

*The National Academies of*  
SCIENCES • ENGINEERING • MEDICINE

Consulta rápida a expertos con respecto a las pruebas de  
laboratorio para el SARS-CoV-2 en la pandemia de COVID-19  
(8 de abril de 2020)

8 de abril de 2020

Kelvin Droegemeier, Ph.D.  
Oficina de Política de Ciencias y Tecnología  
Oficina Ejecutiva del Presidente  
Edificio de la Oficina Ejecutiva Eisenhower  
1650 Pennsylvania Avenue, NW  
Washington, DC 20504

Estimado Dr. Droegemeier:

Adjunta encontrará una consulta rápida a expertos sobre los usos, la interpretación y las instrucciones futuras de las pruebas de laboratorio, que fue preparada por David Relman, David Walt y Kristian Andersen, miembros del Comité Permanente sobre Enfermedades Infecciosas Emergentes y Amenazas a la Salud del Siglo XXI (*Standing Committee on Emerging Infectious Diseases and 21st Century Health Threats*) de las Academias Nacionales de Ciencias, Ingeniería y Medicina (*National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine*). En el Apéndice, se puede encontrar información detallada sobre los autores y revisores de esta consulta rápida a expertos.

El objetivo de esta consulta rápida a expertos es proporcionar principios con fundamentos científicos que sean relevantes para la toma de decisiones con respecto a la interpretación de las pruebas de laboratorio.

Esta consulta rápida a expertos abarca los estudios actuales pertinentes y señala el rumbo que se debe seguir en función de las necesidades específicas de investigación en los días y meses venideros. Esperamos que este documento sea de utilidad para usted y sus colegas.

Atentamente.

Harvey V. Fineberg, M.D., Ph.D.

Presidente

Comité Permanente sobre Enfermedades Infecciosas Emergentes y Amenazas a la Salud del Siglo XXI

Esta consulta rápida a expertos responde a su solicitud de información sobre la interpretación de pruebas de laboratorio, desarrollos futuros y necesidades de investigación.

La confirmación del laboratorio mediante pruebas estandarizadas confiables es el método de referencia para determinar los índices de enfermedad.

Sin embargo, en particular inmediatamente después de reconocer una nueva enfermedad infecciosa, es posible que no se disponga de pruebas con alta sensibilidad<sup>1</sup> y especificidad<sup>2</sup> que puedan separar a individuos infectados de individuos no infectados de forma precisa y sistemática. Es importante tener en cuenta que el criterio clínico, que generalmente tiene en cuenta la probabilidad de infección en función del riesgo de exposición y una revisión de los signos y síntomas clínicos, es crucial para comprender una enfermedad infecciosa como la COVID-19 y quiénes pueden tenerla.

Existen dos tipos generales de pruebas para enfermedades infecciosas: las que detectan la enfermedad directamente (por ejemplo, pruebas de PCR para el ARN viral) y las que detectan una respuesta del huésped a la enfermedad (por ejemplo, pruebas de serología que detectan anticuerpos específicos). Hoy en día, cada vez más proveedores ofrecen pruebas para la COVID-19 de cada tipo.

### DETECCIÓN DEL ARN VIRAL

La mayoría de las pruebas para la COVID-19 en uso actualmente detectan la enfermedad directamente y miden el ARN viral. El ARN viral indica una infección actual y sugiere el riesgo de contagiosidad y transmisión para otras personas; sin embargo, la presencia de ARN viral en una persona, en particular en una etapa tardía de la infección, puede representar restos virales más que partículas intactas de virus capaces de transmisión. Se necesitan con urgencia estudios adicionales sobre la dinámica temporal del ARN viral en personas infectadas, en todas las zonas y los fluidos del cuerpo, y la correlación de estas mediciones con el riesgo de transmisión a otras personas; igual de importante es la necesidad de una capacidad mucho mayor para realizar estas pruebas en todo el país.

