INFORME SOBRE ESTRATEGIA DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DEL COVID-19

Madrid 31 de marzo de 2020

Estrategia diagnóstica actual. La técnica de PCR

El diagnóstico microbiológico del COVID-19 se ha basado hasta ahora en todo el mundo, en la detección del material genético (**ARN**) **viral del SARS-CoV-2** mediante técnicas de **PCR** (siglas de Reacción en Cadena de la Polimerasa), en muestras respiratorias (**exudado nasofaríngeo** principalmente) de pacientes con síntomas compatibles (*Procedimiento de actuación frente a la enfermedad por SARS-CoV-2. Ministerio de Sanidad*). La PCR es una técnica muy sensible y específica, que se realiza en los laboratorios de microbiología para el diagnóstico de muchas infecciones (*Documento de posicionamiento de la SEIMC sobre el diagnóstico microbiológico de COVID-19*). Por estos motivos, **actualmente la PCR es la técnica diagnóstica de referencia**.

Según los datos recopilados en las últimas semanas, los hospitales y centros sanitarios españoles están realizando **más de 15.000 PCRs al día**. Las compañías de diagnóstico han distribuido más de 200.000 reacciones de PCR en los centros sanitarios españoles en la semana 23-29 de marzo de 2020. Los **hospitales terciarios de las CCAA** con más casos realizan más de 500 PCRs diarias. El Centro Nacional de Microbiología del ISCIII realiza unas 700-900 reacciones diarias apoyando a los centros sanitarios que lo necesitan. Según datos obtenidos de los responsables de los laboratorios de hospitales en Madrid y Barcelona como La Paz, Gregorio Marañón, Fundación Jiménez Díaz, Ramón y Cajal y Clínico San Carlos, Clinic, Vall d`Hebrón y LabCap, estos laboratorios realizan entre 500-700 PCRs al día. En el País Vasco, Castilla-León y Castilla-La Mancha se hacen 1000-1500 PCRs al día en cada una de ellas. **Un indicador de gran utilidad** sería disponer de estos datos de cada una de las CCAA, por lo que **debería incluirse entre la información** que las autoridades sanitarias autonómicas **aportan** diariamente al Ministerio de Sanidad.

Las 15.000 determinaciones diarias **no implican que se analicen 15.000 nuevos casos** sospechosos cada día, ya que también se incluyen PCRs de seguimiento, de alta de enfermos y repeticiones por resultados no concluyentes.

La realización de un número tan elevado de determinaciones conlleva la necesidad de **suministrar de manera continuada no sólo los kits de PCR**, sino otros muchos materiales necesarios como **torundas** y medios de transporte para la toma de muestras, soluciones de inactivación, reactivos de **extracción** y diferentes tipos de material **plástico**. Las determinaciones analíticas con PCR tienen que ser realizadas por personal experimentado y suelen necesitar varias horas hasta obtener resultados.

No obstante, se están tomado medidas para poder **aumentar estas capacidades** de análisis de muestras por PCR. Estas medidas son:

1. **Validación clínica de kits de PCR** comerciales desarrollados por empresas **españolas**. Hasta la fecha se han validado kits de cuatro compañías españolas (GENOMICA, VIRCELL, CERTEST y GENETIC PCR SOLUTIONS). Estas empresas están produciendo 70.000 reacciones de PCR semanales y sus capacidades máximas se calculan en 600.000 reacciones semanales. Además hay kits de otras compañías españolas en fases finales de diseño que serán validados por el ISCIII en próximos días.
2. Validación clínica de **reactivos de extracción** de empresas españolas (empresa VIRCELL, en proceso de validación en el ISCIII desde el 1 de abril 2020).

3. Desarrollo de procedimientos de PCR que ahorren pasos en el procesamiento de muestras, **evitando el paso de la extracción** de ácidos nucleicos (validándose el procedimiento en el ISCIII el 2 de abril de 2020).
4. **Capacitación** de **centros** de **investigación y universidades** como laboratorios de apoyo de análisis de muestras clínicas con COVID-19. Hasta la fecha tres centros ya están en activo (Universidad Complutense de Madrid, Universidad de Alcalá de Henares y el Centro de Investigaciones en Sanidad Animal (CISA) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA). Otros cinco centros universitarios y de investigación están en fases avanzadas de capacitación y podrían activarse en próximas fechas.

Por las razones expuestas en los párrafos precedentes, e independientemente de que se consigan aumentar significativamente las capacidades para realizar más análisis de PCR, la utilización de **tests rápidos** de detección del COVID-19 **aumentaría** las **capacidades** diagnósticas del Sistema Nacional de Salud. Las pruebas rápidas de detección del COVID-19 permiten obtener resultados en 15 minutos y tienen un formato que el personal sanitario puede realizar con facilidad.

Test rápidos de detección del COVID-19. ¿Qué son?

Hasta la fecha se han comercializado más de **70 técnicas comerciales** en formato de test rápido de detección de COVID-19. La mayor parte utiliza la técnica de **inmunocromatografía** de difusión (lateral-flow) marcada con oro coloidal en pequeños kits para hacer las determinaciones individualmente. Existen dos modalidades de inmunocromatografía, las que **detectan antígenos y las de anticuerpos**, siendo estas últimas las más comunes (90% de las comercializadas).

