

EL DIAGNÓSTICO DEL COVID-19 Y EL PAPEL DE LA SALIVA

Autores:

Perla Margarita Pacheco Morffi ¹, José Danilo Pacheco González ², Wendy Domínguez Morales ³

¹ Estudiante de cuarto año de la carrera de Estomatología. FCM Raúl Dorticós Torrado. Cienfuegos. Cuba. Email: perl@nauta.cu

² Especialista en I Grado en Medicina Interna, en II Grado en Medicina General Integral. Profesor Asistente. FCM Raúl Dorticós Torrado. Cienfuegos. Cuba.

³ Estudiante de quinto año de la carrera de Medicina. FCM Raúl Dorticós Torrado. Cienfuegos. Cuba.

Resumen

Introducción: El nuevo coronavirus SARS-CoV-2, es el agente etiológico de la enfermedad por coronavirus de 2019 (COVID-19), convertida rápidamente en una emergencia sanitaria y una crisis de salud pública en los países afectados a lo largo de los cinco continentes. Objetivos: describir algunas consideraciones sobre el diagnóstico del Covid-19 y el papel de la saliva en el mismo. Resultados y discusión: El diagnóstico molecular, la historia clínica, las manifestaciones clínicas, los hallazgos de laboratorio y los imagenológicos, y la prueba viral del ácido nucleico, el diagnóstico serológico, el sistema CRISPR/Cas13 y la técnica SHERLOCK son elementos todos del arsenal diagnóstico de esta infección. Conclusiones: Estos elementos son imprescindibles para el trabajo de los profesionales en salud, ya que generar y conocer medidas de identificación diagnóstica, son pilares esenciales, en el intento de mitigar una mayor propagación de esta infección.

Palabras claves: Covid-19, Diagnóstico, Saliva.

Introducción

Los coronavirus son virus ARN monocatenarios positivos pertenecientes a la familia Coronaviridae. Las infecciones humanas CoV son causadas por α - and β -CoVs. Se han descrito siete coronavirus con potencial de infección del ser humano, tres de ellos son patógenos con capacidad de causar cuadros respiratorios graves: los SARS coronavirus (SARS-CoV) y MERS coronavirus (MERS-CoV). El MERS-CoV (coronavirus del Síndrome Respiratorio del Medio Oriente), el SARS-CoV (coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo), y el SARS-CoV-2, (coronavirus que causa la enfermedad por coronavirus del 2019, o COVID-19) son miembros de la familia de los β -CoVs. ¹⁻⁸

El brote inicial en un mercado local de mariscos en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, en China a finales de diciembre del 2019, se ha extendido mundialmente, representando el mayor desafío sanitario en varias décadas, por lo que ha sido calificada por la OMS como una pandemia global desde el 11 de marzo del 2020. ^{1, 3, 4, 6, 9-13}

El 8 de enero del 2020, este nuevo coronavirus fue oficialmente anunciado como el patógeno causante de la COVID-19, por el centro chino para el control y prevención de la enfermedad (CDC, por sus siglas en inglés). ⁵

Inicialmente, se cree en el origen animal, y más tarde se demuestra la transmisión posible de persona a persona. El 21 de enero del 2020, el COVID-19 fue clasificado en la categoría B de las enfermedades infecciosas de alta prioridad. El 30 de enero, la OMS declara el brote como una Emergencia de Salud Pública de Interés Internacional (PHEIC, por sus siglas en inglés). ^{5, 9, 10}

En febrero del 2020, el COVID-19 había sido reconocido en 34 países, con un total aproximado de 81,000 casos confirmados y un total de 2,700 muertes. ^{5, 7}

En marzo del 2020, la OMS reportaba que esta infección se diseminó sobre alrededor de 100 países y causó más de 100,000 infecciones y más de 3500 muertes. En esos momentos el ritmo de mortalidad era incierto, pero estimable entre el 0.9%–3%. ¹⁴

