

# Valor de las pruebas diagnósticas para el coronavirus

Dr. Andrés R. Pérez Riera

El conocimiento de las pruebas diagnósticas para el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave 2 (SARS-CoV-2) sigue evolucionando, y una comprensión clara de la naturaleza de las mismas y la interpretación de sus hallazgos es importante. Este punto de vista describe cómo interpretar 2 tipos de pruebas diagnósticas comúnmente en uso para las infecciones SARS-CoV-2: reacción en cadena de polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) y ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas IgM e IgG (ELISA)— y cómo los resultados pueden variar con el tiempo.

## DetECCIÓN DE ARN VIRAL POR RT-PCR

Hasta ahora, la prueba más comúnmente utilizada y confiable para el diagnóstico de COVID-19 ha sido la prueba RT-PCR realizada utilizando hisopado nasofaríngeos u otras muestras del tracto respiratorio superior, incluyendo hisopados de garganta o, más recientemente, saliva. Diferentes fabricantes utilizan una variedad de dianas genéticas de ARN, con la mayoría de las pruebas dirigidas a 1 o más de los genes: envoltura (ENV), nucleocápside (N), espiga (S), RNA polimerasa RNA-dependiente (RdRp) y ORF1. La sensibilidad de las pruebas a genes individuales son comparables según estudios de comparación, excepto la sonda de imprimación RdRp-SARSr (Instituto Charité), que tiene una sensibilidad ligeramente menor probablemente debido a un desajuste en la imprimación inversa.<sup>1</sup> En la mayoría de las personas con infección sintomática COVID-19, el ARN viral medido por el umbral del ciclo ( $C_t$ ) se detecta tan pronto como el primer día de los síntomas y alcanza su punto máximo en la primera semana de aparición de los síntomas. El  $C_t$  es el número de ciclos de replicación necesarios para producir una señal fluorescente, valores de  $C_t$  más bajos representan mayores cargas de ARN viral. Un valor  $C_t$  inferior a 40 se notifica clínicamente como PCR positivo. Esta positividad comienza a disminuir en la semana 3 y posteriormente se vuelve indetectable. Sin embargo, los valores de  $C_t$  obtenidos en pacientes hospitalizados gravemente enfermos son inferiores a los valores  $C_t$  de los casos leves, y la positividad de la PCR puede persistir más allá de las 3 semanas después del inicio de la enfermedad, cuando la mayoría de los casos leves producirán un resultado negativo.<sup>2</sup> Sin embargo, un resultado de PCR "positivo" refleja únicamente la detección de ARN viral y no indica necesariamente la presencia de virus viables.<sup>3</sup> En algunos casos, el ARN viral ha sido detectado por RT-PCR incluso

más allá de la semana 6 después de la primera prueba positiva. Algunos casos también se han reportado positivos después de 2 pruebas de PCR negativas consecutivas realizadas con 24 horas de diferencia. No está claro si se trata de un error de prueba, una reinfección o una reactivación. En un estudio de 9 pacientes, los intentos de aislar el virus en el cultivo no tuvieron éxito más allá del día 8 de la aparición de la enfermedad, que se correlaciona con el declive de la infectividad más allá de la primera semana.<sup>3</sup> Esta es en parte la razón por la que la "estrategia basada en síntomas" de los CDC indica que los trabajadores de la salud pueden volver al trabajo, "si han pasado al menos 3 días (72 horas) desde la recuperación, definida como resolución de la fiebre sin el uso de medicamentos y la mejora de los síntomas respiratorios (por ejemplo, tos, dificultad para respirar); y haber pasado al menos 10 días desde el inicio de los síntomas".<sup>4</sup> La cronología de la positividad de la PCR es diferente en muestras distintas del hisopado nasofaríngeo. La positividad de la PCR disminuye más lentamente en el esputo y todavía puede ser positiva después de que las muestras nasofaríngeas son negativas.<sup>3</sup> En un estudio, se observó **positividad de PCR en heces** en 55 de 96 (57%) pacientes infectados y permanecieron positivos en las heces más allá del hisopado nasofaríngeo por 4 a 11 días, pero no estuvo relacionado con la gravedad clínica.<sup>2</sup> Se constató que la persistencia de la positividad de la PCR en el esputo y las heces era similar, según lo evaluado por Wölfel et al.<sup>3</sup> En un estudio de 205 pacientes con infección confirmada por COVID-19, la positividad RT-PCR fue más alta en muestras de lavado broncoalveolar (93%), seguido de esputo (72%), hisopado nasal (63%) e hisopado faríngeo (32%).<sup>5</sup> Los resultados **falsos negativos** se produjeron principalmente debido al momento inapropiado de la recolección de muestras en relación con el inicio de la enfermedad y la deficiencia en la técnica de muestreo, especialmente de hisopados nasofaríngeos. La especificidad de la mayoría de las pruebas RT-PCR es del 100% porque el diseño de la imprimación es específico de la secuencia del genoma del SARS-CoV-2. Pueden producirse resultados falsos positivos ocasionales debido a errores técnicos y contaminación de reactivos.

