18% (n=9) de los estudiantes que dieron positivo en la prueba, el 82% (n=41) de los estudiantes resultaron negativos a la prueba.
- 3) Utilizando la prueba de Chi cuadrado de Pearson, se determinó que las variables sociodemográficas exhibieron un nivel de significancia $p > 0,05$, superando el umbral del nivel de confianza del 95%. En consecuencia, se concluye que estas variables no tienen una influencia significativa en los resultados positivos de SARS-CoV-2. Sin embargo, al analizar las variables epidemiológicas, se observó que factores como el uso de mascarillas ($p = 0,03$), el distanciamiento social ($p = 0,025$) y el contacto con personas positivas ($p = 0,0$) presentaron un nivel de significancia $p < 0,05$. Estos resultados indican que dichos factores sí influyen en la probabilidad de que una persona resulte positiva o negativa al SARS-CoV-2.
- 4) Se desarrolló una regresión logística que permitió identificar el grado de influencia de las variables predictoras significativas y estimar las probabilidades de infección por SARS-CoV-2 para comprender y predecir la propagación del virus en la población estudiada, con R cuadrado de Cox y Snell y R cuadrado de Nagelkerke para ambos casos resulta significativo en un 76,8% y 73,8% a la variable dependiente, un ODD ratio de 80 y el coeficiente de Kappa es de 0,70 lo cual indica una buena concordancia entre las variables independientes y el resultado positivo para SARS-CoV-2.

RECOMENDACIONES

- Utilizar la técnica de Semi- Nested multiplex PCR y aplicar en áreas de investigación aún más amplias.
- Considerar las limitaciones del estudio, como el tamaño de la muestra y la representatividad de la población estudiada. Se recomienda que futuras investigaciones amplíen el alcance y la diversidad de la muestra para obtener resultados más generalizables y representativos.
- Investigar la presencia de variantes del SARS-CoV-2 en estudiantes postvacunados.
- Examinar si existen diferencias en la detección de variantes específicas y si estas variantes están asociadas con un mayor riesgo de infección o una menor eficacia de las vacunas.
- Enfatizar las medidas de prevención del contagio de SARS-CoV-2 en nuestra población. Es fundamental promover el uso de mascarillas, el distanciamiento social y el lavado de manos como acciones efectivas para reducir la propagación del virus, especialmente entre los grupos más vulnerables y espacios cerrados y conglomerados.

REVISION BIBLIOGRÁFICA

- Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2022). *Inmunología celular y molecular*. Elsevier Health Sciences.
- Abreu, M. R. P., Tejeda, J. J. G., & Guach, R. A. D. (2020). Características clínico-epidemiológicas de la COVID-19. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 19(2), 1-15.
- Antoñanzas Serrano, A., & Gimeno Feliu, L. A. (2022). Los determinantes sociales de la salud y su influencia en la incidencia de la COVID-19. Una revisión narrativa. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 15(1), 12-19.
- Amparo, L., Mazagatos, C., Delgado-Sanz, C., & Oliva Dominguez, J. A. (2021). Efectividad de la vacuna COVID-19: Información para la acción en la vigilancia centinela de Infección respiratoria aguda grave.
- Alonso, S., Català, M., López, D., Álvarez-Lacalle, E., Jordan, I., García-García, J. J., ... & Bassat, Q. (2022). Individual prevention and containment measures in schools in Catalonia, Spain, and community transmission of SARS-CoV-2 after school re-opening. *Plos one*, 17(2), e0263741.
- Alfaro, M. M., Contreras, Y. A., Rojas, V. A., Aguilar, M. C., Rivera, B. E. J., Domínguez, M. F. O., ... & Conde, L. Z. (2022). Revisión bibliográfica vacunas anti-covid. *jóvenes en la ciencia*, 16.
- Álvarez-Díaz, D. A., Valencia-Álvarez, E., Rivera, J. A., Rengifo, A. C., Usme-Ciro, J. A., Pelaez-Carvajal, D., ... & Torres-Fernandez, O. (2021). An updated RT-qPCR assay for the simultaneous detection and quantification of chikungunya, dengue and zika viruses. *Infection, Genetics and Evolution*, 93, 104967.
- Aragón-Nogales, R., Vargas-Almanza, I., & Miranda-Novales, M. G. (2019). COVID-19 por SARS-CoV-2: la nueva emergencia de salud. *Revista mexicana de pediatría*, 86(6), 213-218.
- Ayme, Y. C. M., Castillo, N. N. C., Gamarra, C. L. C., Huanca, G. K. S., Pereyra, K. M., & Huaraya, K. N. M. (2022). Vacunas contra la COVID 19 en el Perú: una revisión de literatura. *SITUA*, 25(1).
- Arias, J., & Covinos, M. (2021). Diseño y metodología de la investigación. Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica.

- Bai, Y., Yao, L., Wei, T., Tian, F., Jin, D. Y., Chen, L., & Wang, M. (2020). Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *Jama*, 323(14), 1406-1407.
- Bart, S. M., Curtiss, C. C., Earnest, R., Lobe-Costonis, R., Peterson, H., McWilliams, C., ... & Sosa, L. E. (2022). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) outbreak at a college with high coronavirus disease 2019 (COVID-19) vaccination coverage—Connecticut, August 2021–September 2021. *Clinical Infectious Diseases*, 75(Supplement_2), S243-S250.
- Becker, M. S., Balbuena, C., & Samudio, M. (2021). Reacciones adversas post vacunación, y eventual infección por Covid-19 en odontólogos. *Revista científica ciencias de la salud*, 3(2), 85-94.
- Benalcázar, D. C. S., Dioses, E. G. S., & Jadan, E. J. M. (2023). Técnicas genéticas y moleculares para el diagnóstico de SARS–Cov-2. *RECIMUNDO: Revista Científica de la Investigación y el Conocimiento*, 7(1), 87-98.
- Bulgarín, Y. F. C., Torres, C. D. V., Campuzano, M. F. C., & Ochoa, G. E. C. (2021). Estudios y resultados sobre la combinación de la inmunización con la vacuna Pfizer y aztrazeneca. *Dominio de las Ciencias*, 7(4), 13.
- Cano Hernández, A. (2022). Revisión sistemática sobre la eficacia de la vacuna de nanopartículas frente al SARS-COV-2.
- Cárdenas, S.M; Medrano, S. J; & Gómez, M J; (2023). Transmisión del SARS-CoV-2 en escolares durante el primer trimestre del curso 2021/2022 en la provincia de Albacete: incidencia e impacto de las nuevas variantes. *Atención Primaria*, 55(1), 102516.
- Carrera, J. E. J., Guamán, A. A. M., & Palacios, C. E. S. (2022). Reacciones cutáneas desarrolladas al administrar la vacuna contra el COVID-19. *Universidad y Sociedad*, 14(S3), 649-658.
- Centro para el control y la prevención de enfermedades. (2021). Clasificaciones y definiciones de las variantes del SARS-CoV-2. CDC.
- Centros para el control y la prevención de enfermedades. (2023). Cómo funcionan las vacunas contra Covid 19. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/how-they-work.html>

- Cortés, M. E. (2020). Coronavirus zoonótico SARS-CoV-2: La búsqueda del misterioso hospedero intermediario. *Revista Médica Herediana*, 31(2), 138-140.
- Chaparro Mérida, N. A., Moreno Samper, D., & Lacato, A. O. F. (2022). Seguridad de las vacunas contra la COVID-19. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38, 634-642.
- Checa., A. (2017) Secuenciación convencional (Sanger). Conogasi, Conocimiento para la vida. Fecha de consulta: Julio 19, 2023 Disponible en: <https://conogasi.org/articulos/secuenciacion-convencional-sanger-2/>.
- Dabanch, J. (2021). Emergencia de SARS-CoV-2. Aspectos básicos sobre su origen, epidemiología, estructura y patogenia para clínicos. *Revista médica clínica Las Condes*, 32(1), 14-19.
- Doyle, K., Teran, R. A., Reefhuis, J., Kerins, J. L., Qiu, X., Green, S. J., ... & Ghinai, I. (2021). Multiple variants of SARS-CoV-2 in a university outbreak after spring break—Chicago, Illinois, March–May 2021. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 70(35), 1195. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7035a3>
- Escobar Moya, G. (2022). *respuesta inmunitaria adaptativa a vacunas inactivas contra sars-cov-2* (Doctoral dissertation, Especialidad de inmunologia-1ra Versión; 3/2022).
- Fajardo-Sotamba, H. G. (2022). Eficacia en la reducción de carga viral Bucal (SARS-CoV-2) de tres tipos de colutorios. Revisión de literatura. *Revista de la Facultad de Odontología*, 32(1), 4-10.
- Fernandez-Rua, J. M. (2020). Nuevo mapa genético del SARS-Cov-2. *Biotech magazine & News*, 15(3).
- Foddis, R., Marino, R., Silvestri, R., Fallahi, P., Perretta, S., Garaffa, C., ... & Cipriani, F. (2022). Evaluation of the Anti-Spike (RDB) IgG Titer among Workers Employed at the University of Pisa Vaccinated with Different Types of SARS-CoV-2 Vaccines. *Vaccines*, 10(8), 1244.
- Gámez, N. B. S., Garcell, A. B., Ginés, R. T., & Torres, M. F. (2022). COVID-19 en embarazadas. *Correo Científico Médico*, 26(2).

- Good, M. K., Czarnik, M., Harmon, K. G., Aukerman, D., O’Neal, C. S., Day, C., ... & Riggs, M. A. (2022). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infections and reinfections among fully vaccinated and unvaccinated university athletes—15 states, January–November 2021. *Clinical Infectious Diseases*, 75(Supplement_2), S236-S242.
- Hamming, I., Timens, W., Bulthuis, M. L. C., Lely, A. T., Navis, G. V., & van Goor, H. (2004). Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 203(2), 631-637.
- Herrera, M. E. (2020). Estructura de la partícula viral, organización del genoma y ciclo de replicación. *Revista de Investigación Universitaria en Salud*, 2, 7-14.
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 141-154.
- Hurtado Veliz, A. I. (2022). Revisión crítica del uso de colutorios como medida adicional de prevención contra el SARS-CoV-2 (Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Instituto Nacional de Salud (INS), (2022). Análisis de situación de salud del Perú. Ministerio de Salud. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades - Lima: Ministerio de Salud.
- Instituto Nacional del Cáncer (NCI), (2020). Investigación del genoma humano. Mutaciones. USA.
- Instituto de Salud Global (ISGLOBAL), (2022). Vacuna de la COVID-19, Barcelona.
- Illescas Quezada, M. I., & Romero Zhinin, J. E. (2022). Diagnóstico de Sars-Cov-2 mediante la prueba de PCR-RT e hisopado antigénico (trabajo de titulación previo a la obtención del título de químicos farmacéuticos). Universidad Católica de Cuenca, Cuenca-Ecuador.
- Jiménez-Morales, S., Pérez-Amado, C. J., Montúfar-Robles, I., Fragoso, J. M., Aranda-Uribe, I. S., Ramos-Puga, D. A., ... & Ramírez-Bello, J. (2023). Importancia del genoma y de la proteína espiga del SARS-CoV-2 en la inmunopatogénesis de la COVID-19 y en la eficacia de las vacunas. *Cirugía y cirujanos*, 91(2), 268-276.