En mayo del 2020, aproximadamente 3.5 millones de casos y 250,000 muertes alrededor del mundo fueron verificadas. ^{3, 15}

La potencial exposición al virus ha generado que la transmisibilidad del SARSCoV-2 haya variado desde su aparición, hasta este momento en que continúa la propagación a los países de Europa, América y África, con una posibilidad de

contagio por cada enfermo mayor de 3 y menor de 5 personas sanas, dependiendo de las costumbres de interacción social y su medio cultural.^{10, 15}

La tasa total de casos globales fuera de China es de aproximadamente el 4.5%. Los cinco países con los más altos acumulados confirmados de casos en el mundo eran China, Italia, EE.UU., España, y Alemania.⁴

Generar y conocer las medidas de prevención, identificación y gestión, son pilares esenciales para cualquier profesional de salud en el intento de mitigar una mayor propagación de esta infección.¹⁶

Objetivos

Describir algunos parámetros para el diagnóstico de la Covid-19, y el papel de la saliva en el mismo.

Resultados y discusión

La aproximación al diagnóstico del Covid-19, es todavía muy variable de región a región y de país a país. Un camino clínico para implementar la estrategia diagnóstica más eficaz y pertinente es de gran importancia para establecer el control de la infección.⁹

Actualmente, es posible predecir el pronóstico utilizando síntomas, signos, y hallazgos imagenológicos, pero hay retos todavía en el camino. Los síntomas y signos, y los hallazgos imagenológicos, son a menudo vistos más tarde en el curso de la enfermedad, por lo que la detección temprana puede ser difícil.⁹

La combinación de la historia clínica, las manifestaciones clínicas, la TC de tórax, y la prueba viral, tiene una alta sensibilidad (92–97%). Globalmente, el diagnóstico temprano de esta infección es todavía un reto importante.^{2, 4, 5, 8, 9, 12, 17}

El ensayo del ácido nucleico, el secuenciamiento del gen, y el examen serológico (IgM y IgG), frotis de garganta o muestras de sangre han sido desarrolladas para establecer un diagnóstico patológico.⁹

Prueba del ácido nucleico

Posterior al brote inicial, muchas empresas de biotecnología exitosamente han desarrollado kits de detección del ácido nucleico, y el centro chino de Administración de Comida y de Droga (CFDA, por sus siglas en inglés) ha urgentemente aprobado un lote de kits cuantitativos fluorescentes y sistemas de secuenciamiento genéticos. La preocupación principal relacionada a la prueba del ácido nucleico estuvo

relacionada a los falsos negativos. Para solucionar el problema de la baja eficacia de detección, algunas mejoradas pruebas rápidas de diagnóstico del ácido nucleico viral han sido inventadas. Particularmente, un papel de prueba del ácido nucleico, utilizado para la detección rápida del SARS-CoV-2 con una observación ocular desnuda en el lapso de tres minutos, ha sido exitosamente desarrollado.^{2, 4, 8, 12}

Diagnóstico serológico

Las pruebas serológicas, actualmente están todavía en desarrollo, debido a la carencia de sensibilidad de un determinado número de pruebas, y de forma más importante, el retraso desde el tiempo en que se produce la infección hasta el desarrollo de anticuerpos. Estas pruebas, en cambio, pueden servir como herramienta útil para el análisis basado en la población, con propósitos epidemiológicos, mientras la prueba RT-PCR permanece como la mejor metodología para detectar las infecciones agudas.^{3, 4}

Las pruebas serológicas han sido usadas para diagnosticar infecciones con el SARS-CoV y el MERS-CoV, pero no son útiles en la fase aguda de la infección. Otra desventaja observada es la reactividad cruzada entre anticuerpos contra el SARS-CoV, y los CoVs.¹⁴

Los pacientes con SARS-CoV-2 poseen respuestas agudas serológicas. Combinado con inmunocromatografía, oro coloidal, y otras tecnologías, importantes reactivos de detección han sido desarrollados rápidamente.^{2, 4, 5, 8, 12}

