

Pruebas Diagnósticas para la infección por SARS-CoV-2

José Luis Castillo-Álvarez¹, Luis Enrique Soto-Ramírez (@lesoram)²

¹Médico Pasante de Servicio Social. Departamento de Infectología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

²Investigador en Ciencias Médicas. Departamento de Infectología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Introducción

La pandemia de COVID-19 muestra el papel esencial del diagnóstico oportuno en el control de enfermedades transmisibles, como se observó en el despliegue temprano y masivo para la búsqueda de casos que ayudó a frenar la epidemia en varios países.

Actualmente, hay dos tipos de pruebas de diagnóstico disponibles para la detección de SARS-CoV-2: pruebas moleculares y pruebas serológicas.

La detección molecular de secuencias de ácido nucleico (ARN o ADN) relacionadas con el patógeno sospechoso es indicativa únicamente de la presencia de secuencias genéticas del agente pero no de su viabilidad, ni de su infectividad.

Las pruebas serológicas detectan anticuerpos contra el posible patógeno, que son producidos por el sistema inmune de un individuo en respuesta a una infección activa por el mismo.

Es necesario comprender los detalles operacionales de las pruebas para saber interpretarlas en el contexto clínico adecuado, de forma que el manejo del paciente sea de la mejor manera.

Pruebas moleculares

Una muestra de hisopado nasofaríngeo es la opción preferida para las pruebas de SARS-CoV-2, pero también son aceptables las muestras orofaríngeas, de turbinas medias o nasales anteriores.¹

Con objeto de aumentar la sensibilidad de la prueba, se recomienda tomar al mismo tiempo el hisopado nasofaríngeo y faríngeo, ambos colocados en el mismo medio de transporte. Las muestras deben obtenerse utilizando un hisopo especial que raspe y absorba el material contactado, para mejorar la recolección y liberación de material celular, y se recomienda evitar hisopos que contienen alginato de calcio, madera o algodón, ya que pueden contener sus-

tancias que inhiben las pruebas de PCR (por sus siglas en inglés, Reacción en Cadena de la Polimerasa). Idealmente, los hisopos deben transferirse al medio de transporte universal inmediatamente después de la recolección de la muestra para preservar el ácido nucleico viral.

Las muestras tomadas de esputo, aspirados endotraqueales y lavado bronco-alveolar también pueden enviarse directamente al laboratorio de microbiología para su procesamiento, y pueden tener una mayor sensibilidad que las muestras del tracto respiratorio superior.² La recolección inadecuada de la muestra puede resultar en una prueba con resultado falso negativo. Después de la recolección de muestras, las muestras se someten a extracción de ARN seguido de RT-PCR cualitativa en tiempo real para la detección del mismo.

El kit utilizado en Estados Unidos contiene conjuntos de cebador-sonda de PCR para 2 regiones del gen de la nucleocápside viral (N1 y N2), y para el gen de la RNasaP humana. Este ensayo difiere de los conjuntos de sonda-cebador de la Organización Mundial de la Salud, que se dirigen a los genes de la ARN polimerasa (RdRP), la envoltura (E) y la nucleocápside (N) del SARS-CoV-2, en el protocolo originalmente denominado Berlín.³

Ambos ensayos tienen una alta sensibilidad analítica y especificidad para el SARS-CoV-2, con una reactividad cruzada mínima (pero no imposible) con otras cepas circulares de coronavirus, y ambos utilizan un umbral de ciclo de menos de 37-40 como criterio de positividad. La falta de un estándar de referencia establecido, el uso de diferentes métodos de recolección y preparación de muestras y una comprensión incompleta de la dinámica viral a lo largo del tiempo de la infección dificultan la evaluación rigurosa de la precisión diagnóstica de los muchos ensayos de

SARS-CoV-2 recientemente introducidos.⁴

La capacidad de los ensayos de RT-PCR para descartar COVID-19 sobre la base de muestras del tracto respiratorio superior obtenidas en un solo punto de tiempo sigue sin estar clara.