- Kim, M., Shapiro, K., Rajal, V. B., Packham, A., Aguilar, B., Rueda, L., & Wuertz, S. (2021). Quantification of viable protozoan parasites on leafy greens using molecular methods. *Food microbiology*, *99*, 103816.
- Lastre, D., Santana, M. P., & Tumbaco, O. L. (2019). Análisis estadístico de tablas de contingencia y chi cuadrado para medir el flujo migratorio en el Ecuador en el 2018. *Ecuadorian Science Journal*, *3*(1), 23-30.
- Layan, M., Gilboa, M., Gonen, T., Goldenfeld, M., Meltzer, L., Andronico, A., ... & Regev-Yochay, G. (2022). Impact of BNT162b2 vaccination and isolation on SARS-CoV-2 transmission in Israeli households: an observational study. *American Journal of Epidemiology*, *191*(7), 1224-1234.
- Letko, M., Marzi, A., & Munster, V. (2020). Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature microbiology*, *5*(4), 562-569.
- López, L., Portugal, W., Huamán, K., & Obregón, C. (2022, April). Efectividad de vacunas COVID-19 y riesgo de mortalidad en Perú: un estudio poblacional de cohortes pareadas. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 83, No. 2, pp. 87-94). UNMSM. Facultad de Medicina.
- Luque Espino, J. C., Navarrete Mejía, P. J., de León Delgado, J., & Gonzáles Moscoso, J. D. (2022). Respuesta inmune humoral a cuatro vacunas contra el SARS-CoV-2 en profesionales de la salud. *Horizonte Médico (Lima)*, *22*(2).
- Luzuriaga, J. P., Marsico, F., Garcia, E., González, V., Kreplak, N., Pifano, M., & González, S. (2021). Impacto de la aplicación de vacunas contra COVID-19 sobre la incidencia de nuevas infecciones por SARS-COV-2 en PS de la Provincia de Buenos Aires.
- Llumiquinga Simbaña, T. K. (2022). *Eficacia de pruebas cualitativas para la detección de Covid-19 año 2021* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Martínez-Salazar^{1a}, M., Juárez-González^{2b}, K., Castillo-Pérez^{3c}, J. J., & Vázquez-Vega^{4d}, S. (2022). COVID-19: Revisión de la evidencia científica sobre sus manifestaciones clínicas, diagnóstico, tratamiento y prevención COVID-19: Review of the scientific evidence about clinical manifestations, diagnosis, treatment and prevention. *Rev Med UAS; Vol*, *12*(3).

- Mares-Rodríguez, A., Flores-Serrano, R. M., & Sanchez, A. G. (2022). Estimación del aforo en un salón de clases según su tamaño y capacidad de ventilación en tiempos de pandemia por el coronavirus SARS-CoV-2. *Revista de Salud Ambiental*, 22(1), 91-99.
- Megía, R. (2022). Tipos de PCR. PCR anidada. Genotipia.
- Mariño, M. A. G. (2022). Concordancia entre observadores en el diagnóstico de atipia epitelial plana. Revisión sistemática. *Revista de Senología y Patología Mamaria*, 35(3), 199-204.
- Masai, A. N. (2021). Practice of COVID-19 preventive measures and risk of acute respiratory infections: a longitudinal study in students from 95 countries. *International Journal of Infectious Diseases*, 113, 168-174.
- McNeill, V. F. (2022). Airborne transmission of SARS-CoV-2: evidence and implications for engineering controls. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 13, 123-140.
- Méndez-Álvarez, S., & Pérez-Rotha, E. (2004). La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 22(3), 183-192.
- MINSA (2020). Guía de procedimiento para toma de muestra de secreción nasofaríngea y orofaríngea para la detección de SARS-CoV-2. GP-050/INSN-SB/USDT/SUSD-PC. V.02.
- Moraleda, B. J., Martin, M. J. F., Belloso, M. S., Gómez, M. L., Molinos, A. C. M., & Negru, G. C. (2021). Diagnóstico y tipos de PCR. Revisión bibliográfica. *Revista Sanitaria de Investigación*, 2(8), 125.
- Muangman, S., Pimainog, Y., Kunaratnpruk, S., & Kanchanaphum, P. (2022). The Prevalence of COVID-19 Infection in Students and Staff at a Private University in Thailand by Rapid SARS-CoV-2 Antigen Detection Assay. *Journal of Environmental and Public Health*, 2022.
- National Cancer Institute (NCI), (2020).
- Oliva Marín, J. E. (2020). SARS-CoV-2: origen, estructura, replicación y patogénesis. Alerta, Revista científica Del Instituto Nacional De Salud, 3(2), 79–86. <https://doi.org/10.5377/alerta.v3i2.9619>
- Oliva, J., & Longobardo, L. M. P. (2022). Impacto de la COVID-19 en la atención socio-sanitaria: el caso de las residencias. Informe SESPAS 2022. *Gaceta Sanitaria*, 36, S56-S60.

Organización mundial de la salud (OMS), (2021). Vacunas e inmunización ¿Qué es la vacunación? WORLD HEALTH ORGANIZATION.

Organización Mundial de la Salud (OMSvaria), (2021). Brote de enfermedad por coronavirus, Covid-19.

Padilla, C., Diez. J., Martínez. G., García. A., (2022). Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA. Departamento de bioquímica y Biología molecular Córdoba.

Pareja Cruz, A., De León Delgado, J., Navarrete Mejía, P. J., Luque Espino, J. C., & Gonzáles Moscoso, J. D. (2021). Detección de anticuerpos neutralizantes en profesionales de la salud vacunados contra el SARS-CoV-2. *Horizonte Médico (Lima)*, 21(3).

Pastrian-Soto, G. (2020). Bases genéticas y moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de patogénesis y de respuesta inmune. *International journal of Odontostomatology*, 14(3), 331-337.

Pérez-Padilla, J. R., Mora-Pavón, A., Hernández-Cárdenas, C. M., Galindo-Fraga, A., Kawa-Karasik, S., Espinoza-Bautista, K. A., ... & García, E. (2022). Efectividad de las vacunas contra SARS-CoV-2 en hospitalizados con fallas vacunales en 10 hospitales de la CCINSHAE. *salud pública de méxico*, 64(2), 131-136.

Petros, B. A., Turcinovic, J., Welch, N. L., White, L. F., Kolaczyk, E. D., Bauer, M. R., ... & Springer, M. (2023). Early introduction and rise of the Omicron severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) variant in highly vaccinated university populations. *Clinical Infectious Diseases*, 76(3), e400-e408.

Perera, C. L., & Acevedo, A. M. (2018). Nuevas tendencias en el diagnóstico de enfermedades virales en los animales. *Revista de salud animal*, 40(3).

Pilaquina Toapanta, M. A. (2022). Revisión bibliográfica narrativa: vacunas de ARN mensajero en relación a las variantes de mayor transmisibilidad de SARS-COV-2, en el periodo de diciembre de 2019 a diciembre de 2021(Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico de bioquímico clínico). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.

Pinzón, J. E. D. (2020). Estudio de los resultados del contagio por COVID-19 a nivel mundial. *Revista repertorio de medicina y cirugía*, 65-71.

- Puhach, O., Adea, K., Hulo, N., Sattouet, P., Genecand, C., Iten, A., ... & Meyer, B. (2022). Infectious viral load in unvaccinated and vaccinated individuals infected with ancestral, Delta or Omicron SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, 28(7), 1491-1500.
- Quinto Arrieta, N. E. (2022). Cuidados de enfermería en el proceso de inmunización en menores de 5 años, en la dirección de redes integradas lima centro-lima, 2022.
- Quispe-Ricalde, M. A., Castelán-Sánchez, H. G., Meza-Rodríguez, P. M., Dávila-Ramos, S., Sierra, J. L., Batista-García, R., ... & Abreu, N. (2023). Evidence of natural selection and dominance of SARS-CoV-2 variant Lambda (C. 37) over variants of concern in Cusco, Peru. *Archives of Virology*, 168(3), 88.
- Ramos, W., Guerrero, N., Napanga-Saldaña, E. O., Medina, J., Loayza, M., De La Cruz-Vargas, J. A., ... & Arrasco, J. (2022). Hospitalization, death, and probable reinfection in Peruvian healthcare workers infected with SARS-CoV-2: a national retrospective cohort study. *Human Resources for Health*, 20(1), 86.
- Ramírez-Truque, M., & Herrera-Morice, M. (2021). Rol del laboratorio clínico ante la epidemia del COVID-19: revisión de los métodos diagnósticos disponibles y sus limitaciones. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 86(629), 73-80.
- Reina, J., & Suarez, L. (2020). Evaluación de diferentes genes en la detección por RT-PCR del SARS-CoV-2 en muestras respiratorias y su evolución en la infección. *Revista Española de Quimioterapia*, 33(4), 292.
- Rivera, Z. M., Bravo, A. X. M., CASTRILLO, J. S., & Rave, L. J. G. (2022). Características del SARS-CoV-2, COVID-19 y su diagnóstico en el laboratorio. *Medicina & Laboratorio*, 26(3), 237-259.
- Riverón-Cruzata, L. J., Vergara-Silva, M., Lluch-Peña, A. P., Alba-Cutiño, Y., & Ortíz-Rodríguez, A. Y. (2020). Pacientes sospechosos de COVID-19 con RT-PCR negativo atendidos en un centro de aislamiento en Las Tunas. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*, 45(4).
- Romero-Saritama, J. M., Simaluiza, J., & Fernandez, H. (2022). Medidas de prevención para evitar el contagio por la COVID-19: de lo cotidiano a lo técnico-científico. *Revista Española de Salud Pública*, 95, e202104051.

- Ruiz Bachero, A. (2022). Comparación de la eficacia y los efectos adversos de las vacunas de ARNm con la de vectores adenovirales contra el SARS-CoV-2 en la población general: una revisión sistemática (tesis de grado en Medicina). Universidad Jaume I, España.
- Sánchez Martínez, B., Vega Falcón, V., & Gómez Martínez, N. (2021). Predicción de la diabetes mellitus tipo 2 en pacientes adultos mediante regresión logística binaria. *Dilemas contemporáneos: educación, política y valores*, 8(3).
- Sanchez, M., Gómez, B., (2013). Biología Molecular. Mutaciones. Fundamentos en ciencias de la salud. (1º edición). México. McGraw-Hill Interamericana editores, S.A. de C.V.
- Santos González, R. (2023). Modelos de scoring. Desarrollo de un modelo Logit. Aplicado a empresas no financieras (tesis de grado en Ciencias Económicas y Empresariales). Universidad Pontificia Comillas, Madrid.
- Sistema de Vigilancia Noti- Sistema de Defunciones SINADEF – MINSA (2023). Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/coronavirus/coronavirus180523.pdf>
- Sambrook J, Russel DW (2012). Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4th Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY.
- Sandoval, A., Floresvillar, J., Meza, A., (2013). Biología molecular. Reacción en cadena de la polimerasa. (1º edición). México. McGraw-Hill Interamericana editores, S.A. de C.V.
- Scruzzi, G. F., Aballay, L. R., Carreño, P., Díaz Rousseau, G. A., Franchini, C. G., Cecchetto, E., ... & López, L. (2023). Vacunación contra SARS-CoV-2 y su relación con enfermedad y muerte por COVID-19 en Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 46, e39.
- Serrato, A., Flores, Ll., Aportela, J., Sierra, E., (2014). PCR: Reacción encadena de la polimerasa. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/710/pcr.pdf>
- Singanayagam, A., Hakki, S., Dunning, J., Madon, J., Crone, A., Koycheva, A., Lackenby, A. (2022). Community transmission and viral load kinetics of the SARS-CoV-2 delta (B. 1.617. 2) variant in vaccinated and unvaccinated individuals in the UK: a prospective, longitudinal, cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 22(2), 183-195.