Hallazgos de laboratorio

En la fase temprana, la cuenta de glóbulos blancos es normal o disminuida, con una cuenta linfocitaria disminuida. Si la cuenta de linfocitos absoluta es $<0.8 \times 10^9/L$ o el conteo de células T CD4+ y CD8+ son significativamente disminuidos, esto requiere atención extrema. Es generalmente recomendado comprobar los cambios de sangre rutinarios después de 3 días. Los factores inflamatorios son a menudo aumentados en los pacientes severos y críticos.^{6, 14}

Los hallazgos de laboratorio incluyen trombocitopenia, leucopenia, linfopenia y eosinopenia, según el caso y los últimos citados son los hallazgos de laboratorio primarios. Los dímeros D, procalcitonina, y los niveles CRP elevados pueden correlacionarse con mayor severidad de la enfermedad. Existen cambios en la albúmina, la deshidrogenasa láctica (DHL), los neutrófilos, y la proteína C reactiva (CRP) fueron vistos en las infecciones por SARS-CoV-2.^{3, 4, 6, 7, 9, 11, 13-15}

El SARS-CoV-2 puede principalmente atacar a los linfocitos, particularmente los linfocitos T, al igual que el SARS-CoV hace. Las partículas del virus infectan las células, induciendo una tormenta de citoquinas en el cuerpo, generando una serie de respuestas inmunes, y causando cambios en los glóbulos blancos periféricos y células inmunes. Consiguientemente, el bajo valor absoluto de los linfocitos puede ser utilizado como índice de referencia en el diagnóstico o para clasificar la severidad de las infecciones. ⁹

Los biomarcadores potenciales para la severidad —niveles significativamente más altos del D-dímero, CRP, y procalcitonina- fueron asociados con una mayor severidad de la enfermedad. Un estudio informó que el tiempo de protrombina y los niveles de los dímeros D en la admisión eran más altos en la unidad de cuidados intensivos (UCI), que en los pacientes fuera de la UCI. Las concentraciones en el plasma de IL-2, IL-7, IL-10, y TNF- α era más altas en los pacientes de la UCI. ⁹

Los pacientes que requieren admisión en la UCI tienen niveles más altos de factores estimulantes de colonias de granulocitos en el suero, factores estimulantes de colonias de macrófagos-granulocitos, proteína-10 interferon-inducible, proteína-1 quimiotáctica de monocitos, proteína-1A inflamatoria de macrófagos, factor de necrosis tumoral (TNF)- α , más allá sugiriendo que la "intensidad" de la "tormenta de citoquinas" modula la severidad de la enfermedad. ¹⁵

Diagnóstico Molecular

Real-time reverse transcription PCR (RT-PCR) Transcripción inversa en tiempo real

El diagnóstico definitivo se realiza identificando la presencia del ARN viral del SARS-CoV-2, mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR, del inglés Real Time Reverse – Transcriptase – Polymerase – Chain – Reaction), la cual utiliza muestras provenientes tanto del tracto respiratorio superior (nasofaríngeo y orofaríngeo), como del tracto respiratorio inferior (esputo, aspirado endotraqueal o lavado broncoalveolar). Sin embargo, esta prueba ha mostrado problemas con la frecuencia de falsos negativos en las etapas tempranas de la enfermedad. Por tal razón, el diagnóstico y el aislamiento de muchos casos sospechosos hasta tanto no se tenga un análisis confirmatorio de la enfermedad, se apoya tanto en los signos clínicos como en la evidencia proveniente de los rayos X y las tomografías axiales computarizadas (TAC) de los pulmones, para identificar las lesiones asociadas a el COVID-19. ^{2-5, 8, 9, 12, 14, 15, 18-20}