### **Detección de anticuerpos contra el SARS-CoV-2**

La infección por COVID-19 también se puede detectar indirectamente midiendo la respuesta inmunitaria del huésped a la infección por SARS-CoV-2. El diagnóstico serológico es especialmente importante para los pacientes con enfermedad leve a moderada que pueden presentarse tarde, más allá de las primeras 2 semanas de inicio de la enfermedad. El **diagnóstico serológico** también se está convirtiendo en una herramienta importante para entender el alcance de COVID-19 en la comunidad e identificar a las personas que son inmunes y potencialmente "protegidas" de infectarse. *El marcador serológico más sensible y más temprano son los anticuerpos totales, cuyos niveles comienzan a aumentar a partir de la segunda semana de inicio de los síntomas.*<sup>6</sup> Aunque se ha encontrado que IgM e IgG por ELISA son positivos incluso el cuarto día después del inicio de los síntomas, los niveles más altos se producen en la segunda y tercera semana de enfermedad. Por ejemplo, la seroconversión de IgM e IgG se produjo en todos los pacientes entre la tercera y la cuarta semana de inicio de la enfermedad clínica medida en 23 pacientes por Los

pacientes To et al<sup>7</sup> y 85 por Xiang et al.<sup>8</sup> A partir de entonces IgM comienza a disminuir y alcanza niveles más bajos en la semana 5 y casi desaparece en la semana 7, mientras que IgG persiste más allá de las 7 semanas.<sup>9</sup> En un estudio de 140 pacientes, la sensibilidad combinada de PCR e IgM por ELISA dirigida al antígeno nucleocápside (N) fue del 98,6% frente al 51,9% con una sola prueba de PCR. Durante los primeros 5,5 días, la PCR cuantitativa tuvo una tasa de positividad más alta que la de IgM, mientras que IgM (ELISA) tuvo una mayor tasa de positividad después del día 5,5 de la enfermedad.<sup>10</sup> Las pruebas de anticuerpos IgM e IgG basadas en ELISA tienen una especificidad superior al 95% para el diagnóstico de COVID-19. Las pruebas de muestras de suero emparejadas con la PCR inicial y la segunda dos semanas más tarde pueden aumentar aún más la precisión del diagnóstico. Típicamente, la mayoría de los anticuerpos se producen contra la proteína más abundante del virus, que es la N. Por lo tanto, las pruebas que detectan anticuerpos contra N serían las más sensibles. Sin embargo, el dominio de unión a receptores de la proteína S (RBD-S) es la proteína de unión del huésped, y los anticuerpos contra la RBD-S serían más específicos y se espera que sean neutralizantes. Por lo tanto, el uso de uno o ambos antígenos para detectar IgG e IgM resultaría en alta sensibilidad.<sup>7</sup> Sin embargo, los anticuerpos pueden tener **reactividad cruzada** con SARS-CoV y posiblemente otros coronavirus. Las **pruebas rápidas** para la detección de anticuerpos han sido ampliamente desarrolladas y comercializadas y son de calidad variable. Muchos fabricantes no revelan la naturaleza de los antígenos utilizados. Estas pruebas son de naturaleza puramente cualitativa y sólo pueden indicar la presencia o ausencia de anticuerpos para SARS-CoV-2. La presencia de **anticuerpos neutralizantes** sólo puede confirmarse mediante una prueba de neutralización por reducción de placas. Sin embargo, se ha demostrado que los altos títulos de anticuerpos IgG detectados por ELISA se correlacionan positivamente con anticuerpos neutralizantes.<sup>7</sup> Se desconoce la persistencia a largo plazo y la duración de la protección conferida por los anticuerpos neutralizantes. Los intervalos de tiempo estimados y las tasas de detección viral se basan en datos de varios informes publicados. Debido a la variabilidad en los valores entre los estudios, los intervalos de tiempo estimados deben considerarse aproximaciones y la probabilidad de detección de infección por SARS-CoV-2 se presenta de forma cualitativa. La detección solo ocurre si los pacientes reciben un seguimiento proactivo desde el momento de la exposición. Es más probable que registre un resultado negativo que positivo de PCR de hisopo nasofaríngeo.

## Conclusiones

- Utilizando la evidencia disponible, se ha ideado una cronología clínicamente útil de los marcadores diagnósticos para la detección de COVID-19.
- La mayoría de los datos disponibles son para poblaciones adultas inmunocompetentes.
- El curso temporal de la positividad y la seroconversión de la PCR puede variar en niños y otros grupos, incluida la gran población de individuos asintomáticos que no se diagnostican sin vigilancia activa.

Quedan muchas preguntas, particularmente cuánto tiempo dura la inmunidad potencial en individuos, tanto asintomáticos como sintomáticos, que están infectados con SARS-CoV-2.

### Referencias

1. Nalla AK, Casto AM, Huang MW, et al. Comparative performance of SARS-CoV-2 detection assays using seven different primer/probe sets and one assay kit. ? J Clin Microbiol. 2020;JCM.00557-20. Published online April 8, 2020. doi:10.1128/JCM.00557-20
2. Zheng S, Fan J, Yu F, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. ? BMJ. 2020;369:m1443. Published online April 21, 2020. doi:10.1136/bmj.m1443
3. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature. 2020. Published online April 1, 2020. doi:10.1038/s41586-020-2196-x
4. CDC. Return-to-work criteria for healthcare workers. Updated April 30, 2020. Accessed May 3, 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/return-to-work.html>
5. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. JAMA. 2020. Published online March 11, 2020. doi:10.1001/jama.2020.3786
6. Lou B?, Li T, Zheng S, et al Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptoms onset. medRxiv. Preprint posted March 27, 2020. doi:10.1101/2020.03.23.20041707
7. To KK-W, Tsang OT-Y, Leung W-S, 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. ? Lancet Infect Dis. 2020;20(5):565-574. doi:10.1016/S1473-3099(20)30196-1
8. Xiang F, Wang X, He X, et al. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with COVID-19. Clin Infect Dis. 2020;ciaa461. Published online April 19, 2020. doi:10.1093/cid/ciaa461
9. Xiao AT, Gao C, Zhang S Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: the first report. ? J Infect. 2020;S0163-4453(20)30138-9. Published online March 21, 2020. doi:10.1016/j.jinf.2020.03.012
10. Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020;ciaa310. Published online March 21, 2020. doi:10.1093/cid/ciaa310