- Soto, Ch., Jason, B. (2022). Validación de una Semi-nested Multiplex PCR para el diagnóstico de la COVID-19 producida por SARS-CoV-2 en la región del Cusco (Tesis para optar el título de Biólogo). UNSAAC, Cusco.
- Sun, C., & Zhai, Z. (2020). The efficacy of social distance and ventilation effectiveness in preventing COVID-19 transmission. *Sustainable cities and society*, 62, 102390.
- ThermoFisher Scientific (2023). Tinte de Gel AND SYBR™ Safe.
- Termansen, M. B., & Frische, S. (2023). Fecal-oral transmission of SARS-CoV-2. A systematic review of evidence from epidemiological and experimental studies. *American Journal of Infection Control*. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.04.170>
- Torre, G., Linares, N., Steiner, M., Hernández, J., (2012). Vigilancia epidemiológica. Epidemiología y estadística en salud pública. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1464§ionid=101050673>
- Torres, I., Poujois, S., Albert, E., Colomina, J., & Navarro, D. (2021). Evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag rapid test device) for SARS-CoV-2 detection in asymptomatic close contacts of COVID-19 patients. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(4), 636-e1.
- Vargas, A., Schreiber, V., Ochoa, E., Lopez, A., (2020). SARS-CoV-2: Una revisión bibliográfica de los temas más relevantes y evolución del conocimiento médico sobre la enfermedad. Universidad La Salle. Ciudad de México. *Neumol Cir Torax*. 2020;79(3):185-196.
- Vásquez-Velásquez, C., Fernández-Delgado, K., Fano-Sizgorich, D., Quispe-Bravo, B. E., Marquina-Quispe, R., Ramírez-Herrera, J., & Gonzales, G. F. (2022). Criterios de uso de pruebas diagnósticas para la COVID-19 e implicancias de las variantes del SARS. CoV-2. Repositorio académico UPC. Vol. 61(1).
- Valladares-Garrido, M. J., Alvarez-Risco, A., Rojas-Alvarado, A. B., Zuniga-Cáceres, J. A., Estrella Izarra, N. A., Peralta, C. I., ... & Yáñez, J. A. (2022). Factors Associated with SARS-CoV-2 Positivity in Patients Treated at the Lambayeque Regional Hospital, Peru during a Pandemic Period. *Sustainability*, 14(22), 14785.
- Wang, Baric, R., Li, F., (2020). An analysis based on decade-long structural studies of SARS 3, JVI Accepted Manuscript Posted Online 29 January 2020. *J Virol*, 94(7), e00127-20.

ANEXOS



Resolución Viceministerial

N° 094-2022-MINEDU

Lima, 26 de julio de 2022

VISTOS, el Expediente N° 0145324-2022, los Informes N° 00251-2022-MINEDU/VMGP-DIGESU-DIPODA y N° 00256-2022-MINEDU/VMGP-DIGESU-DIPODA de la Dirección de Políticas para el Desarrollo y Aseguramiento de la Calidad de la Educación Superior Universitaria de la Dirección General de Educación Superior Universitaria, el Informe N° 01195-2022-MINEDU/SPE-OPEP-UPP de la Unidad de Planificación y Presupuesto de la Oficina de Planificación Estratégica y Presupuesto, el Informe N° 0839-2022-MINEDU/SG-OGAJ de la Oficina General de Asesoría Jurídica, y;

CONSIDERANDO:

Que, de conformidad con lo dispuesto en los artículos 13 y 16 de la Constitución Política del Perú, la educación tiene como finalidad el desarrollo integral de la persona humana, correspondiéndole al Estado coordinar la política educativa, formular los lineamientos generales de los planes de estudios, así como los requisitos mínimos de la organización de los centros educativos y, supervisar su cumplimiento y la calidad de la educación;

Que, el artículo 3 de la Ley N° 31224, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Educación, establece que el Sector Educación se encuentra bajo la conducción y rectoría del Ministerio de Educación, asimismo, de acuerdo con el literal

a) del numeral 1 y el literal a) del numeral 2 del artículo 5 de la citada Ley; sus funciones rectoras y técnico-normativas son formular, planear, dirigir, ejecutar, supervisar y evaluar la política nacional y sectorial bajo su competencia, aplicable a todos los niveles de gobierno; así como

aprobar las disposiciones normativas vinculadas con sus ámbitos de competencia, respectivamente;

Que, conforme con lo previsto en el artículo 79 de la Ley N° 28044, Ley General de Educación, el Ministerio de Educación es el órgano del Gobierno Nacional que tiene por finalidad definir, dirigir y articular la política de educación, recreación y deporte, en concordancia con la política general del Estado;

Que, la Ley N° 30220, Ley Universitaria (en adelante, Ley N° 30220) tiene por objeto normar la creación, funcionamiento, supervisión y cierre de las universidades; promueve el mejoramiento continuo de la calidad educativa de las instituciones universitarias como entes fundamentales del desarrollo nacional, de la investigación y de la cultura; así como también establece los principios, fines y funciones que rigen el modelo institucional de la universidad;

Que, de conformidad con el artículo 3 de la Ley N° 30220, la universidad es una comunidad académica orientada a la investigación y a la docencia, que brinda una formación humanista, científica y tecnológica con una clara conciencia de nuestro país como realidad multicultural; así como adopta el concepto de educación como derecho fundamental y servicio público esencial. Está integrada por docentes, estudiantes y graduados;

Que, en el marco de la emergencia sanitaria por la COVID-19, mediante la Resolución Viceministerial N° 076-2022-MINEDU, en su artículo 3, se dispuso que las universidades públicas y privadas, así como las escuelas de posgrado, retornan a prestación del servicio educativo, según la modalidad autorizada en su licencia institucional, a partir del segundo semestre académico del 2022, con observancia de las disposiciones emitidas por el gobierno central y la autoridad sanitaria, respecto de las medidas de prevención y control de la COVID-19;

Que, en virtud de las disposiciones legales antes señaladas y teniendo en cuenta el contexto universitario en el marco de la pandemia, resulta necesario disponer que, excepcionalmente, durante el segundo semestre de 2022 y hasta la culminación de los ciclos académicos iniciados durante el 2022, las universidades públicas y privadas, así como las escuelas de posgrado pueden retornar a la presencialidad de forma gradual y progresiva, de acuerdo con las disposiciones emitidas por la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria;

Que, en ese sentido, la Dirección General de Educación Superior Universitaria remitió al Despacho Viceministerial de Gestión Pedagógica el Informe N° 00251-2022- MINEDU/VMGP-DIGESU-DIPODA, complementado con el Informe N° 00256-2022- MINEDU/VMGP-DIGESU-DIPODA, ambos elaborados por la Dirección de Políticas para el Desarrollo y Aseguramiento de la Calidad de la Educación Superior Universitaria, a través de los cuales se sustenta la necesidad de modificar el artículo 3 de la Resolución Viceministerial N° 076-2022-MINEDU;

Que, mediante el Informe N° 01195-2022-MINEDU/SPE-OPEP-UPP, la Unidad de Planificación y Presupuesto de la Oficina de Planificación Estratégica y Presupuesto, dependiente de la Secretaría de Planificación Estratégica, emitió opinión favorable, señalando que la propuesta se encuentra alineada con los objetivos estratégicos e institucionales del sector y, desde el punto de vista presupuestal, no irrogará gastos al Pliego 010: Ministerio de Educación ni al Tesoro Público;

Que, a través del Informe N° 00839-2022-MINEDU/SG-OGAJ, la Oficina General de Asesoría Jurídica emitió opinión legal favorable a la propuesta de resolución, sugiriendo proseguir el trámite correspondiente para su aprobación;

De conformidad con la Ley N° 31224, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Educación; la Ley N° 28044, Ley General de Educación; Ley N° 30220, Ley Universitaria y el Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Educación, aprobado por el Decreto Supremo N° 001-2015-MINEDU;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- Modificar el artículo 3 de la Resolución Viceministerial N° 076-2022-MINEDU, conforme al siguiente tenor:

“Artículo 3.- Las universidades públicas y privadas, así como las escuelas de posgrado, retornan a la prestación del servicio educativo de forma presencial, a partir del segundo semestre de 2022, de acuerdo a las disposiciones vigentes.

Excepcionalmente y en el marco de la emergencia sanitaria causada por la COVID-19, durante el segundo semestre de 2022 y hasta culminar los ciclos académicos iniciados durante el 2022, las universidades públicas y privadas, así como las escuelas de posgrado pueden retornar a la

presencialidad de forma gradual y progresiva, de acuerdo con las disposiciones emitidas por la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria”.

Artículo 2.- Disponer la publicación de la presente Resolución en el Sistema de Información Jurídica de Educación (SIJE), ubicado en el portal institucional del Ministerio de Educación (www.gob.pe/minedu), el mismo día de su publicación en el diario oficial “El Peruano”.

Regístrese, comuníquese y publíquese.

(Firmado digitalmente)

Walter Alberto Hernández Alcántara Viceministro de Gestión Pedagógica

HERNANDEZ ALCANTARA

Walter Alberto FAU 20131370998 hard

VICEMINISTRO DE GESTIÓN PEDAGÓGICA - VMGP MINEDU



ANEXO N° 02

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD
DEL CUSCO SECRETARÍA GENERAL**

RESOLUCIÓN NRO. CU-220-2022-UNSAAC

Cusco, 20 de septiembre de 2022

**EL CONSEJO UNIVERSITARIO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO:**

VISTO, el Oficio Nro. 251-2022-VRAC-UNSAAC, cursado por la DRA.
PAULINA TACO LLAVE,

VICERRECTORA ACADEMICA de la Universidad Nacional de San Antonio
Abad del Cusco, solicitando aprobación de “DIRECTIVA PARA
IMPLEMENTACIÓN DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS
PRESENCIALES EN LA UNSAAC” a partir del Semestre Académico 2022-
II, y;

CONSIDERANDO:

Que, a través del numeral segundo de la Resolución Nro. CU-201-2022-UNSAAC
de fecha 05 de septiembre de 2022 se aprueba el retorno a la presencialidad
en el 100%, como modalidad de enseñanza académica o prestación de servicio
educativo en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, a partir
del Semestre Académico 2022-II; asimismo en el numeral tercerose encarga al
Vicerrectorado Académico adopte las acciones necesarias para garantizar el
retorno a la presencialidad;

Que, mediante Expediente del Visto, la Vicerrectora Académica de la Institución,
hace de conocimiento que en cumplimiento al citado numeral tercero de la
Resolución CU-201-2022- UNSAAC, se ha encargado al Asesor Legal del
Vicerrectorado Académico de la Institución, la elaboración de la Directiva

para implementación de actividades académicas presenciales en la UNSAAC, a partir del Semestre Académico 2022-II;

Que, la Comisión Académica Permanente del Consejo Universitario en Sesión Ordinaria de fecha 12 de septiembre de 2022, previa a la exposición y luego del análisis correspondiente, ha aprobado por unanimidad la citada Directiva; por tal motivo eleva dicha propuesta para ser aprobada por el Consejo Universitario;

