

Diagnóstico microbiológico de SARS-COV 2

Microbiological diagnosis of SARS-VOC 2

Marcia Hart Casares¹ <https://orcid.org/0000-0002-2966-7437>

¹Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia. labmicro@hha.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La enfermedad producida por el nuevo coronavirus constituye un reto para los sistemas de salud. En estos tiempos de pandemia disponer de pruebas que ayuden a un diagnóstico temprano e incluso a detectar pacientes asintomáticos es una de las claves para disminuir los contagios y evitar la propagación.

Objetivo: Revisar los aspectos más importantes en el diagnóstico del nuevo coronavirus.

Desarrollo: La detección de ARN de SARS-CoV2 en muestras respiratorias, es la técnica de referencia y de elección para el diagnóstico microbiológico de COVID-19. Tomando la muestra de la parte posterior de la faringe y de las fosas nasales puede detectarse la presencia del virus. La detección de antígenos es un tipo de prueba de diagnóstico rápido la cual detecta la presencia de proteínas virales (antígenos) expresadas por el virus de la COVID-19. La detección de los anticuerpos generados en el organismo huésped infectado es una de las técnicas más utilizadas a nivel mundial en grandes poblaciones, incluso como pesquizaje, aunque su interpretación puede requerir intervención de médicos especializados. También está basada en la detección de anticuerpos del tipo IgM e IgG y algunas presentan la detección de anticuerpos IgA. **Conclusiones:** La interpretación de las pruebas serológicas debe realizarse con cautela, teniendo en cuenta sus limitaciones, y evaluarlas acorde a la situación clínica del paciente y de los resultados de la prueba de referencia.

Palabras clave: diagnóstico COVID-19; SARS-CoV 2; coronavirus.

ABSTRACT

Introduction: The disease caused by the new coronavirus constitutes a challenge for health

systems. In these times of pandemic, having tests that help early diagnosis and even detect asymptomatic patients is one of the keys to reducing infections and preventing the spread.

Objective: To review the most important aspects in the diagnosis of the new coronavirus.

Findings: Detection of SARS-CoV2 RNA in respiratory samples is the reference and technique of choice for the microbiological diagnosis of COVID-19. By taking samples from the back of the pharynx and the nostrils, the presence of the virus can be detected. Antigen detection is a type of rapid diagnostic test which detects the presence of viral proteins (antigens) expressed by COVID-19 virus. Detection of the antibodies generated in the infected host organism is one of the most widely used techniques worldwide in large populations, even as screening, although its interpretation may require the intervention of specialists. It is also based on the detection of IgM and IgG type antibodies and some have the detection of IgA antibodies.

Conclusions: The interpretation of serological tests should be done with caution, taking into account the limitations, and assessing them according to the patient's clinical situation and the results of the reference test.

Keywords: COVID-19 diagnosis; SARS-CoV 2; coronavirus.

Recibido: 01/03/2020

Aprobado: 26/03/2020

Introducción

En estos tiempos de pandemia disponer de pruebas que ayuden a un diagnóstico temprano e incluso a detectar pacientes asintomáticos es una de las claves para disminuir los contagios y evitar la propagación.

El nuevo virus SARS-CoV 2 apareció en Asia a finales de 2019. Este pertenece a la familia Coronaviridae, y en concreto, al género beta (beta – coronavirus) al igual que el SARS - CoV causante del brote surgido en China en 2003 y el MERS- CoV, causante del brote aparecido en la península arábiga en 2012 ,todos ellos de origen zoonótico, los cuales han sido capaces de cruzar especies y causar enfermedades en humanos. No está de más decir que los coronavirus siempre han causado enfermedades leves en el aparato respiratorio como

resfriados comunes, ellos reciben ese nombre por la estructura que tiene al microscopio en el cual se observan una corona o halo en la superficie exterior.⁽¹⁾

En términos generales, los métodos de detección de virus respiratorios en hospitales podrían clasificarse en tres, cada una de estas tiene ventajas y limitaciones las cuales trataremos de abordar en este artículo.

