

Información
actualizada
Octubre 2020

Actualización de uso de las técnicas de diagnóstico disponibles

MINISTERIO DE
SALUD



GOBIERNO DE LA
PROVINCIA DE
**BUENOS
AIRES**

El presente informe busca dar cuenta de las técnicas disponibles, hasta el momento, para el diagnóstico del SARS-CoV-2 y el momento adecuado para la toma de la muestra según cada tipo de test.

El método indicado para la confirmación estándar de la infección aguda por el SARS-CoV-2 se basa en la detección de secuencias de genoma viral específicas mediante pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, como la reacción en cadena de la polimerasa por transcripción reversa en tiempo real (RTqPCR). Este método consiste en la amplificación del material genético viral luego de su extracción a partir de una muestra de vías respiratorias y es considerado el método *Gold standard* para el diagnóstico de personas sintomáticas con sospecha de COVID-19 (1). La sensibilidad de este método, o sea, la capacidad que tiene de detectar el virus en muestras en donde se encuentra el mismo, es de aproximadamente un 85-95%, dependiendo del gen blanco y otros factores (2,3).

La muestra de elección es la de vías respiratorias. El virus puede ser detectado en las vías respiratorias superiores de 1 a 3 días antes de aparecer los síntomas, condición denominada pre-sintomática, en esta condición la sensibilidad de la técnica no es máxima, lo que significa que podemos encontrar un gran porcentaje de falsos negativos en esta etapa de la infección. La concentración de SARS-CoV-2 en las vías respiratorias superiores alcanza su valor más alto en torno al momento de la aparición de los síntomas, después de lo cual va disminuyendo paulatinamente (4-10). Es por esta razón que, para minimizar la probabilidad de un falso negativo, donde el resultado de laboratorio puede determinar la conducta a tomar de manera errónea aumentando la posibilidad de contagio, la muestra para diagnóstico debe ser tomada en casos sospechosos, según protocolo vigente, entre los primeros 5- 7 días de aparición de los síntomas (4). Esta evidencia es consistente con la información de la OMS, el CDC y otras publicaciones nacionales (11) que establecen que el período óptimo para tomar este tipo de muestra y diagnosticar por la técnica de RTqPCR son los primeros días luego de la presentación de síntomas.

La adecuada toma de muestra resulta fundamental para minimizar la posibilidad de falsos negativos (12). En pacientes ambulatorios con cuadros leves la muestra más frecuentemente usada es el hisopado nasofaríngeo y en base a una evaluación clínica, la muestra de vías respiratorias bajas es la opción en pacientes con compromiso pulmonar (13). En ningún caso, está indicada la realización de esta técnica sin la aparición de la sintomatología correspondiente, ya que la misma tiende a producir un resultado no

concluyente que pone en riesgo tanto a la persona diagnosticada como a la comunidad a la cual pertenece. La conducta a seguir para evitar los contagios es el cumplimiento de las medidas higiénicas y distanciamiento en población general y el aislamiento en los plazos establecidos, en caso de contacto estrecho de un caso confirmado.

Hoy contamos con nuevos métodos de biología molecular basados en la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP, en nuestro país existen dos desarrollos nacionales: Neokit y Chemtest). Estos nuevos métodos han logrado niveles aceptables de sensibilidad y especificidad en comparación con la prueba *gold-standard* (14). Como ventaja, estas pruebas se pueden realizar en laboratorios de menor complejidad mejorando el acceso al diagnóstico donde no hay laboratorios de biología molecular con infraestructura y equipamiento sofisticado.

Las muestras adecuadas para el procesamiento con esta técnica son muestras respiratorias, al igual que para RTqPCR, y se debe realizar en los mismos casos que para la técnica *Gold Standard*, esto es dentro de los primeros 7 días desde el inicio de los síntomas para obtener resultados con la máxima sensibilidad.

También existen en el mercado, desde hace un tiempo, diferentes pruebas de diagnóstico rápido (inmunoensayos de flujo lateral) que detectan la presencia de proteínas virales (antígenos) del SARS-CoV-2 en muestras de las vías respiratorias en aproximadamente 30 minutos. Las muestras, en general, son hisopados nasales o nasofaríngeos que deben tomarse con los correspondientes equipos de protección personal y buenas prácticas en personas que constituyan un caso sospechoso de COVID-19 según protocolo vigente, esto quiere decir que se realiza en personas que manifiestan síntomas compatibles con coronavirus. Las mismas pueden detectar la presencia del virus en los primeros cinco días luego del inicio de los síntomas. Dependiendo de la prueba utilizada, la detección de antígenos puede presentar una especificidad aceptable. Sin embargo, la sensibilidad no permite descartar el caso ante un resultado no reactivo, por lo tanto, se requiere de pruebas complementarias para un adecuado uso en salud pública (15,16). La ventaja de estas pruebas es que pueden ser utilizadas directamente en puntos de atención (primer nivel de atención), con poco o sin ningún equipamiento adicional. Dentro de las desventajas, requiere del uso de técnicas moleculares para completar el diagnóstico de las pruebas no reactivas.

La sensibilidad de las distintas pruebas de diagnóstico rápido en comparación con la RTqPCR en muestras de las vías respiratorias superiores reporta gran variabilidad (17-22).