Que, dicha propuesta de Directiva tiene por finalidad establecer lineamientos, acciones y procedimientos para el retorno a la actividad académica en las unidades académicas de pregrado en modelo educativo presencial, mediante estrategias de enseñanza presenciales cumpliendo con el ordenamiento sanitario de prevención y protección por COVID-19;

Que, asimismo como contenido contempla lo siguiente: Objeto; Finalidad; Base Legal, Alcance; Disposiciones Generales; Disposiciones Específicas; Responsabilidades y Disposiciones Complementarias y Finales;

Que, el respecto el artículo 8° de la Ley Universitaria Nro. 30220 concordante con el Artículo 7° del Estatuto Universitario, prescribe que la autonomía inherente a las universidades se ejerce de conformidad con lo establecido en la Constitución, la Ley Universitaria y demás normativas aplicables, autonomía manifiesta entre otros, en el régimen normativo, que implica la potestad auto-determinativa para elaborar y aprobar todas sus normas internas orientadas a regular las acciones académico-normativas, así como de control;

Que, conforme prescribe el Artículo 59.2° de la Ley Universitaria 30220, concordante con el inc. c) del Artículo 20° del Estatuto Universitario, constituye atribución del Consejo Universitario dictar el Reglamento General de la Universidad, el Reglamento de Elecciones y otros reglamentos internos especiales, así como vigilar su cumplimiento;

Que, la petición ha sido puesta a consideración del Consejo Universitario, en Sesión Extraordinaria, efectuada el 13 de septiembre de 2022, siendo aprobada por unanimidad, disponiendo se emita la resolución respectiva;

stando al acuerdo adoptado por el Consejo Universitario, y en uso de las atribuciones conferidas por la Ley y el Estatuto Universitario;

RESUELVE:

PRIMERO.- APROBAR la “DIRECTIVA PARA IMPLEMENTACIÓN DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS PRESENCIALES EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD

DEL CUSCO” a partir del Semestre Académico 2022-II; documento que comprende Objeto; Finalidad; Base Legal, Alcance; Disposiciones Generales; Disposiciones Específicas; Responsabilidades y Disposiciones Complementarias y Finales, que como anexo constituye parte de la presente Resolución.

SEGUNDO.- DISPONER que la Unidad de Red de Comunicaciones proceda a publicar la presente Resolución, directiva y anexos en la Página Web de la Institución.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO



DR. ELEAZAR CRUCINTA UGARTE
RECTOR

TR.: VRAC.- VRIN.- OCI.- DIRECCION DE PLANIFICACION.- UNIDAD DE ORGANIZACIÓN Y METODOS.- UNIDAD DE PRESUPUESTO.- DIGA.- UNIDAD DE FINANZAS.- UNIDAD DE LOGISTICA.- AREA DE INTEGRACION CONTABLE.- AREA DE TESORERIA.- AREA DE MANTENIMIENTO Y SERVICIOS.- AREA DE EJECUCION PRESUPUESTAL.- UNIDAD DE TALENTO HUMANO.- AREA DE EMPLEO.- UNIDAD DE CENTRO DE COMPUTO.- DEPENDENCIAS UNIVERSITARIAS (25).- FACULTADES (10).- DEPARTAMENTOS ACADÉMICOS (36).- ESCUELAS PROFESIONALES (42).- SINDUC.- SINTUC.- ASESORIA JURIDICA.- IMAGEN INSTITUCIONAL.- RED DE COMUNICACIONES.- ARCHIVO CENTRAL.- ARCHIVO SG.- SG/ECU/MMVZ/ MQL.-

Lo que transcribo a usted, para su conocimiento y fines consiguientes.

Atentamente,



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

ABOG. M. MYLISKA VILLAGARCIA ZERECEDA
SECRETARIA GENERAL (a)

DIRECTIVA PARA IMPLEMENTACIÓN DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS PRESENCIALES EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABADDEL CUSCO

(Aprobado por Resolución Nro. CU-2022-UNSAAC de fecha 20 de septiembre de 2022)

I Objetivo

La presente directiva está dirigida a establecer las acciones iniciales necesarias para implementar modelo educativo presencial en el pregrado de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, en tanto se mantenga la Emergencia Sanitaria Nacional por COVID-19.

II Finalidad

Establecer lineamientos, acciones y procedimientos para las actividades académicas en las unidades académicas de pregrado en modelo educativo presencial, mediante estrategias de enseñanza presenciales cumpliendo con el ordenamiento sanitario de prevención y protección por COVID-19.

III Base legal

- ✓ Ley Universitaria, 30220.
- ✓ Decreto Legislativo 1496, establece disposiciones en materia de educación superior universitaria en el marco del estado de emergencia sanitaria a nivel nacional.
- ✓ Ley 31406, que declara de urgente interés nacional la mejora de la educación y el retorno progresivo a las aulas.
- ✓ Ley N° 29783 Ley de Seguridad y Salud en el Trabajo y sus modificatorias
- ✓ Decreto Supremo N° 005-2012-TR Reglamento de la Ley de Seguridad y Salud en el Trabajo y sus modificatorias.
- ✓ Resolución Viceministerial N° 076-2022-MINEDU que dispone que las universidades públicas y privadas, así como las escuelas de posgrado, retornen a la prestación del servicio educativo de manera presencial, a partir del segundo semestre de 2022.

✓ Resolución Viceministerial N° 094-2022-MINEDU, modifica el artículo 3° de la Resolución Viceministerial N° 076-2022-MINEDU

✓ Resolución de Consejo Directivo N.° 039-2020-SUNEDU/CD

✓ Resolución Ministerial N.° 1275-2021-MINSA que aprueba la Directiva N° 321-MINSA/DGIESP-2021 que establece las disposiciones para la vigilancia, prevención y control de la salud de los trabajadores con riesgo de exposición a SARS-CoV-2. Modificada por Resolución Ministerial N° 675-2022-MINSA

IV Alcance

La presente directiva es de aplicación para todas las Facultades, sus escuelas profesionales y departamentos académicos de la UNSAAC. Comprende a sus órganos de gobierno y directivos académicos, personal docente, estudiantes y personal administrativo. Sin excepción.

V Disposiciones Generales

5.1 La presente Directiva se rige y adopta los principios de la Resolución Viceministerial N.°076-2022-MINEDU y su modificatoria por Resolución Viceministerial N° 094-2022-MINEDU y lo establecido por la Resolución Ministerial N° 675-2022-MINSA. «Directiva Administrativa que establece las disposiciones para la vigilancia, prevención y control de la salud de los trabajadores con riesgo de exposición a SARS-CoV-2, aprobada por Resolución Ministerial N° 1275- 2021/MINSA» sin excusa posible.

5.2 Los Decanos en coordinación con el director de cada escuela profesional de la Facultad a su cargo, establecen el requerimiento de infraestructura necesaria. Preferentemente, priorizan aquellas asignaturas que se prevea tengan número de estudiantes que requiera uso intensivo o mayor número de horas de ambientes e instalaciones especializadas de modo presencial para el desarrollo de sus actividades académicas.

5.3 Establecidas las asignaturas a ser ofrecidas, el Decano coordina junto con el director de la escuela profesional respectiva y con los directores de los departamentos académicos que prestan servicio en la atención de tales asignaturas a fin de establecer las necesidades de personal docente, personal administrativo de apoyo, infraestructura y equipamiento necesarios.

5.4

5.5 La Unidad de Servicios Generales en coordinación con la Unidad de Ejecución de Inversiones de la Dirección General de Administración, desde el día siguiente de la publicación de la presente Directiva, tiene el deber de establecer el estado, aforo para actividad presencial según las normas sanitarias, ventilación, instalaciones para funcionamiento de equipos para uso de TIC, en cada uno de los locales de las escuelas profesionales de la UNSAAC, incluidas sedes o filiales fuera de la provincia del Cusco. Para tal actividad, debe coordinar reuniones con los directores de las escuelas profesionales. No pudiendo exceder el plazo de diez (10) días hábiles para emitir el informe respectivo.

5.6 Es obligatorio para todo efecto que la Unidad de Servicios Generales en coordinación con la Unidad de Ejecución de Inversiones cumplan con la medición de dióxido de carbono (CO₂) de cada aula, sala de docentes, oficinas administrativas y pasillos de todas las instalaciones que permiten brindar el servicio educativo, bajo responsabilidad. Colocando los avisos correspondientes respecto al aforo permitido en cada aula. Teniéndose en cuenta para ello, lo establecido por el Anexo 10 de la Directiva N° 321-MINSA/DGIESP-2021 que regula las disposiciones para la vigilancia, prevención y control de la salud de los trabajadores con riesgo de exposición a SARS-CoV-2. Modificada por Resolución Ministerial N° 675-2022-MINSA

5.7 Ante la eventualidad de riesgo de contaminación que obliga al aislamiento de usuarios ante diagnóstico positivo de COVID 19, la Oficina de Sistemas de Información con su Unidad de Red de Comunicaciones en coordinación con los Directores de escuelas profesionales, según la infraestructura para actividad académica establece el requerimiento y posibilidad de conexión para equipamiento de los medios necesarios para aulas virtuales que permitan actividad académica a distancia del docente o estudiante aislado, con soporte administrativo y técnico necesario para el funcionamiento efectivo y continuo de las herramientas TIC , acceso a Internet.

5.8 La Unidad de Recursos Humanos de la Dirección General de Administración en coordinación con el Servicio de Seguridad y Salud en el Trabajo debe elaborar el «Plan para la vigilancia, prevención y control de la COVID-19 en el trabajo» conforme a lo establecido por los literales a) y b) del numeral 6.1 del Ordinal VI de la Directiva N° 321-MINSA/DGIESP-2021 que establece las disposiciones para la vigilancia, prevención y

control de la salud de los trabajadores con riesgo de exposición a SARS-CoV-2. Modificada por Resolución Ministerial N° 675-2022-MINSA.

5.9 El Plan a que alude el acápite precedente, debe considerar necesaria y obligatoriamente la obligación Institucional de garantizar al personal docente y administrativo un ambiente seguro de trabajo. Siendo obligatorio exigir que tanto el personal docente y administrativo se halle con las tres dosis mínimas de vacunación anti COVID 19 y de preferencia la cuarta dosis.

5.10 Para la matrícula de los estudiantes es obligatorio la presentación del carné de vacunación que acredite haber recibido las tres dosis de vacunas anti COVID 19. De establecerse falsificación

o uso indebido de la certificación oficial, es retirado de las asignaturas como medida cautelar e inmediatamente sujeto al procedimiento administrativo disciplinario correspondiente, siendo la sanción la de separación definitiva. Requisito que se fundamenta en el derecho fundamental que reconoce el numeral 1 del artículo 2° de la Constitución Política del Perú, a los estudiantes, docentes y personal administrativo que desea preservar su salud e integridad personal.

5.11 La UNSAAC en ejercicio de la autonomía reconocida constitucionalmente y conforme a lo dispuesto por los numerales 8.1 y 8.4 del artículo 8° de la Ley Universitaria, 30220 establece que los estudiantes y docentes para toda actividad al interior del campus universitario y especialmente en aulas y ambientes cerrados y pasadizos obligatoriamente deben hacer uso correcto de mascarillas faciales, preferentemente KN95 o doble mascarilla: quirúrgica y de tela.

La resistencia al uso de mascarilla en aula por un estudiante es suficiente para que el docente y personal administrativo no esté obligado a ingresar al aula, ambiente, laboratorio, taller y biblioteca; dando cuenta del hecho a la dirección de la carrera profesional correspondiente y su registro en el departamento académico correspondiente con reporte a la Unidad de Recursos Humanos.