Detección del material genético del virus a través de su ARN mediante la PCR

La detección de ARN de SARS-CoV2 en muestras respiratorias es la técnica de referencia y de elección para el diagnóstico microbiológico de COVID-19. Tomando la muestra de la parte posterior de la faringe y de las fosas nasales se detecta la presencia del virus. Un requisito principal en la valoración de las muestras del tracto respiratorio es que estas deben contener el mayor número posible de células epiteliales, por lo que también resultan muy útiles los aspirados nasales y lavados bronquiales.

El transporte de las muestras debe realizarse a 4 °C (o en su defecto congeladas a -70 °C) con objeto de asegurar la infectividad de las partículas virales. La recuperación de los virus gripales se favorece con un medio de transporte adecuado, que consiste en una solución salina a pH neutro con estabilizadores de proteínas, como el suero de albúmina bovina, y antibióticos para reducir el crecimiento de bacterias que integran la microbiota acompañante.⁽²⁾

Los métodos moleculares de diagnóstico que permiten la detección de ácidos nucleicos están basados en la búsqueda y el reconocimiento del genoma viral en la muestra clínica. Las técnicas más utilizadas es la técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*, Reacción en cadena de la polimerasa), la cual es una técnica muy establecida, utilizada de manera rutinaria en todos los laboratorios clínicos y que está basada en la amplificación de fragmentos de ADN mediante ciclos consecutivos de incrementos y bajadas de temperatura, lo que permite, a partir de pocas secuencias iniciales de ADN (pocas copias de material genérico) ampliar a grandes cantidades que pueden ser detectadas mediante fluorescencia.⁽³⁾

Esta técnica amplifica el ADN por lo que en el caso del ARN vírico es necesario primero convertirlo en ADN por la transcripción inversa, (*RT reverse transcription*) y a partir de eso entonces iniciar la PCR. Las ventajas de estas técnicas son múltiples permitiendo detectar el ARN del virus dos días antes que aparezcan los síntomas, la carga viral va aumentando en la fase aguda y luego aproximadamente dentro de 14 a 21 días debe negativizarse por lo que permite valorar incluso su uso para evolucionar el paciente y evitar así la transmisibilidad.

No siempre es 100 % así, hay estudios que refieren pacientes con una carga viral detectable a los 30 días, por lo que se necesita más estudios para ver el periodo de permanencia en algunos pacientes o si este se elimina de forma intermitente, o si hay pacientes que pueden convertirse en portadores. Esos estudios los estaremos haciendo a medida que enfrentemos la epidemia.⁽⁴⁾

Los inconvenientes de estas técnicas es que requieren de mucha laboriosidad así como de un laboratorio de nivel 2 de bioseguridad en un personal especializado.

Detección del virus con la detección de antígenos virales

La detección de antígenos es un tipo de prueba de diagnóstico rápido la cual detecta la presencia de proteínas virales (antígenos) expresadas por el virus de la COVID-19. Generalmente se basa en la detección de las proteínas estructurales como sería la proteína S, en caso de detección completa del virus, o la proteína N para detección de partes o fragmentos del virus, mediante el uso de anticuerpos específicos, que las detectan cuando capturan al virus.

En una muestra del tracto respiratorio, si el antígeno está presente en concentraciones suficientes en la muestra, se unirá a anticuerpos específicos fijados a una matriz y generará una señal visualmente detectable, generalmente dentro de los 30 min.^(5,6)

Este tipo de prueba puede ser utilizada en pacientes asintomáticos y con infección temprana ya que solo se detecta positiva cuando el virus se replica, por lo tanto, son muy útiles para pesquisas, pero su desempeño depende de la calidad en que se tomen la muestra y la precisión del kit diagnóstico que se disponga. En estudios promedios de los kit disponibles en el mercado su sensibilidad suele variar entre 34 a 80 %.⁽⁷⁾

Con los datos limitados ahora disponibles, la OMS no recomienda actualmente el uso de pruebas de diagnóstico rápido de detección de antígenos para la atención del paciente, aunque se recomienda encarecidamente la investigación de su rendimiento y utilidad diagnóstica potencial.