Por el contrario, después de que un paciente haya tenido un resultado positivo en la prueba, varias autoridades han recomendado obtener al menos dos muestras negativas del tracto respiratorio superior, recolectadas a intervalos de 24 horas o más, para documentar la eliminación del SARS-CoV-2.⁵⁻⁶

Esto ha sido reconsiderado ante nueva evidencia, que se desprende del estudio de los casos llamados re-infectados o recurrentes. Se ha demostrado que la prueba de RT-PCR puede permanecer positiva incluso hasta el día 110 después de inicio de síntomas no significando recurrencia. Más aún, se ha demostrado que después del día 10 del inicio de síntomas NO ha sido posible cultivar el virus a pesar de que la prueba molecular siga siendo positiva.⁷

De acuerdo a lo anterior, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), aceptan para regreso a las actividades del equipo de salud que fueron positivos con cuadro leve a moderado y hayan transcurrido 10 días desde el inicio de síntomas, no tengan fiebre y haya mejoría clara (no total) de síntomas.⁸

Es importante considerar que el RT-PCR para SARS-CoV-2 presenta un gran número de resultados falsos negativos, que puede deberse ya sea por la toma de muestra y al tiempo. Considerando a alguien que tuvo contacto con una persona con virus y se infectó, si esta persona se hace la prueba al día siguiente de dicho contacto la prueba siempre será negativa; si se la hace al inicio de síntomas tendrá una posibilidad de 37% de falsas negativas y al octavo día del contacto, aún podrá tener un 21% de falsas negativas, que es el mínimo considerado, lo que nos hace insistir en la importancia de la clínica y los hallazgos radiológicos.⁹

Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas que identifican anticuerpos (como **IgA**, **IgM** e **IgG**) para el SARS-CoV-2 de

muestras clínicas (como sangre o saliva), pueden ser menos complejas que las pruebas moleculares y tienen el potencial de ser utilizadas para el diagnóstico en ciertas situaciones.¹⁰

Sin embargo, su utilidad para diagnosticar infecciones agudas es probablemente limitada en el momento del inicio de los síntomas, cuando el riesgo de transmisión y replicación viral parece ser mayor.¹¹ Aunque como se aprecia en la figura 1, la producción de **IgG** e **IgM** comienza alrededor del octavo o noveno día, no es hasta el día 14 del inicio de síntomas que son claramente detectables. La **IgG** permanece por tiempo prolongado pero aún no se sabe que tanto y tampoco si está asociada a una protección de una reinfección por este virus.

Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2, particularmente entre aquellos con exposición reciente al virus. La reactividad cruzada del anticuerpo contra las proteínas del coronavirus que no son SARS-CoV-2 también es un problema potencial, por lo que los resultados positivos pueden ser el resultado de una infección pasada o presente con otros coronavirus humanos.¹²

Los ensayos serológicos pueden ser más relevantes en escenarios en los que los pacientes acuden por atención médica con complicaciones tardías de la enfermedad y cuando la RT-PCR puede ser falsamente negativa.¹³

El desarrollo de ensayos serológicos que evalúen con precisión la infección previa y la inmunidad al SARS-CoV-2 será esencial para los estudios epidemiológicos, la vigilancia continua, los estudios de vacunas y potencialmente para la evaluación de riesgos de los trabajadores de la salud y cualquier otra persona. Los inmunoensayos ya están en el mercado en algunos países, pero su precisión diagnóstica y uso óptimo permanecen indefinidos.

Pruebas rápidas

Las pruebas de diagnóstico molecular rápidas y de baja complejidad (resultados dentro de una hora), incluyen ensayos basados en plataformas automatizadas.¹⁴

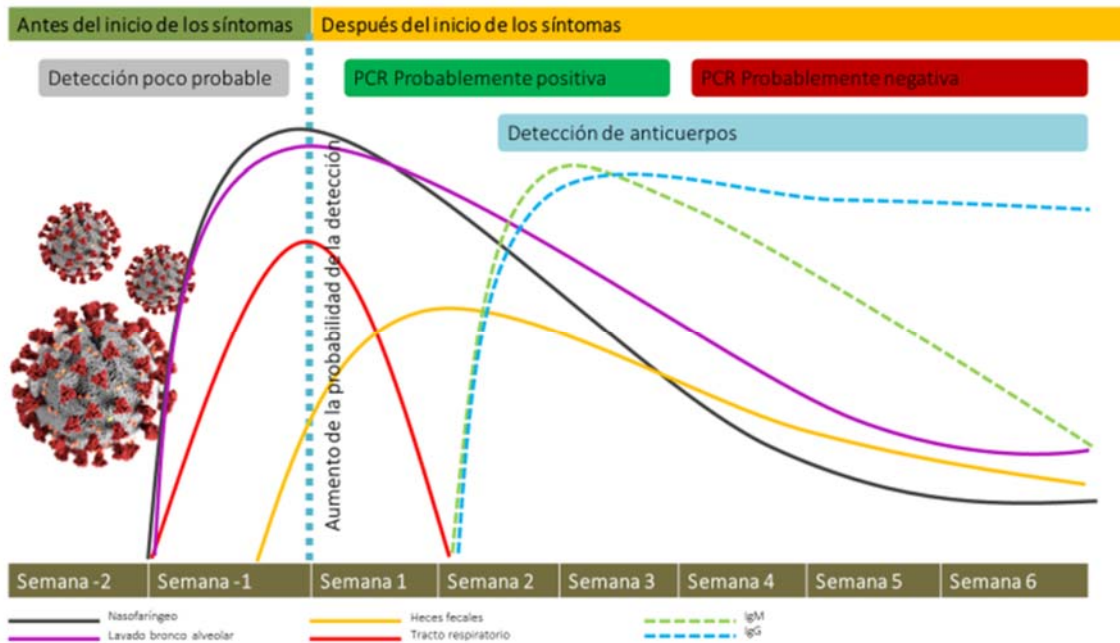
Los análisis rápidos para SARS-CoV-2 en instrumentos como estos serán críticos para ampliar las pruebas en el momento de la presentación clínica. La prueba Xpert Xpress SARS-CoV-2 (Cepheid) recibió el visto bueno en EUA por parte de la FDA (Food and Drug Administration) y se realiza en la plataforma GeneXpert, que ya se usa ampliamente para pruebas de tuberculosis y VIH, especialmente en países de bajos y medianos ingresos. Esta capacidad podría ser útil para ampliar las pruebas en