Las muestras de sospechosos de pacientes SARS-CoV-2 recogidas de la vía respiratoria superior (nasofaríngea y orofaríngea), vía respiratoria inferior (esputo expectorado, aspirado endotraqueal o lavado bronqueoalveolar), la sangre y las heces, pueden ser diagnosticadas por RT-PCR. Las dos regiones de secuencia (ORF1b y N) diseñadas basadas en la primera secuencia de acceso público en GenBank, han sido seleccionadas para primers y diseños de sonda, los cuales son altamente conservados entre Sarbecovirus. El ensayo del gen N es 10 veces más sensible que el ensayo del gen ORF1b, en detectar especímenes clínicos positivos.⁶

Los métodos existentes de PCR tienen especificidad muy buena, pero sensibilidad baja, significando este dato que los resultados negativos no pueden excluir la presencia de SARS-CoV-2. Además, la contaminación de las muestras del laboratorio, causada por la carencia de control, puede dirigir la confirmación de falsos resultados positivos. Además, las pruebas RT-PCR pueden ser falsamente negativas debido a insuficientes materiales virales, o errores operacionales. Algunos pacientes con resultados negativos en el RT-PCR pueden presentar hallazgos positivos al realizarse la CT para detectar la COVID-19, significando esto que los resultados al PCR pueden ayudar a la evaluación y el diagnóstico clínico pero la posibilidad de la enfermedad no puede ser confirmada o descartada. Para el individuo con una sospecha clínica alta pero negativa al RT-PCR, una combinación del escaneo con CT y pruebas de frotis repetidos pueden ser útiles.⁶

Técnica SHERLOCK

La técnica CRISPR-based SHERLOCK (Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter UNLOCKing) permite una detección portátil, múltiple y ultrasensible de ARN o ADN de muestras clínicamente pertinentes. Estos ensayos están conformados con pre-amplificación recombinada mediada por polimerasa del ADN o ARN y proporcionan resultados en menos de 1 hora, sin requerir instrumentación elaborada, pero aún necesitan ser confirmados con muestras de pacientes.⁶

Basado en la secuencia de ARN del nuevo coronavirus, los investigadores cuidadosamente diseñaron dos guías RNAs, uno reconociendo el gen S del nuevo coronavirus y el otro reconociendo el gen Orf1ab. Para maximizar la exactitud de la detección, los científicos han seleccionado secuencias que son más específicas para el nuevo coronavirus. De este modo, la interferencia de otros genomas de virus respiratorios también puede ser minimizada. Teóricamente, mientras el ARN corresponde al nuevo coronavirus en la muestra, el ARN de guía con exactitud puede

reconocer y activar la proteína Cas13a para unirse a ella. Es una enzima muy interesante; una vez activada la Cas13a, indiscriminada e intensamente corta cualquier otra molécula de ARN que encuentre.⁶

Sistema CRISPR/Cas13

El Cas13-based SHERLOCK ("specific high-sensitivity enzymatic reporter unlocking"), es una plataforma que ha sido ampliamente utilizada para detectar el virus del Zika (ZIKV) y el virus del dengue (DENV) en muestras de pacientes en concentraciones tan bajas como 1 copia por microlitro. Recientemente, esta tecnología ha sido usada para detectar el virus del SARS-CoV-2. Aun así, este sistema tiene que ser verificado porque no ha sido probado en muestras clínicas de pacientes de COVID-19.^{2, 4, 5, 8, 12}

Diagnósticos salivales del Covid-19

De manera general, las muestras apropiadas incluyen las vías aéreas superiores e inferiores, la sangre, las heces, la orina, y las secreciones conjuntivales.^{3, 21}

La utilización de la saliva como una muestra viable para la detección de la COVID-19, es una fuente robusta debido a la extracción del RNA viral.¹⁹

La saliva es un espécimen prometedor para el diagnóstico y monitoreo de la infección del virus SARS-CoV-2. Los virus han sido detectados en estudios mediante RT-qPCR y en la saliva auto-recolectada, mostrando altas cargas virales en la primera semana después del inicio de los síntomas.^{2, 16, 17, 19, 22}