Las pruebas actuales para el SARS-CoV-2 se basan en la detección del ARN viral y utilizan la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (*reversetranscriptase polymerase chain reaction*, RT-PCR) o la amplificación isotérmica mediada por asas (*loop-mediated isothermal amplification*, LAMP) en muestras nasofaríngeas (*nasopharyngeal*, NP), bucofaríngeas (*oropharyngeal*, OP), de esputo o de saliva. Las pruebas RT-PCR se han utilizado mucho para el diagnóstico de la COVID-19. En un estudio retrospectivo, se indica que estas pruebas pueden ser menos sensibles para identificar las fases tempranas de la enfermedad que las exploraciones mediante tomografía computada (*computed tomography*, CT) de tórax y otros hallazgos clínicos y de laboratorio.<sup>3</sup> En un estudio de 51 pacientes con COVID-19, diagnosticados en función de una RT-PCR positiva en cualquier momento durante el desarrollo

<sup>1</sup> Sensibilidad: la probabilidad de un resultado positivo en un paciente que tiene la enfermedad. Un error en la sensibilidad produce un resultado falso negativo.

<sup>2</sup> Especificidad: la probabilidad de un resultado negativo en un paciente que no tiene la enfermedad. Un error en la especificidad produce un resultado falso positivo. Xu et al. 2020. Analysis and prediction of false negative results for SARS-CoV-2 detection with pharyngeal swab specimen in COVID-19 patients: A retrospective study. <https://doi.org/10.1101/2020.03.26.20043042>.<sup>4</sup> Fang et al. 2020. Sensitivity of chest CT for COVID-19:

Comparison to RT-PCR. *Radiology*. Xu et al. 2020. Analysis and prediction of false negative results for SARS-CoV-2 detection with pharyngeal swab specimen in COVID-19 patients: A retrospective study. <https://doi.org/10.1101/2020.03.26.20043042>.<sup>4</sup> Fang et al. 2020. Sensitivity of chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. *Radiology*.

de la enfermedad, se determinó que solo 35 de los 51 tuvieron una RT-PCR positiva en el momento de la presentación clínica, mientras que 50 de los 51 presentaron anomalías en la CT en el momento de la presentación.<sup>4</sup> Ni en este ni en otros estudios que hemos encontrado se establecen con exactitud las razones por las cuales se obtuvieron resultados falsos negativos en las pruebas iniciales de PCR; sin embargo, estas razones pueden incluir la etapa de la enfermedad, menos cantidad de virus en ciertas zonas del cuerpo y en determinados pacientes, y los métodos deficientes de obtención de muestras.

Se descubrió que los métodos de prueba LAMP desarrollados para la detección del SARS-CoV en 2004 eran más rápidos, más sencillos de realizar y más económicos que los métodos convencionales.<sup>5</sup> La prueba LAMP también parece ser más sensible y específica para el SARS-CoV-2 en comparación con la RT-PCR, cuando se usan muestras no provenientes de pacientes a las que se les ha añadido virus.<sup>6</sup> Actualmente se están llevando a cabo estudios de cohortes de gran envergadura para evaluar si estas ventajas resultan válidas.

Las pruebas rápidas para detectar el ARN viral incluyen los cartuchos para SARS-CoV-2 de Cepheid<sup>7</sup> que se usan en su plataforma Xpert de PCR rápida, con un tiempo de respuesta de 45 minutos, y la prueba de amplificación isotérmica ID NOW<sup>TM</sup> de Abbott para COVID-19<sup>8</sup> 9 10 11 que se usa en su plataforma ID NOW<sup>TM</sup> con resultados en menos de 15 minutos. Ambas pruebas son de utilidad para desarrollar la capacidad local, pero en el momento de esta consulta rápida a expertos (8 de abril), ninguna había alcanzado niveles de producción cercanos a satisfacer las necesidades nacionales. Su uso se limitará a instituciones que hayan invertido en tales plataformas instrumentales; además, no se ha confirmado debidamente la solidez de sus cadenas de suministro. Estos tipos de pruebas rápidas serán más valiosos para evaluar a pacientes a los que se les deben realizar procedimientos de emergencia, como una cirugía, que sin un resultado de la prueba podrían presentar un riesgo alto de transmisión de la enfermedad. Si bien no se utiliza en el ámbito clínico, una prueba de diagnóstico basada en el sistema CRISPR/Cas12 o CRISPR/Cas13 para el SARS-CoV-2 podría ofrecer ventajas respecto de las tecnologías actuales. Los sistemas CRISPR/Cas12 y CRISPR/Cas13 ofrecen alta sensibilidad (pueden detectar solamente 10 copias génicas), especificidad, portabilidad, indicadores de fácil lectura (por ejemplo, tiras reactivas de papel), velocidad (aproximadamente 45 minutos) y bajo costo (pocos dólares por muestra).<sup>9,10,11</sup>