5.12 El Vicerrectorado Académico propone a la Comisión Académica Permanente de Consejo Universitario un cronograma de actividades, estableciendo plazos perentorios de

obligatorio cumplimiento por las unidades académicas y administrativas, dando cumplimiento a las disposiciones precedentemente establecidas.

VI Disposiciones específicas

6.1 El director de escuela profesional coordina con el director de departamento académico las asignaturas que por número de estudiantes para actividad presencial requieran establecer turnos y el requerimiento de aulas, considerando para ello el informe que emitirá la unidad de Servicios Generales respecto al aforo y la ventilación requerida según el estándar de medición de CO₂ y el informe del Servicio de Seguridad y Salud en el Trabajo del personal docente.

6.2 El director de departamento académico en función al requerimiento de asignaturas de la escuela profesional respectiva que deban ser atendidas debe considerar las disposiciones para la vigilancia, prevención y control de la salud de los docentes y trabajadores con riesgo de exposición a SARS-CoV-2 establecidos por el MINSA. Debiendo informar al Decano, para dar cuenta al Vicerrectorado Académico.

6.3 Los Decanos centralizan la información de todas las unidades académicas de pregrado de la Facultad a su cargo y determinan los requerimientos para uso adecuado de aulas, ambientes, laboratorios y talleres, precisando turnos, horarios y atención del servicio. Para lo cual, prevé y coordina con los directores lo concerniente a la información de infraestructura y servicio de comunicaciones, TIC y otros elementos, así como habilitación de laboratorios, talleres u otros ambientes. Debiendo remitir un informe final al Vicerrectorado Académico, señalando decisiones adoptadas, requerimientos y necesidades a considerar.

6.4 Con la información recogida por los Decanos, de los directores de escuelas profesionales, directores de departamentos académicos el Vicerrectorado Académico centraliza la información y da cuenta a la Comisión Académica Permanente de Consejo Universitario.

6.5 Las escuelas profesionales de la Facultad de Ciencias de la Salud que requieran desarrollo de internados, prácticas formativas vivenciales y/o trabajo de campo, priorizan dichas actividades en favor de los estudiantes para el logro del perfil de egresado del

profesional de la salud, establecidas en su Plan de Estudios. Igual tratamiento para aquellas escuelas profesionales que lo requieran, en cuyo caso el director de escuela profesional debe sustentar.

6.6 El Vicerrectorado Académico recoge la información dentro del plazo previamente establecido. Las unidades Académicas que no cumplan con haber presentado información dentro de los plazos, automáticamente son consideradas en la imposibilidad de prestar el servicio de formación superior universitaria.

6.7 El Vicerrectorado Académico da cuenta a la Comisión Académica Permanente de Consejo Universitario con la información recogida en las Facultades y ésta evalúa:

- Realiza un diagnóstico de la capacidad física disponible instalada tanto en aulas, laboratorios, talleres, bibliotecas y ambientes destinados a la actividad académica presencial, que garanticen el cumplimiento de los protocolos de bioseguridad y especialmente el distanciamiento social. Cuidando que la información sea precisa respecto a la evaluación de ventilación y seguimiento de CO₂ por cada aula y ambiente.

- La disponibilidad suficiente de personal docente y personal administrativo para actividades académicas que requiere la actividad académica presencial; optimizando la disponibilidad de recursos humanos en la docencia. Por lo mismo, considerar que conforme prevé el Reglamento de distribución de carga académica vigente en sus artículos 4° y 10°, el mínimo de 10 horas lectivas es excepcional y se privilegia la necesidad del servicio.

- Otros aspectos que, por la información alcanzada, deban ser considerados.

6.8 Realizada la evaluación, la CAPCU acuerda proponer al Consejo Universitario correcciones, modificaciones y optimizar el servicio considerado en las unidades académicas.

VII Responsabilidades

7.1 Los Decanos, directores de escuelas profesionales y de departamentos académicos son responsables de implementar las acciones previstas por la presente directiva.

Los jefes de las Unidades de Servicios Generales y de Ejecución de Inversiones son responsables de cumplir con lo establecido en la presente directiva en lo que concierne a la actividad encomendada en el plazo establecido.

7.2 Los directores de escuela profesional y de departamento académico, al presentar la información a que están obligados, deben adicionar las modalidades de monitoreo, seguimiento y evaluación del trabajo del personal docente y administrativo y de la actividad presencial a ser realizada, bajo responsabilidad.

VIII Disposiciones complementarias y finales

8.1 Constituye elemento necesario a considerar para la aplicación de la presente Directiva, los criterios aprobados por la Resolución Viceministerial N.º 075-2022-MINEDU y su modificatoria aprobada por Resolución Viceministerial N.º 094-2022-MINEDU y la Resolución Ministerial N.º 675-2022-MINSA.

8.2 Cualquier situación de fuerza mayor o caso fortuito que impida la atención normal del servicio en las instalaciones del campus universitario, automáticamente conduce a que el servicio sea brindado virtualmente. El impedimento de las actividades en las instalaciones universitarias no es admisible estando al numeral 10.1 del artículo 10º de la Ley Universitaria, 30220.

8.3 De conformidad al plan para vigilancia y control de COVID-19 en el trabajo, si se establece personal docente que por cuestión de riesgo debidamente comprobado no pueda ejercer actividad docente presencial debe informarse a la unidad académica. Por su parte, el docente debe formular petición individual de tal circunstancia. El director de departamento en coordinación con la escuela profesional que se preste servicio considerara encargar las asignaturas virtualmente.

8.4 Lo no previsto por la presente directiva es resuelto en primera instancia por el Decano y en última por la Comisión Académica Permanente de Consejo Universitario.

8.5 La presente directiva es aprobada por el Consejo Universitario, en la misma fecha publicada en el portal web institucional y entra en vigencia al día siguiente de tal publicación.

8.6 La modalidad de enseñanza en la Escuela de Posgrado, se desarrolla en forma virtual conforme a las Resoluciones N° CU-159-2022-UNSAAC de fecha 08/07/2022 y N° CU-137-2022-UNSAAC de fecha 06/06/2022.

FCC/

ANEXO N° 03

Decreto Supremo que prorroga el Estado de Emergencia Nacional declarado por el Decreto Supremo N° 016-2022-PCM, Decreto Supremo que declara Estado de Emergencia Nacional por las circunstancias que afectan la vida y salud de las personas como consecuencia de la COVID-19 y establece nuevas medidas para el restablecimiento de la convivencia social, prorrogado por Decreto Supremo N° 030-2022-PCM, Decreto Supremo

N° 041-2022-PCM, Decreto Supremo

N° 058-2022-PCM, Decreto Supremo

N° 076-2022-PCM, Decreto Supremo

N° 092-2022-PCM y Decreto Supremo N° 108-2022-PCM; y modifica el Decreto Supremo N° 016-2022-PCM

DECRETO SUPREMO

N° 118-2022-PCM

EL PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA

CONSIDERANDO:

Que, los artículos 7 y 9 de la Constitución Política del Perú establecen que todos tienen derecho a la protección de su salud, del medio familiar y de la comunidad, y que el Estado determina la política nacional de salud, correspondiendo al Poder Ejecutivo normar y supervisar su aplicación, siendo responsable de diseñarla y conducirla en forma plural y descentralizada para facilitar a todos, el acceso equitativo a los servicios de salud;

Que, el artículo 44 de la Constitución prevé que son deberes primordiales del Estado garantizar la plena vigencia de los derechos humanos, proteger a la población de las amenazas contra su seguridad y promover el bienestar general que se fundamenta en la justicia y en el desarrollo integral y equilibrado de la Nación;

Que, los artículos II, VI y XII del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, establecen que la protección de la salud es de interés público y que es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promover las condiciones que garanticen una adecuada cobertura de prestaciones de salud de la población, en términos socialmente aceptables de

seguridad, oportunidad y calidad, siendo irrenunciable la responsabilidad del Estado en la provisión de servicios de salud pública. El Estado interviene en la provisión de servicios de atención médica con arreglo al principio de equidad, siendo posible establecer limitaciones al ejercicio del derecho a la propiedad, a la inviolabilidad del domicilio, al libre tránsito, a la libertad de trabajo, empresa, comercio e industria, así como al ejercicio del derecho de reunión en resguardo de la salud pública;

Que, mediante Decreto Supremo N° 008-2020-SA, se declara la emergencia sanitaria a nivel nacional por el plazo de noventa (90) días calendario y se dictan medidas para la prevención y control para evitar la propagación del COVID-19, la misma que fue prorrogada por los Decretos Supremos N°s 020-2020-SA, 027-2020-SA, 031-2020-SA, 009-2021-SA, 025-2021-SA, 003-2022-SA y 015-2022-SA, hasta el 24 de febrero de 2023;

Que, por el Decreto Supremo N° 016-2022-PCM, Decreto Supremo que declara Estado de Emergencia Nacional por las circunstancias que afectan la vida y salud de las personas como consecuencia de la COVID-19 y establece nuevas medidas para el restablecimiento de la convivencia social, se declara el Estado de Emergencia Nacional por el plazo de treinta y dos (32) días calendario, quedando restringido el ejercicio de los derechos constitucionales relativos a la libertad y la seguridad personales, la inviolabilidad del domicilio, y la libertad de reunión y de tránsito en el territorio, comprendidos en los incisos 9, 11 y 12 del artículo 2 y en el inciso 24, apartado f) del mismo artículo de la Constitución Política del Perú; el mismo que fue prorrogado por Decreto Supremo N° 030-2022-PCM, Decreto Supremo N° 041-2022-PCM, Decreto Supremo N° 058-2022-PCM, Decreto Supremo N° 076-2022-PCM, Decreto Supremo N° 092-2022-PCM y Decreto Supremo N° 108-2022-PCM, hasta el 30 de setiembre de 2022;

Que, mediante Oficio N° D000877-2022-SG-MINSA, la Secretaría General del Ministerio de Salud remite la Nota Informativa N° D000150-2022-CDC-MINSA, elaborada por el Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades; el Informe N° D000014-2022-UFETP-MINSA de la Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública; y, el Oficio N° 2241-2022-JEF-OPE-/INS del Instituto Nacional de Salud; documentos en los cuales se aborda la situación actual de la pandemia por la COVID-19, y se recomienda prorrogar el Estado de Emergencia Nacional; así como, mantener las medidas preventivas y de control de cumplimiento de las normas de convivencia social dispuestas, con algunas modificaciones;

Que, considerando el contexto actual, resulta necesario prorrogar el Estado de Emergencia Nacional y modificar algunas disposiciones con el fin de proteger los derechos fundamentales a la vida y a la salud de los/as peruanos/as;

De conformidad con lo establecido en los numerales 4 y 14 del artículo 118 y el numeral 1 del artículo 137 de la Constitución Política del Perú; y, la Ley N° 29158, Ley Orgánica del Poder Ejecutivo; y;

Con el voto aprobatorio del Consejo de Ministros y con cargo a dar cuenta al Congreso de la República;

DECRETA:

Artículo 1.- Prórroga del Estado de Emergencia Nacional

Prorróguese el Estado de Emergencia Nacional declarado mediante Decreto Supremo N° 016-2022-PCM, prorrogado por Decreto Supremo N° 030-2022-PCM, Decreto Supremo N° 041-2022-PCM, Decreto Supremo N° 058-2022-PCM, Decreto Supremo N° 076-2022-PCM, Decreto Supremo N° 092-2022-PCM y Decreto Supremo N° 108-2022-PCM, por el plazo de treinta y un (31) días calendario, a partir del 1 de octubre de 2022, por las graves circunstancias que afectan la vida y salud de las personas como consecuencia de la COVID-19.