Aunque la Covid-19, es diagnosticada como una enfermedad respiratoria, se puede constatar la excreción viral en las heces, y en la saliva. El ARN viral puede persistir en las heces incluso después de la mejora de los síntomas respiratorios, de 2 a 4 semanas.^{10, 21, 22}

Teóricamente, el diagnóstico puede establecerse por las plataformas de diagnóstico salivales. Algunos virus han sido identificados 29 días después de la infección, sugiriendo que una plataforma no invasiva para diferenciar los biomarcadores usando la saliva, puede incrementar la detección de la enfermedad.^{17, 19, 20}

La saliva tiene un alto margen de consistencia, de más del 90%, con especímenes nasofaríngeos en la detección de los virus respiratorios, incluyendo los coronavirus.

¹⁹

El diagnóstico de las infecciones virales en la saliva depende de los biomarcadores, tales como el ADN y el ARN virales, antígenos y anticuerpos. El instituto científico Raffaele en Milán, usa un test llamado prueba salival de anticuerpos de la hepatitis C OraQuick®. El dengue tiene antígenos detectables en la saliva, y la IgM y la IgG,

proveen una forma efectiva para diagnosticar esta enfermedad, con sensibilidad del 92% y especificidad del 100%. Hay estudios que afirman que la saliva parece más sensible que la sangre para la detección de otros virus como son el HHV-6 o el CMVH. Las pruebas salivales usando una reacción en cadena de la polimerasa, para la detección del HPV han sido establecidas.¹⁹

El desarrollo de la Inmunoglobulina A secretoria específica del SARS-CoV (SIgA) en la saliva de los modelos animales, ha sido demostrada previamente. Tomando en cuenta la similaridad entre ambas cadenas, el diagnóstico salival del COVID-19 puede ser logrado usando anticuerpos específicos contra este virus. Como resultado, la saliva juega un rol crucial en la transmisión de humano a humano, y los diagnósticos salivales pueden crear una plataforma efectiva y simple para el diagnóstico definitivo.¹⁷

Uno de los mecanismos más importantes para el desarrollo del síndrome de dificultad respiratoria aguda en esta enfermedad, es la "tormenta de citoquinas", liberando larga cantidad de citoquinas pro-inflamatorias (IFN- α , IFN- γ , IL-1b, IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF- β , etc.) y quimioquinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, etc.).¹⁹

Este incremento en las citoquinas proinflamatorias en pulmón y otros órganos de pacientes con SARS, y el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica proporciona un mecanismo potencial para la falla multiorgánica.²³

Hallazgos imagenológicos

Los hallazgos imagenológicos de la COVID-19 pueden ser variables y cambiar rápidamente. Los exámenes radiológicos son importantes para detección temprana, control, y evaluación de la COVID-19. Normalmente no hay ningún hallazgo anormal en la fase temprana con radiografía digital (DR). Los pacientes con enfermedad confirmada por laboratorio sin manifestaciones radiológicas también han sido reportados.⁹

La radiografía de tórax y las tomografías computarizadas (TC) de tórax son herramientas importantes para el diagnóstico de la COVID-19 en la práctica clínica. La Inteligencia artificial (IA) ha sido usada con exactitud para interpretar las imágenes de las TC de los casos sospechosos de los coronavirus y la tasa de exactitud de los resultados de su análisis logra un 96%, mejorando por mucho la eficacia diagnóstica de los hallazgos imagenológicos. Esta técnica ya está siendo utilizada en la práctica clínica.^{2, 4, 5, 8, 12, 17}