En un informe reciente, se indica que el ARN viral se puede detectar mediante la prueba RT-PCR directamente en muestras de hisopado NP sin la necesidad de una extracción de ARN, supuestamente debido a la alta carga de infección presente en esta parte del cuerpo y el

<sup>4</sup> Fang et al. 2020. Sensitivity of chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. *Radiology*. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200432>.

<sup>5</sup> Thai et al. 2004. Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of Clinical Microbiology* 42(5): 1956-1961.

<sup>6</sup> Lamb et al. 2020. Rapid detection of novel coronavirus (COVID-19) by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. <https://doi.org/10.1101/2020.02.19.20025155>.

<sup>7</sup> Cepheid. 2020. Xpert Xpress SARS-CoV-2 has received FDA Emergency Use Authorization. <https://www.cepheid.com/coronavirus> (último acceso 2 de abril de 2020).

<sup>8</sup> Abbott. 2020. Detect COVID-19 in as little as 5 minutes. <https://www.abbott.com/corpnnewsroom/product-and-innovation/detect-covid-19-in-as-little-as-5-minutes.html> (último acceso 2 de abril de 2020).

<sup>9</sup> Kellner et al. 2019. SHERLOCK: Nucleic acid detection with CRISPR nucleases. *Nature Protocols* 14:2986-3012.

<sup>10</sup> Lucia et al. 2020. An ultrasensitive, rapid, and portable coronavirus SARS-CoV-2 sequence detection method based on CRISPR-Cas12. <https://doi.org/10.1101/2020.02.29.971127>.

<sup>11</sup> Metsky et al. 2020. CRISPR-based surveillance for COVID-19 using genomically-comprehensive machine learning design. <https://doi.org/10.1101/2020.02.26.967026>.

desprendimiento de ARN viral de las células hospedadoras muertas o lisadas.<sup>12</sup> En este informe, se observó una disminución de la sensibilidad de detección viral de solo 20 veces; en otros informes se indica una pérdida de la sensibilidad de aproximadamente 100 veces. Este es un descubrimiento importante en caso de que continúe o empeore la escasez de kits de extracción de ARN.

Uno de los métodos para el aumento de la escala de pruebas de PCR se basa en agrupaciones de muestras para el examen de detección inicial, con pruebas de seguimiento en subgrupos de la agrupación original si el examen de selección inicial arroja un resultado positivo.<sup>13</sup> Si bien las primeras pruebas de este método son prometedoras y este tipo de estrategia de multiplexación ha funcionado en otros escenarios de detección de enfermedades, requerirá más validaciones. Si las muestras agrupadas resultan factibles, la agrupación podría multiplicar entre 5 y 10 veces el rendimiento de los establecimientos en los que se realizan pruebas, en virtud de la prevalencia de resultados positivos en la población de la que se obtuvieron las muestras.