Durante el Estado de Emergencia Nacional queda restringido el ejercicio de los derechos constitucionales relativos a la libertad y la seguridad personales, la inviolabilidad del domicilio, y la libertad de reunión y de tránsito en el territorio, comprendidos en los incisos 9, 11 y 12 del artículo 2 y en el inciso 24, apartado f) del mismo artículo de la Constitución Política del Perú.

Artículo 2.- Modificación del artículo 4 del Decreto Supremo N° 016-2022-PCM, modificado por el Decreto Supremo N° 030-2022-PCM, el Decreto Supremo N° 041-2022-PCM, el Decreto Supremo N° 063-2022-PCM, el Decreto Supremo N° 069-2022-PCM y el Decreto Supremo N° 108-2022-PCM

Modifícase el artículo 4 del Decreto Supremo N° 016-2022-PCM, modificado por el Decreto Supremo N° 030-2022-PCM, el Decreto Supremo N° 041-2022-PCM, el Decreto Supremo N° 063-2022-PCM, el Decreto Supremo N° 069-2022-PCM y el Decreto Supremo N° 108-2022-PCM, con el siguiente texto:

“Artículo 4.- Restricciones al ejercicio de derechos

4.1 Es obligatorio el uso de una mascarilla KN95, o en su defecto una mascarilla quirúrgica de tres pliegues y encima de esta una mascarilla comunitaria (tela), en establecimientos de salud, vehículos del servicio de transporte terrestre de personas y espacios cerrados sin ventilación.

Es opcional el uso de mascarillas en espacios abiertos y espacios cerrados ventilados.

Es obligatorio el uso de una mascarilla KN95, o en su defecto una mascarilla quirúrgica de tres pliegues y encima de esta una mascarilla comunitaria (tela), para personas con síntomas respiratorios, tanto en espacios abiertos y cerrados.

En las instituciones educativas el uso de mascarilla es opcional para los estudiantes y docentes, debiendo garantizarse la ventilación adecuada, conforme a la normativa vigente.

Para el caso de restaurantes o similares en espacios cerrados sin ventilación, la(s) mascarilla(s) puede(n) ser retirada(s) sólo al momento de ingerir los alimentos.

4.2 Los infractores a las disposiciones sanitarias y las relativas al estado de emergencia nacional, que no hayan cumplido con pagar la multa impuesta por las infracciones cometidas durante el estado de emergencia nacional y demás normas emitidas para proteger la vida y la salud de la población por el contagio de la COVID-19, están impedidos de realizar cualquier trámite ante cualquier entidad del Estado; sin perjuicio de ello, las personas que se encuentren en situación de vulnerabilidad y estén debidamente registradas en los padrones de los programas sociales, así como, de los subsidios monetarios, entre otros, siguen siendo beneficiarias de cualquier programa estatal de apoyo económico, incentivos, alimentario y sanitario, recibiendo las prestaciones que les corresponda.

4.3 Los peruanos y extranjeros residentes de 12 años a más, cuyo destino final sea el territorio nacional en calidad de pasajeros e independientemente del país de procedencia, deben acreditar haberse aplicado las tres (3) dosis de vacunación contra la COVID-19 en el Perú o en el extranjero. Los extranjeros no residentes cuyo destino final sea el territorio nacional en calidad de pasajeros e independientemente del país de procedencia, deben contar con la vacunación de acuerdo al esquema de su país de origen.

De no contar con la citada vacunación, pueden presentar una prueba molecular negativa con fecha de resultado no mayor a 48 horas antes de abordar en su punto de origen. Los menores de 12 años solo requieren estar asintomáticos para abordar. Aquellas personas que muestren síntomas al arribar a territorio nacional ingresan a aislamiento obligatorio, según regulaciones sobre la materia.

La Autoridad Sanitaria Nacional se encuentra facultada para la toma de pruebas diagnósticas para la COVID-19 a los pasajeros que arriben al país, estableciendo las medidas sanitarias complementarias para los casos positivos.

La verificación de la vacunación contra la COVID-19, en el Perú y/o el extranjero, debe realizarse a través del carné físico o virtual conjuntamente con algún documento oficial de identidad.”

Artículo 3.- Refrendo

El presente Decreto Supremo es refrendado por el Presidente del Consejo de Ministros, el Ministro del Interior, el Ministro de Defensa, el Ministro de Relaciones Exteriores, el Ministro de Salud, el Ministro de Justicia y Derechos Humanos, la Ministra de Desarrollo e Inclusión Social, el Ministro de Trabajo y Promoción del Empleo, el Ministro de Comercio Exterior y Turismo, el Ministro de Transportes y Comunicaciones, el Ministro de Educación, el Ministro de Economía y Finanzas, la Ministra de Energía y Minas, el Ministro de Vivienda, Construcción y Saneamiento, la Ministra de Desarrollo Agrario y Riego, el Ministro de la Producción, la Ministra de la Mujer y Poblaciones Vulnerables, el Ministro del Ambiente, y la Ministra de Cultura.

DISPOSICIÓN COMPLEMENTARIA

DEROGATORIA

Única. - Derogase el artículo 5 del Decreto Supremo N° 016-2022-PCM.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los veintinueve días del mes de setiembre del año dos mil veintidós.

ANEXO N° 04

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

SEMI-NESTED MULTIPLEX PCR PARA LA DETECCIÓN DE SARS CoV 2 POST
VACUNA EN ESTUDIANTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGIA –
UNSAAC.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Descripción

Usted ha sido invitado a participar en la investigación sobre la detección del virus del SARS CoV 2 que produce la enfermedad de Covid – 19, en los estudiantes de Biología que ya cuentan con las diferentes dosis de vacunas. Esto debido al retorno a clases con el 100 % de aforo, orden emitida en la resolución N° CU-220-2022-UNSAAC. Esta investigación es realizada por la Dra. Maria Antonieta Quispe Ricalde y la Blga. Olga Cjuno Huanca.

El propósito de esta investigación es conocer el estado de salud de los estudiantes frente al Covid – 19 al estar expuestos unos a otros en las diferentes actividades que realizan dentro de la universidad y bajo las condiciones de bioseguridad propuestas por la universidad y así tomar las acciones necesarias para un mayor cuidado de los mismos. Usted fue seleccionado para participar en esta investigación por ser alumno de la escuela profesional de Biología, tener la edad comprendida entre 18 a 35 años, contar con 2 dosis mínimas de vacunas contra la Covid- 19 y pertenecer a la ciudad de Cusco y/o sus provincias. Se espera que en este estudio participen aproximadamente 50 personas como voluntarias.

Si acepta participar en esta investigación, se le solicitará que usted asista el día y hora indicada a realizarse la toma de muestra, sin haberse cepillado los dientes para una mayor eficiencia en la toma de muestra, la cual consistirá en la introducción y raspado (suave) con un hisopo de dracón a la orofaringe que posteriormente será introducido en tubos de transporte viral para ser procesados mediante el método elegido de PCR en el laboratorio de Genética y Biotecnología Microbiana. El participar en este estudio le tomará aproximadamente entre 2 a 5 minutos.

Riesgos y beneficios

Los riesgos asociados con este estudio son mínimos, ya que solo le podría ser incomodo sentir el hisopo, mas no doloroso, sin embargo, se le otorgará la mayor confianza y la delicadeza pertinente.

Los beneficios esperados de esta investigación son la satisfacción de haber colaborado en esta investigación, así mismo nos comprometemos a proporcionarle los resultados obtenidos del estudio realizado sin ningún costo.

Confidencialidad

la recopilación de sus datos, el análisis y la presentación de los resultados será de una forma totalmente confidencial.

La identidad del participante será protegida, De acuerdo con la Ley N° 29733 de protección de datos de carácter personal, los datos contenidos en este documento están protegidos con las normas de seguridad que dicta la citada Ley. Toda información o datos que pueda identificar al participante serán manejados confidencialmente. Para esto se tomarán las siguientes medidas de seguridad; usted será identificado con un código de estudio que será conocido solo por usted y el personal que realiza el estudio, y no por su nombre.

Solamente la Dra. Maria Antonieta Quispe Ricalde y la Blga. Olga Cjuno Huanca. tendrán acceso a los datos crudos o que puedan identificar directa o indirectamente a un participante, incluyendo esta hoja de consentimiento. Estos datos serán almacenados en una gaveta segura dentro del laboratorio de Genética y Biotecnología Microbiana por un periodo de dos meses una vez concluya este estudio. Serán archivadas

Incentivos

No recibirá ningún incentivo

Derechos

Si ha leído este documento y ha decidido participar, por favor entienda que su participación es completamente voluntaria y que usted tiene derecho a abstenerse de participar o retirarse del estudio en cualquier momento, sin ninguna penalidad, también tiene derecho a no contestar alguna pregunta en particular. Además, tiene derecho a recibir una copia de este documento.

Si tiene alguna pregunta o desea más información sobre esta investigación, por favor comuníquese

Con la Dra. Maria Antonieta Quispe Ricalde y la Blga. Olga Cjuno Huanca a los números de celulares 973512698 y 942978099 respectivamente. De tener alguna pregunta sobre sus

derechos como participante o reclamación o queja relacionada con su participación en este estudio.

Su firma en este documento significa que ha decidido participar después de haber leído y discutido la información presentada en esta hoja de consentimiento.

Nombre del participante

Firma

Fecha

He discutido el contenido de esta hoja de consentimiento con el arriba firmante. Le he explicado los riesgos y beneficios del estudio.

Nombre del investigador

Firma

Fecha

ANEXO N° 05

Título de Tesis: “Semi-nested Multiplex PCR para la detección de SARS-CoV-2 postvacuna en estudiantes de la escuela profesional de Biología – UNSSAC”

FICHA DE INVESTIGACIÓN CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICA DE COVID – 19,
MODIFICADA A PARTIR DEL FORMATO DE LA DIRECTIVA SANITARIA

N °135 -MINSA/CDC-2021

I. DATOS GENERALES:

1. Fecha de llenado de la ficha epidemiológica: ___/___/___

II. DATOS DEL PARTICIPANTE:

2. Apellidos y Nombres: _____

3. Fecha de nacimiento: ___/___/___ Sexo: Femenino Masculino

4. Edad: _____ DNI: _____ N° de celular: _____

5. Peso: _____ Talla: _____

6. Dirección de residencia actual: _____

Departamento: _____ Provincia: _____ Distrito: _____

7. Lugar de procedencia: _____

8. Personas con las que vive (mencione) _____

9. ¿Cuál es la forma de transporte que usa frecuentemente para su movilidad? Especifique.

10. ¿Lugar donde Ud. consume sus alimentos habitualmente? Marque (x).