La tomografía computarizada de tórax (TC) anormal ha sido usada para diagnosticar la mayoría de los casos de COVID-19, indicando que la neumonía es la manifestación más común de la enfermedad. Por tanto, estas imágenes son ampliamente utilizadas en el diagnóstico temprano, aunque la TC no puede distinguir la COVID-19 de otras neumonías virales. Los hallazgos típicos incluyen opacidades multifocales en vidrio esmerilado distribuidas periféricamente (GGOs, por sus siglas en inglés) con consolidaciones irregulares. Números crecientes, alcance, y densidad de GGOs en las TC, se correlacionan con la progresión de la enfermedad.^{2, 4, 5, 6, 8, 9, 12, 15, 17}

Conclusiones

Los criterios diagnósticos del Covid-19 han evolucionado tanto más nueva información aparece. El diagnóstico molecular a través de la prueba RT-PCR brinda el diagnóstico definitivo. La historia clínica, las manifestaciones clínicas, los hallazgos de laboratorio y los imagenológicos (como la TC de tórax), y la prueba viral del ácido nucleico, son parte del arsenal complementario con el que cuenta el profesional para identificar la infección. El diagnóstico serológico, el uso del sistema CRISPR/Cas13 y la técnica SHERLOCK también son utilizados en este sentido.

Los diagnósticos gracias a la saliva permiten, de manera ventajosa y eficaz, la detección del ARN viral, antígenos y anticuerpos. Su conocimiento es un pilar esencial para los profesionales en salud, especialmente para los estomatólogos.

Estos elementos son imprescindibles para el trabajo de los profesionales en salud, ya que generar y conocer medidas de identificación diagnóstica, son pilares esenciales, en el intento de mitigar una mayor propagación de esta infección.

Bibliografía

1. Martí Sánchez D, Fernández Pascual C, Felix Marschall A, Delgado Calva FA, Estébanez Muñoz M, Álvarez Antón S. Aspectos cardiológicos relevantes en la infección COVID-19. RIECS 2020, 5. Disponible en: <https://doi.org/10.37536/RIECS.2020.5.1.203>
2. Peng, X., Xu, X., Li, Y., Cheng, L., Zhou, X., & Ren, B. Transmission routes of 2019-nCoV and controls in dental practice. International journal of oral science. 2020. 12(1), 9. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0075-9>

3. Dingemans, A. C., Soo, R. A., Jazieh, A. R., Rice, S. J., Kim, Y. T., Teo, L., *et al.* Treatment Guidance for Patients With Lung Cancer During the Coronavirus 2019 Pandemic. *Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, S1556-0864(20)30382-8. 2020. Advance online publication. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.05.001>
4. Jin, Y., Yang, H., Ji, W., Wu, W., Chen, S., Zhang, W., & Duan, G. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*. 2020.12(4), 372. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/v12040372>
5. Meng, L., Hua, F., & Bian, Z. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Emerging and Future Challenges for Dental and Oral Medicine. *Journal of dental research*. 2020. 99(5), 481–487. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0022034520914246>
6. Kang, S., Peng, W., Zhu, Y., Lu, S., Zhou, M., Lin, W., *et al.* Recent progress in understanding 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) associated with human respiratory disease: detection, mechanisms and treatment. *International journal of antimicrobial agents*. 2020. 55(5), 105950. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105950>
7. Xiao, A. T., Tong, Y. X., Gao, C., Zhu, L., Zhang, Y. J., & Zhang, S. Dynamic profile of RT-PCR findings from 301 COVID-19 patients in Wuhan, China: A descriptive study. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2020. 127, 104346. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104346>
8. Wu, C., Zhang, Z., Mo, Y., Wang, D., Ning, B., Xu, P., *et al.* Recommendations for control and prevention of infections for pediatric orthopedics during the epidemic period of COVID-19. *World Journal of Pediatric Surgery*. 2020. 3(1), e000124. Disponible en: <https://doi.org/10.1136/wjps-2020-000124>
9. Xu, G., Yang, Y., Du, Y., Peng, F., Hu, P., Wang, R., *et al.* Clinical Pathway for Early Diagnosis of COVID-19: Updates from Experience to Evidence-Based Practice. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 1–12. 2020. Advance online publication. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12016-020-08792-8>