## **DETECCIÓN DE LA RESPUESTA INMUNITARIA DEL HUÉSPED**

Las pruebas del segundo tipo (es decir, las que detectan una respuesta del huésped a la enfermedad) por lo general miden anticuerpos específicos al agente, y también se producirá una cantidad de estas supuestas pruebas serológicas para el SARS-CoV-2. Estas pruebas también ofrecen información útil, pero la utilidad y el significado de la información serológica son bastante distintos de la utilidad y el significado de los resultados de las pruebas de diagnóstico de ARN viral. Las pruebas serológicas miden si una persona ha estado expuesta anteriormente al agente; sin embargo, también se han usado para complementar los resultados de la prueba RT-PCR al establecer un diagnóstico posterior en el desarrollo de la enfermedad (ver también *Consulta rápida a expertos sobre la propagación viral del SARS-CoV-2 y la respuesta de anticuerpos para la pandemia de COVID-19 [8 de abril de 2020]*). Los anticuerpos IgM por lo general aparecen en el lapso de días a aproximadamente una semana después de la aparición de los síntomas y continúan durante semanas a un mes o dos. Aparecen antes que los anticuerpos IgG pero son menos específicos. Los anticuerpos IgG suelen aparecer por primera vez en el torrente sanguíneo 2 semanas después de la infección y duran meses y, en algunos casos, años. Se han detectado anticuerpos contra el SARS-CoV-2 de varios tipos en pacientes con COVID-19 en una mediana de 5 a 14 días después de la aparición de los síntomas (ver también *Consulta rápida a expertos sobre la propagación viral del SARS-CoV-2 y la respuesta de anticuerpos para la pandemia de COVID-19 [8 de abril de 2020]*). En el transcurso de una semana después de la infección, se puede observar la presencia tanto de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 como de ARN viral en la misma persona. En general, los resultados serológicos, en particular la medición de IgM, pueden ser menos específicos que las pruebas moleculares. Todos los resultados de estudios serológicos para detectar el SARS-CoV-2 se deben considerar sospechosos hasta que se realicen controles rigurosos y se detallen las características de eficacia, ya que los métodos de detección de anticuerpos pueden variar considerablemente y, hasta ahora, la mayoría no ha detallado controles bien estandarizados. Las muestras de pacientes con infecciones por

<sup>12</sup> Bruce et al. 2020. RT-qPCR detection of SARS-CoV-2 RNA from patient nasopharyngeal swab using Qiagen RNeasy kits or directly via omission of an RNA extraction step. <https://biorxiv.org/content/10.1101/2020.03.20.001008v1> (último acceso 2 de abril de 2020).

<sup>13</sup> Yelin et al. 2020. Evaluation of COVID-19 RT-zPCR test in multi-sample pools. <https://doi.org/10.1101/2020.03.26.20039438>.

coronavirus estacional (no asociado al SARS-CoV-2) son de particular importancia como controles negativos (ver a continuación).

La presencia de anticuerpos contra un agente infeccioso puede ser un marcador valioso para infecciones anteriores observadas en estudios epidemiológicos basados en la población, y permiten evaluar la eficacia de diversas intervenciones públicas para evitar la propagación de la enfermedad. Los anticuerpos también pueden ser indicadores de inmunidad del huésped contra el agente. Sin embargo, en el caso del SARS-CoV-2, no se sabe si la presencia de anticuerpos indica protección contra la enfermedad.

Es importante tener en cuenta, en este punto, una consideración de la respuesta inmunitaria humana a los cuatro coronavirus estacionales y a coronavirus emergentes anteriores. En la edad adulta, casi todos tenemos anticuerpos contra los virus comunes (hCoV-OC43, hCoV-229E, hCoV-HKU1 y hCoV-NL63); sin embargo, las personas se sigue infectando con estos virus todos los inviernos. Hay datos limitados que expliquen el modo en que esto sucede, lo que reconocen realmente los anticuerpos en nuestra sangre de estos virus, el motivo por el cual los anticuerpos naturales no nos protegen, el modo en que mutan los coronavirus estacionales cada año y el motivo por el cual surgen en invierno pero no en verano.

En los análisis de las respuestas de anticuerpos en personas expuestas al MERS-CoV, los kits comerciales de ELISA por lo general demostraron buena especificidad pero poca sensibilidad en comparación con un análisis de valor por neutralización/reducción de placas usado en un laboratorio de investigación.<sup>14</sup> Será clave establecer estándares con alta sensibilidad y especificidad, que acepten y sigan todos los laboratorios a fin de determinar la exposición real al SARS-CoV-2 y la inmunidad potencial, y para obtener resultados validados. Además, en el caso del MERS, como con el SARS-CoV-2 (ver arriba), a menudo se encuentran niveles altos de anticuerpos y de virus en el mismo paciente.<sup>15</sup> Pueden ser útiles las mediciones de las respuestas de linfocitos T al SARS-CoV-2 como complemento de los análisis con anticuerpos, de la misma manera que con el MERS-CoV.<sup>16</sup>