Comedor universitario Restaurantes Casa

III. ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS Y PATOLÓGICOS

11. Tipo de caso: Sintomático Asintomático

12. Fecha de inicio de síntomas: ___/___/___ Fecha inicio de aislamiento:
___/___/___

13. Síntomas:

<input type="checkbox"/>	Tos
<input type="checkbox"/>	Dolor de garganta
<input type="checkbox"/>	Congestión Nasal
<input type="checkbox"/>	Dificultad Respiratoria
<input type="checkbox"/>	Fiebre
<input type="checkbox"/>	Escalofrío
<input type="checkbox"/>	Otro. especificar:

<input type="checkbox"/>	Malestar general
<input type="checkbox"/>	Diarrea
<input type="checkbox"/>	Náuseas/ vómitos
<input type="checkbox"/>	Cefalea
<input type="checkbox"/>	Anosmia
<input type="checkbox"/>	Ageusia

<input type="checkbox"/>	Dolor de oído
<input type="checkbox"/>	Irritabilidad
<input type="checkbox"/>	Dolor muscular
<input type="checkbox"/>	Dolor abdominal
<input type="checkbox"/>	Dolor de pecho
<input type="checkbox"/>	Dolor de articulaciones

14. Condiciones de comorbilidad y factores de riesgo:

<input type="checkbox"/> Enfermedad cardiovascular (incluye hipertensión)	<input type="checkbox"/> Embarazo (Edad gestacional: _____ semanas)
<input type="checkbox"/> Inmunodeficiencia (incluye VIH)	<input type="checkbox"/> Cáncer
<input type="checkbox"/> Diabetes mellitus (tipo I y II)	<input type="checkbox"/> Receptor de trasplante de órganos y/o células madre sanguíneas
<input type="checkbox"/> Enfermedad renal	Otros, _____ especificar: _____
<input type="checkbox"/> Obesidad	
<input type="checkbox"/> Enfermedad pulmonar	

15. ¿Ha mantenido contacto directo con un caso sospechoso, probable o confirmado de Covid - 19 en los 14 días previos la obtención de muestra?

Sí No Desconocido

Si la respuesta es sí, marque según corresponda:

<input type="checkbox"/> Entorno familiar	<input type="checkbox"/> Universidad	<input type="checkbox"/> Desconocido
<input type="checkbox"/> Entorno laboral	<input type="checkbox"/> Entorno con amigos	
<input type="checkbox"/> Otros, especifique _____		

16. ¿Vacunado contra Covid – 19? SI NO

1° dosis <input type="checkbox"/>	Fecha <input type="text"/>	Tipo vacuna <input type="text"/>
2° dosis <input type="checkbox"/>	Fecha <input type="text"/>	Tipo vacuna <input type="text"/>
3° dosis <input type="checkbox"/>	Fecha <input type="text"/>	Tipo vacuna <input type="text"/>

Especifique si tuvo molestias y/o secuelas post vacunas:

IV. HOSPITALIZACIÓN

17. Hospitalizado: Si No

18. Fecha de hospitalización: ____/____/____

Lugar de hospitalización: _____ Fecha de ingreso: ____/____/____ Fecha de alta: ____/____/____

<input type="checkbox"/> Unidad de Cuidados Intensivos	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="checkbox"/> Unidad de Cuidados Intermedios	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="checkbox"/> Trauma shock	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="checkbox"/> Sala de aislamiento	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="checkbox"/> Otro	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

|

19. ¿El paciente estuvo con ventilación mecánica? SI NO
20. ¿Estuvo intubado en algún momento durante de la enfermedad? SI NO
21. ¿Tiene o tuvo neumonía durante la enfermedad? SI NO

IV.SOBRE EL CUMPLIMIENTO DE NORMAS DE BIOSEGURIDAD (Marcar con una x)

	Nunca	siempre	Siempre
¿Usa de forma permanente la mascarilla?			
¿Con qué frecuencia se lava las manos?			
¿Cumple con el distanciamiento social?			

¿Las aulas cumplen con el aforo establecido por la universidad? (Marcar con una x)

- 8 – 15 15 – 30 30 – 45 45 - 60

V.REINFECCIÓN (ANTECEDENTES):

22. Presentó síntomas: Si No

23. Prueba confirmatoria:

Prueba molecular

Prueba antigénica

Prueba serológica

24. Número de veces de reinfección: _____

VI.LABORATORIO (Para ser llenado por las responsables de la tesis)

25. Fecha de toma de muestra: ____/____/____

26. Tipo de muestra: _____

27. Resultado: POSITIVO NEGATIVO



ANEXO N° 06

Comité de Bioética Institucional y Sub Comités de Bioética de la UNSAAC

“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

Cusco, 11 de octubre del 2023

Oficio virtual N° 015-2023-CBI-UNSAAC

Srita. KATHERIN SOLORZANO HUARCAYA

ASUNTO : Informe final sobre aspectos bioéticos del proyecto de investigación.

Ref. : Exp. 480622

De mi mayor consideración:

Previo un cordial y atento saludo, el presente es para remitir a usted el informe con código CBI-UNSAAC2023-015 de la revisión final a los aspectos bioéticos al trabajo de investigación “Semi-Nested Multiplex PCR para la detección de SARS-CoV-2 postvacuna en estudiantes de la escuela profesional de Biología-UNSAAC”.

En la revisión del trabajo de investigación han participado los miembros del comité central del CBI- UNSAAC y los miembros del Sub Comité de Bioética en Ensayos Clínicos, Estudios Clínicos Epidemiológicos en Seres Humanos de la UNSAAC.

A su vez, hacer de su conocimiento que una vez concluida la ejecución del trabajo de investigación antes indicado, debe de remitir al CBI-UNSAAC una copia del informe final y/o publicación.

Sin otro particular, uso de la ocasión para expresar las consideraciones de nuestra estima personal.

Atentamente,

Fdo. Dra. Tatiana Del Castillo de Loayza.

Presidente del Comité de Bioética Institucional de la UNSAAC
comite.bioetica@unsaac.edu.pe

C.C.VRIN

/Archivo

/TDCL



Comité de Bioética Institucional y Sub Comités de Bioética de la UNSAAC

Código: CBI-UNSAAC2023-015

INFORME FINAL DE ASPECTOS BIOÉTICOS DEL PROYECTO

Datos de los Investigadores que solicitan la opinión del CBI-UNSAAC Nombre: Katherin Solorzano Huarcaya- Wendy Alcione Lucana Álvarez Institución: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco Correo electrónico: 203993@unsaac.edu.pe / 103202@unsaac.edu.pe Datos del Proyecto de investigación

Título: “Semi-Nested Multiplex PCR para la detección de SARS-CoV-2 postvacuna enestudiantes de la escuela profesional de Biología-UNSAAC”

Fecha de ingreso: 24-04-2023

Fecha de emisión de informe final: 11-10-2023

Resultado de la evaluación a aspectos bioéticos y metodológicos: APROBADO.

Observaciones: El proyecto presentado a consideración del Comité de Bioética Institucional en Investigación de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco(CBI-UNSAAC), ha sido evaluado conjuntamente por el CBI-UNSAAC y el Sub Comité de Bioética en Ensayos Clínicos, Estudios Clínicos Epidemiológicos en Seres Humanos, quienes tras deliberación realizan la aprobación del trabajo de investigación.



Atentamente,

Dra. Tatiana Del Castillo de Loayza.

Presidente del Comité de Bioética Institucional de la UNSAAC
comite.bioetica@unsaac.edu.pe

Biospin Blood-Cell-Tissue Genomic DNA



【Kit Components】

Cat#	BSC47S1	BSC47M1
Components	50 Tests	100 Tests
TES buffer	15mL	30mL
LysisB buffer	25mL	50mL
PK solution	0.5mL	1mL
PW Buffer	12mL (add 18mL absolute ethanol)	24mL (add 36mL absolute ethanol)
Wash Buffer	24mL (add 36mL absolute ethanol)	48mL (add 72mL absolute ethanol)
Elution Buffer	5mL	10mL
Spin Columns	50	100
Handbook	1	1

【Storage & shipping conditions】

1. Store Protease K at 2~8°C, store all other components at room temperature.
2. All components are stable for 18 months from date of receipt under proper storage condition.

【Introduction】

The kit provides a simple, fast and cost effective method that can isolate high quality DNA. Using one simple protocol, high yield purified DNA can be isolated from various samples including animal tissue, whole blood, buffy coat, leukocytes, and cultured cells. The kit utilizes silica-based membrane techniques within a convenient spin column, no need of expensive resins, toxic phenol-chloroform extractions, or time-consuming alcohol precipitation. The whole procedure takes less than 30 minutes including lysis steps, and more than 20 kb DNA could be purified by this kit. Isolated DNA can be directly applied to PCR, Southern blotting and other enzymatic reactions.

【Typical genomic DNA yields from various samples】

Source	Quantity	Yield (µg)
Mammalian tissue	25mg	5-30
Mammalian blood	200µL	2-10
Poultry blood / Amphibian	5-20µL	5-40
Cell	$\leq 2 \times 10^6$	5-30
Blood spots	2-5 pieces	0.1-1

Biospin Blood-Cell-Tissue Genomic DNA



【Additional apparatus and materials required but not supplied】

- * Sterile 1.5mL/2.0mL microcentrifuge tubes
- * Centrifuge capable of 12,000g
- * Vortex mixer
- * 10μL/100μL/1000μL tips
- * Absolute ethanol
- * PBS buffer
- * Warm bath

【Important notes】

Please add absolute ethanol to PW Buffer and Wash Buffer, mix thoroughly before use.

【Protocol】

➤ Sample lysis

■ Cell and blood

1 · Sample pre-processing

A. **Culture cells:** adherent cells shall be digested with trypsin, no more than 10⁷ cells. Spin for 5min in 1500rpm, discard the supernate. Add 200μL PBS buffer into the tube, re-suspend cells.

B. **Leukocytes:** if blood volume is more than 200μL, use Red Blood Cell Lysis Buffer (Cat. # BSA06M1 or Cat. # BSA07M1) first to obtain white blood cells, add 200μL PBS buffer into the tube, re-suspend cells.

C. **Mammalian Whole blood:** Add 200μL well mixed blood into 1.5mL tube (if the blood is less than 200μL, add to 200μL with PBS buffer).

D. **Birds, amphibians, anticoagulant whole blood :** Add 5-20μL well mixed blood into 1.5mL tube · add to 200μL with PBS buffer.

2 · Add 10μL PK solution, mix thoroughly for 15s.

Add 4μL RNase A (Cat. # BSA40S1). Incubate at room temperature for 5min.

3 · Add 200μL Lysis B buffer, mix thoroughly. Incubate at 56°C for 10min.

4 · Add 200μL absolute ethanol, mix thoroughly.

■ Animal tissue

1 · Add 200μL TES Buffer and 10μL PK solution into tube.

2 · Grind tissue to powder (no more than 25mg) with liquid nitrogen. Add it to the tube and mix thoroughly.

Note: for spleen, no more than 10mg, samples must be submerged within solution.

3 · Incubate for 1-4 hours at 56°C. For samples hard to lysis, prolong lysis time or even overnight.

Note: vortex per 10s will facilitate lysis.

- 4 · Centrifuge 3min at 12,000g. Carefully transfer the supernatant into a new tube. Add 4µL RNase A (Cat. # BSA40S1). Incubate at room temperature for 5min.
- 5 · Add 200µL Lysis B buffer, mix thoroughly.
- 6 · Add 200µL absolute ethanol, mix thoroughly.

■ **Blood spots**

- 1 · Take 2-5 pieces spots (3×3mm) into a tube.
- 2 · Add 300µL TES Buffer and 10µL of PK solution into the tube. Mix intensively for 10s. Put it in 56°C thermostat oscillator metal bath, vortex for 60min at 900rpm.
- 3 · Centrifuge for 3min at 12,000g. Carefully transfer the supernatant into a new tube. Add 4µL RNase A (Cat. # BSA40S1). Incubate at room temperature for 5min.
- 4 · Add 300µL Lysis B buffer, mix thoroughly.
- 5 · Add 150µL absolute ethanol, mix thoroughly.