10. She, J., Liu, L., & Liu, W. COVID-19 epidemic: Disease characteristics in children. *Journal of medical virology*, 10.1002/jmv.25807. 2020. Advance online publication. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jmv.25807>
11. Wang, D., Yin, Y., Hu, C., Liu, X., Zhang, X., Zhou, *et al.* Clinical course and outcome of 107 patients infected with the novel coronavirus, SARS-CoV-2, discharged from two hospitals in Wuhan, China. *Critical care* (London, England). 2020. 24(1), 188. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02895-6>
12. He, F., Deng, Y., & Li, W. Coronavirus disease 2019: What we know? *Journal of medical virology*, 10.1002/jmv.25766. 2020. Advance online publication. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jmv.25766>
13. Rameshrad, M., Ghafoori, M., Mohammadpour, A. H., Nayeri, M., & Hosseinzadeh, H. A comprehensive review on drug repositioning against coronavirus disease 2019 (COVID19). *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 1–16. 2020. Advance online publication. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01901-6>
14. Zimmermann, P., & Curtis, N. Coronavirus Infections in Children Including COVID-19: An Overview of the Epidemiology, Clinical Features, Diagnosis, Treatment and Prevention Options in Children. *The Pediatric infectious disease journal*. 2020. 39(5), 355–368. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000002660>
15. Boukhris, M., Hillani, A., Moroni, F., Annabi, M. S., Addad, F., Ribeiro, M. H. (2020). Cardiovascular implications of the COVID-19 pandemic: a global perspective. *The Canadian journal of cardiology*, 10.1016/j.cjca.2020.05.018. 2020. Advance online publication. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.05.018>
16. Sigua-Rodríguez, E.A.; Bernal-Pérez, J.L.; Lanata-Flores, A.G.; Sánchez-Romero, C.; Rodríguez-Chessa, J.; Haidar, Z. S.; *et al.* COVID-19 y la Odontología: una Revisión de las recomendaciones y perspectivas para Latinoamérica. *Int. J. Odontostomat.* 2020. 14(3):299-309
17. Baghizadeh Fini M. What dentists need to know about COVID-19. *Oral oncology*. 2020. 105, 104741. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2020.104741>

18. Pérez-Domínguez, M., Pérez-Ybarra L. SARS-CoV-2 en saliva: potencial vía de contagio e implicaciones en el tratamiento del paciente odontológico. *Odous Científica*. 2020; 21(1): 77-88
19. Sri Santosh, T., Parmar, R., Anand, H., Srikanth, K., & Saritha, M. A Review of Salivary Diagnostics and Its Potential Implication in Detection of Covid-19. *Cureus*. 2020. 12(4), e7708. Disponible en: <https://doi.org/10.7759/cureus.7708>
20. Alharbi, A., Alharbi, S., & Alqaidi, S. Guidelines for dental care provision during the COVID-19 pandemic. *The Saudi dental journal*. 2020. 32(4), 181–186. Advance online publication. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2020.04.001>
21. Mao, R., Qiu, Y., He, J. S., Tan, J. Y., Li, X. H., Liang, J., *et al*. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*. 2020. 10.1016/S2468-1253(20)30126-6. Advance online publication. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30126-6](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30126-6)
22. Manus J. M. Symptômes gastro-intestinaux initiaux, autres signes de Covid-19. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2020. (522), 16–17. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30153-2](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30153-2)
23. Barbagelata A, Perna ER, Piskorz D, Lorenzatti A. Prevención del colapso del sistema de salud en pacientes cardiovasculares con Covid-19: el rol del cardiólogo en la reducción de la sobrecarga de las unidades de cuidados intensivos con el advenimiento del frío en América del Sur. *Rev Fed Arg Cardiol*. 2020; 49 (Reporte COVID19): 4-12.