## DETERMINACIÓN DE LA INFECTIVIDAD

Las pruebas moleculares actuales para detectar ARN no determinan si hay virus viable en la muestra. Por ejemplo, se pueden encontrar niveles altos de ARN viral en muestras de materia fecal, pero por lo general, el virus infeccioso no se aísla de estas muestras.<sup>17 18 19</sup> Algunos tipos de

<sup>14</sup> Alshukairi et al. 2018. High prevalence of MERS-CoV infection in camel workers in Saudi Arabia. *mBio* 9(5):e01985-18. DOI: 10.1128/mBio.01985-18.

<sup>15</sup> Corman et al. 2016. Viral shedding and antibody response in 37 patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Clinical Infectious Diseases* 62(4):477-483. DOI: 10.1093/cid/civ951.

<sup>16</sup> Zhao et al. 2017. Recovery from the Middle East respiratory syndrome is associated with antibody and T cell responses. *Science Immunology* 2:eaan5393. DOI: 10.1126/sciimmunol.aan5393.

<sup>17</sup> Wolfel et al. 2020. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>.

<sup>18</sup> Mayhew et al. 2020. A generalizable 29-mRNA neural-network classifier for acute bacterial and viral infections. *Nature Communications* 11:1177. <https://www.nature.com/articles/s41467-020-14975-w> (accessed April 4, 2020).

<sup>19</sup> Warsinske et al. 2019. Host-response-based gene signatures for tuberculosis diagnosis: A systematic comparison of 16 signatures. *PLOS Medicine* 16(4):e1002786. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002786.<sup>20</sup> Blanco-Melo et al. 2020. SARS-CoV-2 launches a unique transcriptional signature from in vitro, ex vivo, and in vivo systems. <https://doi.org/10.1101/2020.03.24.004655>.

intermediarios de ARN viral pueden ser indicadores de replicación activa en la muestra o proximal a la muestra. Estos ARN se producen durante el ciclo de vida viral en una célula humana pero no se incorporan en la partícula del virus maduro; por lo tanto, la presencia de estos ARN indica una replicación activa, más que un virus viable montado anteriormente. La identificación y el desarrollo de análisis para estos intermediarios de ARN replicante no empaquetados pueden ser de utilidad clínica para predecir una mayor probabilidad de presencia de un virus infeccioso. Las pruebas de detección de virus basadas en proteínas tienen más probabilidades de ser superiores para detectar la infectividad que las pruebas genómicas, ya que las proteínas se degradan más rápidamente que el ARN viral.

## NECESIDADES DE INVESTIGACIÓN

Hay varias necesidades importantes no satisfechas, algunas de las cuales en estos momentos son objeto de investigaciones en curso.

- Sería de mucha utilidad contar con una prueba que identifique a las personas infectadas antes de que sean sintomáticas y antes de que propaguen el virus y contagien a otras personas. Un enfoque prometedor es identificar los genes humanos que se expresan de manera temprana en la infección, quizás en sangre o saliva, con cierta especificidad para la infección en cuestión. En trabajos sobre varias clases de infecciones virales y bacterianas, se sugiere que esto puede ser posible,<sup>18,19</sup> y se han comenzado trabajos preliminares sobre el SARS-CoV-2.<sup>20</sup>
- Una cartografía integral de la especificidad del anticuerpo durante el desarrollo de la infección por SARS-CoV-2 (es decir, un estudio de la reactividad y la función del anticuerpo) ayudaría en gran medida a comprender la variabilidad en el resultado de la infección en diferentes personas, el riesgo de estratificación, la relación de perfiles de anticuerpos preexistentes con el resultado del SARS-CoV-2 y la identificación de antígenos óptimos para vacunas. En una interesante preimpresión de Khan et al., se explica la creación de una micromatriz con 67 antígenos de todos los coronavirus conocidos y otros virus respiratorios conocidos, que ayudará a aclarar si los anticuerpos basales contra el coronavirus podrían influir en la evolución clínica de la COVID-19 y ayudar a explicar la evolución de la respuesta inmunitaria durante el desarrollo de la infección por SARS-CoV-2.<sup>21</sup> Ya existe otra tecnología de identificación de anticuerpos más integral que espera su aplicación a muestras de suero de pacientes con COVID-19.<sup>22</sup>
- Se necesita con urgencia contar con estudios longitudinales bien controlados ya que pueden determinar las relaciones entre los diferentes tipos de anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2 y la probabilidad de que una persona se vuelva a infectar. Un objetivo fundamental es identificar anticuerpos que neutralicen y bloqueen la infección viral por SARS-CoV-2, así como determinar qué cantidad de anticuerpo neutralizante se necesita para generar protección. Como nota técnica, una identificación adecuada de anticuerpos neutralizantes requerirá no solo de virus pseudotipados con los