todo el mundo y tener un mejor manejo epidemiológico de la enfermedad.

Existen también pruebas rápidas para la determinación de anticuerpos por inmunodifusión pero su sensibilidad y especificidad aún no ha sido adecuadamente determinadas.¹⁵

En la tabla 1 se presenta un resumen de la utilidad de las pruebas moleculares y serológicas para el diagnóstico de SARS-CoV-2.

Figura 1: Esquema de la historia natural de la enfermedad y detección por pruebas diagnósticas



Fuente: Elaboración propia de los autores.

Tabla 1: Tipos de ensayo y su uso para el diagnóstico de SARS-CoV-2

		Uso que se le da			
		Cribado en fase de incubación/asintomático	Diagnóstico en enfermedad sintomática	Cribado para <i>shedding</i> viral en fase de convalecencia para tomar decisiones de quitar aislamiento	Vigilancia epidemiológica
Tipo de ensayo	RT-PCR o NAAT en laboratorio	VPN insuficiente/desconocido	Estudio de referencia actual	VPN insuficiente/desconocido	Vigilancia pasiva. VPN insuficiente/desconocido para descubrir casos
	Serología IgM/IgG	Probablemente falso negativo en etapas tempranas	Probablemente falso negativo en etapas tempranas	No correlaciona necesariamente con la actividad de la enfermedad	Ensayos serológicos podrían abordar inmunidad individual y poblacional

Fuente: Elaboración propia de los autores.

Referencias

1. Centers for Disease Control and Prevention. Information for Laboratories about Coronavirus (COVID-19) [Internet]. 2020 [cited 28 May 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
2. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. 2020;.
3. Corman V, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu D et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*. 2020;25(3).
4. Liu Y, Yan L, Wan L, Xiang T, Le A, Liu J et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020;20(6):656-657.
5. European Centre for Disease Prevention and Control. 5. [Internet]. *Ecdc.europa.eu*. 2020 [cited 28 May 2020]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/COVID-19-Discharge-criteria.pdf>.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [cited 28 May 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/disposition-hospitalized-patients.html>.
7. KCDC. [Internet]. *Is.cdc.go.kr*. 2020 [cited 28 May 2020]. Disponible en: https://is.cdc.go.kr/upload_comm/syview/doc.html?fn=158993708884700.pdf&rs=/upload_comm/docu/0030/Centers for Disease Control.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/return-to-work.html>.
9. Kucirka L, Lauer S, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction–Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Annals of Internal Medicine*. 2020;.
10. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases*. 2020;.
11. Al-Tawfiq J. Viral loads of SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2 in respiratory specimens: What have we learned?. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2020;34:101629.
12. Patrick D, Petric M, Skowronski D, Guasparini R, Booth T, Krajdén M et al. An Outbreak of Human Coronavirus OC43 Infection and Serological Cross-Reactivity with SARS Coronavirus. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2006;17(6):330-336.
13. To K, Tsang O, Leung W, Tam A, Wu T, Lung D et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020;20(5):565-574.
14. A. Hogan C, Caya C, Papenburg J. Rapid and simple molecular tests for the detection of respiratory syncytial virus: a review. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2018;18(7):617-629.
15. FIND. SARS-CoV-2 diagnostics: performance data - FIND [Internet]. FIND. 2020 [cited 28 May 2020]. Disponible en: <https://www.finddx.org/covid-19/dx-data/>.