Por ahora, los datos sobre la eficacia de las pruebas de antígenos en el entorno clínico son limitados, por ellos se recomienda realizar validaciones internas comparando pruebas de PCR y pruebas de antígeno en muestras clínicas de casos sospechosos con el fin de determinar cuáles de las pruebas de detección de antígenos que se están comercializando muestran resultados aceptables en cuanto a sensibilidad y especificidad en estudios de campo representativos. Cuando los resultados sean aceptables, se podrían incluir pruebas de antígenos en un algoritmo de diagnóstico, sobre todo en aquellos lugares donde no haya acceso a las pruebas moleculares. La forma en que la detección de antígenos se incorporaría al algoritmo de pruebas depende de la sensibilidad y la especificidad de la prueba de antígenos y de la prevalencia de la infección por el SARS-CoV-2 en la población de prueba prevista.

Todas las pruebas diagnósticas desarrolladas hasta el momento deben ser utilizadas en muestras de personas que cumplen con el criterio de caso sospechoso según protocolo vigente, esto es con sintomatología compatible con COVID-19. Se debe tener en cuenta, además, que los test de antígeno presentan una ventana más corta para la toma de la muestra adecuada (5 días) y presentan menos sensibilidad que las técnicas de PCR. Por esta razón, el uso de pruebas de antígeno en personas asintomáticas no constituye una técnica diagnóstica, al contrario de ello, mal utilizada puede arrojar resultados negativos que bajo ningún punto de vista pueden ser considerados como ausencia del virus.

Tabla 1: Resumen de Técnicas diagnósticas disponibles y el momento adecuado de la toma de la muestra

Prueba	Sensibilidad de la Técnica	Uso Recomendado	Momento de toma de muestra (Sensibilidad máxima)
RTqPCR	Gold Standard	-Diagnóstico de caso sospechoso -Alta internados graves	Inicio de síntomas- 7 días posteriores
LAMP	<90%	-Diagnóstico de caso sospechoso	Inicio de síntomas- 7 días posteriores
Test Antígenos	Variable, sólo aceptado Abbott y BD	-Confirmación de caso sospechoso*	Inicio de síntomas- 5 días posteriores

Fuente: elaboración propia

* Muestras con Resultado Negativo deben confirmarse con PCR

Bibliografía

1. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/335830/WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.6-spa.pdf>
2. Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., ... & Mulders, D. G. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25(3), 2000045.
3. Long, C., Xu, H., Shen, Q., Zhang, X., Fan, B., Wang, C., ... & Li, H. (2020). Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT?. *European journal of radiology*, 108961.
4. Kucirka, L., Lauer, S., Laeyendecker, O., Boon, D., & Lessler, J. (2020). Variation in False Negative Rate of RT-PCR Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. medRxiv.
5. Vashist, S. K. (2020). In vitro diagnostic assays for COVID-19: recent advances and emerging trends.
6. He, X., et al., Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*, 2020. 26(5): p. 672-675.
7. Wolfel, R., et al., Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 2020.
8. Weiss, A., M. Jellingso, and M.O.A. Sommer, Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine*, 2020. 58: p. 102916.
9. Sethuraman, N., S.S. Jeremiah, and A. Ryo, Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*, 2020. 40. Zou, L., et al., SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*, 2020. 382(12): p. 1177-1179.
10. Wang, Y., et al., Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity. *J Clin Invest*, 2020.
11. Consenso sobre el uso de pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2, Ministerio de Salud de la Nación, Argentina, 23 de septiembre 2020 (<https://bancos.salud.gob.ar/recurso/consenso-sobre-el-uso-de-pruebas-diagnosticas-para-sars-cov-2>)
12. World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected - Interim guidance [Internet]. 2020 [cited 2020 Mar 18]. Available from: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1272156/retrieve>
13. <https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus-COVID-19/laboratorio>
14. Hanson, K. E., Caliendo, A. M., Arias, C. A., Englund, J. A., Lee, M. J., Loeb, M., Patel, R., El Alayli, A., Kalot, M. A., Falck-Ytter, Y., Lavergne, V., Morgan, R. L., Murad, M. H., Sultan, S., Bhimraj, A., & Mustafa, R. A. (2020). Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19. Supplement G. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, ciaa760. Advance online publication. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa760>

15. D'Cruz, R. J., Currier, A. W., & Sampson, V. B. Laboratory Testing Methods for Novel Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 468. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00468>
16. Organización Panamericana de la Salud. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19 [Internet]. [cited 2020 Jul 15]. Available from: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52471>
17. Dinnes J, D.J., Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, Emperador D, Takwoingi Y, Cunningham J, Beese S, Dretzke J, Ferrante di Ruffano L, Harris IM, Price MJ, Taylor-Phillips S, Hooft L, Leeflang MMG, Spijker R, Van den Bruel A., Rapid, point- of- care antigen and molecular- based tests for diagnosis of SARS- CoV- 2 infection. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020(8).
18. Lambert-Niclot, S., et al., Evaluation of a rapid diagnostic assay for detection of SARS CoV-2 antigen in nasopharyngeal swab. *J Clin Microbiol*, 2020.
19. Mertens, P., et al., Development and Potential Usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context. *Front Med (Lausanne)*, 2020. 7: p. 225.
20. Porte, L., et al., Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *Int J Infect Dis*, 2020.
21. Instituto Nacional de Salud, Colombia. Validación secundaria y verificación del desempeño de la prueba "STANDARD TM Q COVID- 19 Ag Test Biosensor". Disponible en: <https://www.ins.gov.co/pruebas%20de%20antgenos/1.%20Informe%20de%20validaci%C3%B3n%20STANDARDTM%20Q%20COVID-19%20Ag%20Test%20Biosensor.pdf>
22. Center for Disease Control and Prevention. Interim Guidance for Rapid Antigen Testing for SARS-CoV-2. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines.html>