<sup>20</sup> Blanco-Melo et al. 2020. SARS-CoV-2 launches a unique transcriptional signature from in vitro, ex vivo, and in vivo systems. <https://doi.org/10.1101/2020.03.24.004655>.

<sup>21</sup> Khan et al. 2020. Analysis of serological cross-reactivity between common human coronaviruses and SARS-CoV-2 using coronavirus antigen microarray. <https://doi.org/10.1101/2020.03.24.006544>.

<sup>22</sup> Xu et al. 2015. Comprehensive serological profiling of human populations using a synthetic human virome. *Science* 348(6239):aaa0698. DOI: 10.1126/science.aaa0698.

correspondientes epítomos, sino también de cepas aisladas nuevas del SARS-CoV-2.

## **RESUMEN**

Los dos tipos generales de pruebas de diagnóstico, una para detectar ARN viral y la otra para detectar anticuerpos humanos dirigidos contra el virus, proporcionan un conjunto definido de beneficios y debilidades. La detección de ARN viral generalmente indica una infección activa en curso e indica infecciosidad para otros, en particular al inicio de la infección, aunque la persistencia de ARN viral detectable semanas después de la infección ya no puede equipararse a un virus capaz de causar infección. Las pruebas de anticuerpos proporcionan evidencia de exposición anterior y posible inmunidad; sin embargo, no se ha establecido la relación entre anticuerpo y protección para este virus. Ambos tipos de pruebas requerirán una validación adecuada y estudios longitudinales nuevos de personas infectadas antes de que puedan interpretarse correctamente.

Mis colegas y yo esperamos que estos aportes le resulten útiles para seguir orientando la respuesta del país en esta crisis de salud pública que estamos transitando.

Atentamente.

David A. Relman, M.D.

Miembro

Comité Permanente sobre Enfermedades Infecciosas Emergentes y Amenazas a la Salud del Siglo XXI

## **APÉNDICE**

### **Autores y revisores de esta consulta rápida a expertos**

Esta consulta rápida a expertos fue preparada por personal de las Academias Nacionales de Ciencias, Ingeniería y Medicina y miembros del Comité Permanente sobre Enfermedades Infecciosas Emergentes y Amenazas a la Salud del Siglo XXI de las Academias Nacionales: Kristian Andersen, The Scripps Research Institute; David Relman, Stanford University y David Walt, Brigham and Women's Hospital y Harvard Medical School.

Harvey Fineberg, presidente del Comité Permanente, aprobó este documento. Las siguientes personas participaron como revisores: Jim Chappell, Vanderbilt University Medical Center; Mark Denison, Vanderbilt University Medical Center; Michael Diamond, Washington University; Matthew Frieman, University of Maryland School of Medicine; Linsey Marr, Virginia Tech; Michael Osterholm, University of Minnesota y Stanley Perlman, University of Iowa. Ellen Wright Clayton, Vanderbilt University Medical Center, y Susan Curry, University of Iowa, participaron como árbitros de esta revisión en nombre del Comité de Revisión de Informes y su División de Salud y Medicina de las Academias Nacionales.