Detección de los anticuerpos generados en el organismo huésped infectado

Es una de las técnicas más utilizadas a nivel mundial en grandes poblaciones, incluso como pesquizaje, aunque su interpretación puede requerir intervención de médicos especializados. Tiene la ventaja que puede ser realizada por el médico de asistencia, está basada en la detección de anticuerpos del tipo IgM e IgG y algunas también presentan la detección de

anticuerpos IgA, aunque algunos estudios publicados hasta la fecha todavía no son confiables.⁽⁸⁾

La presencia de IgM se produce entre los 7-10 del inicio de los síntomas, y suele disminuir a partir de los 20 días, hasta desaparecer. La IgG se hace positiva a partir de los 14-20 días y suele mantenerse durante un tiempo prolongado. Por lo tanto, el diagnóstico de infección de COVID-19 basado en pruebas serológicas en la mayoría de casos solo será posible en la fase de recuperación, cuando muchas de las oportunidades de intervención clínica o interrupción de la transmisión de la enfermedad ya han pasado. Este análisis es general, pues se ha visto en la COVID-19 que no todos los individuos son iguales y que la capacidad de respuesta del sistema inmune puede tardar más tiempo en producir anticuerpos, y no hacerlo con la misma intensidad, pudiendo dar falsos negativos, en los cuales hay además muchas variables que intervienen tales como la edad, estado nutricional, determinada medicación, pacientes VIH, estado inmunosupresivo del paciente y severidad de la enfermedad.⁽⁹⁾

La interpretación de las pruebas serológicas debe realizarse con cautela, teniendo en cuenta sus limitaciones, y evaluarlas acorde a la situación clínica del paciente y de los resultados de la prueba de referencia de RT-PCR. Aunque la presencia de IgG parece indicar una inmunización frente a una reinfección al virus, aún no hay evidencias científicas que lo confirme con seguridad.

Referencias bibliográficas

1. Eiros JM, Ortiz de Lejarazu R, Tenorio A, Casas I, Pozo F, Ruiz G, Pérez Breña P. Diagnóstico microbiológico de las infecciones virales respiratorias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(3):168-77.
2. To KK W, Tsang OT Y, Leung WS, Tam AR, Wu T-C, Lung DC, *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):565-74.
3. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Situation report – 73. 2020. Disponible en: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruses/situation-reports/20200402-sitrep-73-covid-19.pdf>
4. Zhang XY, Huang HJ, Zhuang DL, Nasser MI, Yang MH, Zhu P, *et al*. Biological, clinical and epidemiological features of COVID-19, SARS and MERS and AutoDock

simulation of ACE2. *Infect Dis Poverty*. 2020;9(1):99. Doi: <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00691-6>

5. David P, Shoenfeld Y. The Smell in COVID-19 Infection: Diagnostic Opportunities. *Isr Med Assoc J*. 2020;7(22):335-37.

6. Wong CK, Ho DTY, Tam AR, Zhou M, Lau YM, Tang MOY, *et al*. Artificial intelligence mobile health platform for early detection of COVID-19 in quarantine subjects using a wearable biosensor: protocol for a randomised controlled trial. *BMJ*. 2020;10(7):e038555. Doi: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-038555>

7. Velázquez Pérez L. La COVID-19: reto para la ciencia mundial. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*. 2020[acceso: 07/05/2020];10(2). Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/763>

8. Biggs HM, Harris JB, Breakwell L, Dahlgren FS, Abedi GR, Szablewski CM, *et al*. Estimated Community Seroprevalence of SARS-CoV-2 Antibodies-Two Georgia Counties, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69(29):965-70. Doi: <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6929e2>

9. Hasan MR, Mirza F, Al-Hail H, Sundararaju S, Xaba T, Iqbal M, *et al*. Detection of SARS-CoV-2 RNA by direct RT-qPCR on nasopharyngeal specimens without extraction of viral RNA. *PLoS One*. 2020;15(7):e0236564. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236564>

Conflicto de intereses

La autora declara que no existe conflicto de intereses.