➤ **DNA Purification**

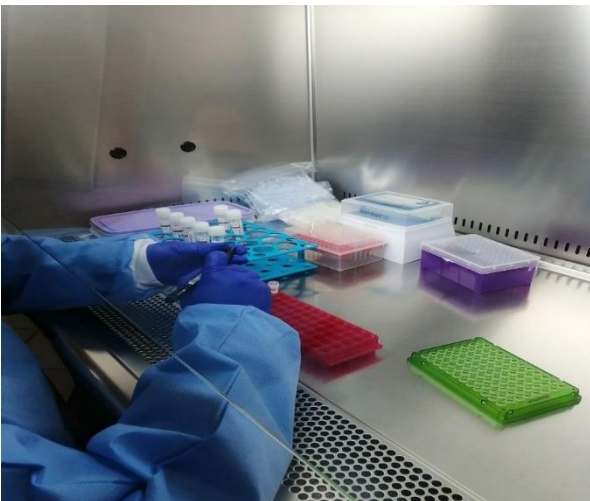
- 1 · Transfer all the mixture (≤750µL) to spin column. Centrifuge the mixture at 12,000× g for 1 minute. Discard flow-through.
- 2 · Add 500µL PW buffer to the Spin column. Centrifuge the spin column at 12,000×g for 1 minute. Discard flow-through.
- 3 · Add 500µL Wash buffer to the spin column. Centrifuge at 12,000 ×g for 1 minute. Discard flow-through. Take the spin column back to the tube.
- 4 · Repeat step 3
- 5 · Centrifuge the spin column at 12,000 ×g for 2 minute.
- 6 · Place the spin column in a new 1.5 or 2.0mL micro centrifuge tube. Add 30-100µL of the Elution Buffer. Incubate at room temperature for 2 minutes. Centrifuge the mixture at 10,000×g for 1 minute. The DNA in the collection tube is ready for further analysis. If the isolated DNA sample is not going to be tested on the same day, freeze it at -20°C.

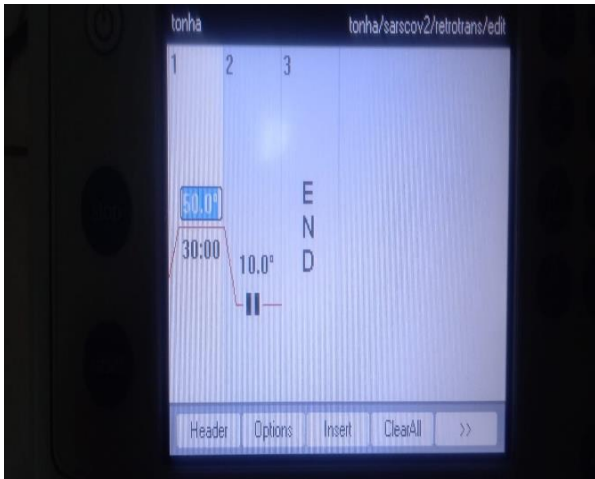
ANEXO N°08

Toma de muestra

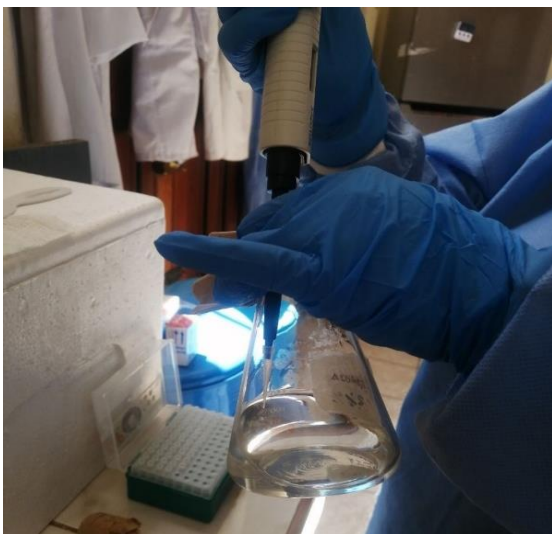


Procesamiento de muestras

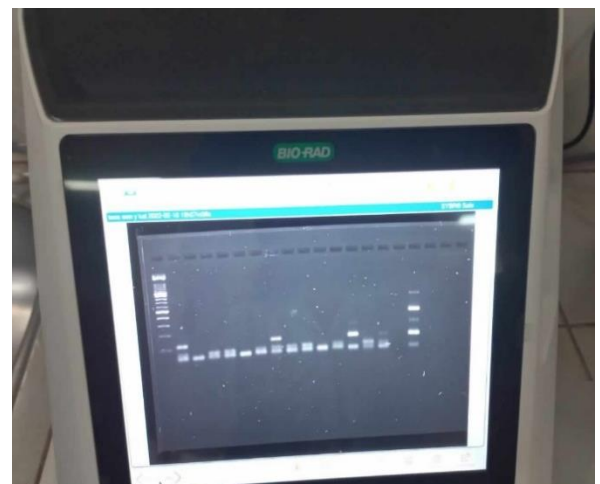
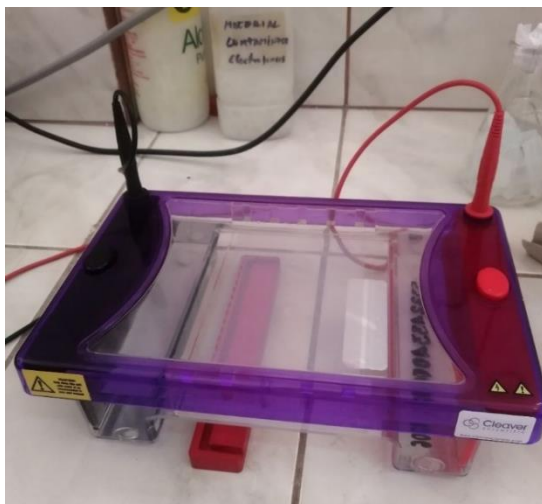
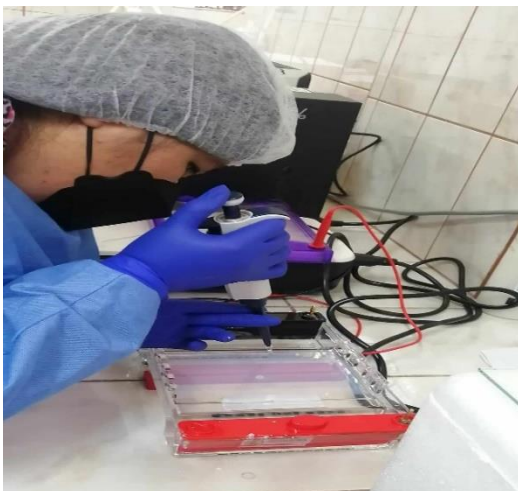
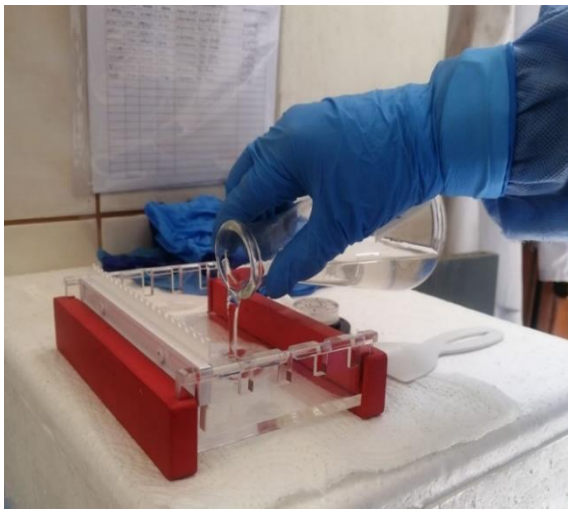




Preparación de Gel Agarosa



Electrophoresis



Anexo N° 09

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES								
Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Dimensión	Indicadores	ITEMS/ Análisis			
Variable Dependiente: Detección del SARS-CoV-2 (positivo/negativo)	Proceso de identificar y confirmar la presencia o ausencia del virus SARS-CoV-2 en estudiantes de Biología postvacunados utilizando una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) Semi-nested multiplex.	Resultados de las pruebas PCR Semi-nested realizadas a estudiantes, incluyendo la presencia o ausencia del virus y la carga viral.	Estado de infección por SARS-CoV-2 en los estudiantes de la Escuela Profesional de Biología postvacunados.	Resultado de PCR Semi-nested: Positivo o negativo para la presencia del virus.	Resultados detallados de las pruebas PCR Semi-nested.			
Variable Independiente: Estudiantes de la facultad de Biología Postvacunados	Son aquellos individuos que están matriculados en una carrera universitaria en el campo de la Biología y que han completado el esquema de vacunación contra el SARS-CoV-2.	50 estudiantes de la facultad de biología con características sociodemográficas y epidemiológicas que han recibido al menos tres dosis de la vacuna contra la COVID-19, datos recopilados a través de la ficha de investigación clínico-epidemiológica de Covid-19, modificada a partir del formato de la directiva sanitaria N° 135-MINSA.	a. Datos sociodemográficos	Edad	<ul style="list-style-type: none"> • 18 a 30 años 			
				Sexo	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Femenino ▪ Masculino 			
				Lugar de alimentación	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Casa ▪ Comedor ▪ Restaurante 			
				Lugar de procedencia	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Abancay ▪ Andahuaylas ▪ Anta ▪ Canchis ▪ Cusco ▪ Callao ▪ Espinar ▪ La convención ▪ Paucartambo ▪ Tambopata ▪ Urubamba 			
				Medios de transporte	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Transporte urbano ▪ Particular 			
				Personas con las que vive	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Solo ▪ Familia 			
				Síntomas relacionados con la COVID-19	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dolor de garganta ▪ Congestión nasal ▪ Dificultad respiratoria ▪ Fiebre ▪ Malestar general ▪ Flema ▪ Mialgia ▪ Dolor de pecho ▪ Cefalea 			
				Comorbilidades	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Si ▪ No 			
				Tipo de vacunas recibidas	<ul style="list-style-type: none"> ▪ AstraZeneca ▪ Moderna ▪ Pfizer ▪ Sinopharm 			
				Número de dosis de vacunas aplicadas	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 3 dosis ▪ 4 dosis 			
			Última dosis de vacuna aplicada	<ul style="list-style-type: none"> ▪ AstraZeneca ▪ Moderna ▪ Pfizer ▪ Sinopharm 				
			Molestias postvacuna	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diarrea ▪ Cefalea ▪ Dolor de brazo ▪ Parestesis ▪ Dolor de espalda ▪ Mialgia ▪ Fiebre ▪ Escalofríos 				
			Tiempo transcurrido desde la última dosis de vacuna recibida	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Desde as 8 a 48 semanas 				
			Reinfección	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Si ▪ No 				
			Uso de mascarilla	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nunca ▪ Siempre ▪ Casi siempre 				
			Lavado de manos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nunca ▪ Siempre ▪ Casi siempre 				
			Aforo en las aulas de la UNSAAC	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 8 - 15 alumnos ▪ 30 - 45 alumnos ▪ 45 - 60 alumnos 				
			Contacto con personas positivas a Covid-19	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Si ▪ No/ desconocido 				
						b. Datos epidemiológicos		