Los **antígenos** son componentes del virus, generalmente proteínas, y suelen detectarse en los primeros días de infección cuando el virus se encuentra en las vías respiratorias altas. Las técnicas de **anticuerpos** detectan la respuesta inmune de los pacientes y aumentan según avanza la infección, por lo son detectables más tardíamente, cuando la infección está más avanzada.

Todas estas técnicas rápidas para el **diagnóstico del COVID-19** han obtenido las diferentes **certificaciones** necesarias para ser utilizadas como técnicas de diagnóstico clínico, incluyendo el marcado CE, que obliga a realizar estudios de **validación clínica**. En estos estudios de validación se han utilizado como resultados de referencia los obtenidos por PCR. Con estos resultados como comparador, los fabricantes de casi todas las técnicas rápidas declaran en su documentación unos porcentajes de sensibilidad por **encima del 80% y los de especificidad superan el 95%**.

Fiabilidad de las técnicas rápidas de COVID-19

En este momento **no se dispone de experiencia** a nivel internacional que pueda resultar de utilidad para la toma de decisiones con respecto a la utilización de técnicas de diagnóstico rápido. En China y Corea del Sur no se utilizaron masivamente, ya que se estaba desarrollando en los momentos más críticos de la pandemia. En ambos países, la estrategia de diagnóstico microbiológico que se desplegó, se sustentó en **la realización de PCR, la técnica de referencia**. En China en un elevado número de casos moderados y graves, el diagnóstico se sustentó en datos clínicos y radiológicos, considerándose que ante la alta prevalencia no era imprescindible

la confirmación microbiológica. En Corea se utilizó un sistema de obtención de muestras rápido ("drive-throug") pero la muestras se analizaron utilizando PCR.

Apenas existen **publicaciones** científicas que avalen su utilización. Los estudios publicadas en revistas médicas reportan datos que indican que alrededor de un 50-60% de los enfermos tienen anticuerpos detectables en la primera semana de infección, ascendiendo a más del 90% tras unos 10 días de infección y a casi el 100% tras dos semanas del contagio. Sobre las técnicas de antígenos hay menos información.

Estudios de fiabilidad de las técnicas rápidas de detección del COVID

Las técnicas rápidas también tienen **limitaciones** por lo que se ha observado cuando se han desarrollado para otras infecciones. Las técnicas de detección de antígenos disponibles para otras infecciones respiratorias virales (gripe, adenovirus, etc.) tienen una **sensibilidad variable** (40-60 % en muchos casos), y suelen ser más útiles en las primeras fases de la infección, cuando pueden detectarse proteínas y otros componentes virales en muestras respiratorias de pacientes con síntomas catarrales. Las de detección de anticuerpos son más útiles en fases más avanzadas de la enfermedad, cuando se generan en el cuerpo humano anticuerpos como respuesta a la infección.

Por ello, el Instituto de Salud Carlos III y varios hospitales del SNS están realizando **estudios de fiabilidad de las técnicas diagnósticas rápidas de COVID-19** que han llegado a España adquiridas o donadas al Ministerio de Sanidad y las CCAA.

Hasta la fecha se han realizado estudios de fiabilidad con **cinco técnicas rápidas** de COVID-19.

Los resultados más significativos se resumen a continuación:

1. Todas las técnicas evaluadas tienen **licencia para diagnóstico clínico**, marcado CE y sensibilidad >83% y especificidad >95%, según estudios presentados por fabricantes
2. Se han evaluado hasta ahora **dos** técnicas de detección de **antígenos** y **3** de **anticuerpos**.
3. Los estudios de fiabilidad se realizan:
    a. Antígenos: en muestras respiratorias de pacientes con síntomas de COVID. Se toman dos hisopos y con uno se hace la determinación de antígeno y con el otro la PCR.
    b. Anticuerpos: muestras sanguíneas con PCR COVID positiva y controles negativos con sueros conservados y extraídos antes del 8 de diciembre de 2019.
4. La **tabla** muestra los resultados más destacados de los estudios de fiabilidad:

TABLA. Resumen de resultados

TÉCNICA	FABRICANTE	DATOS SEGUN MARCADO CE	ESTUDIO DE FIABILIDAD	DATOS SOBRE ESTUDIO FIABILIDAD
2019-nCoV Ag GICA Rapid Test	BIOEASY	83% S, 100% ESP	S: 25% ESP: 100%	Estudio ISCIII
2019-nCoV Ag Test Fluorescence IC Assay	BIOEASY	92% S, 100% ESP	S: 58% ESP: 97%	Estudio Clínico Madrid, G Marañón y La Paz

COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Cassette	ZHEJIANG ORIENT GENE BIOTECH	88% S, 97% ESP	S: 58% ESP: 100%	Estudio Hospital de Toledo
2019-nCoV IgG/IgM Rapid Test Cassette	HANGZHOU ALL TEST BIOTECH CO LTD	100% S, 97% ESP	S: 56,5% ESP: 100% (S >75% en pacientes con >7 días de evolución)	Estudio Clínico de Madrid y Ramón y Cajal
SARS-CoV-2 Antibody Test	GUANGZHOU WONDFO BIOTECH CO LTD	100% S, 90% ESP	S: 64% ESP: 100% (S >80% en pacientes con >7 días de evolución)	Estudio la Princesa, Ramón y Cajal y Hospital Clínico

5. Con estos datos el **valor predictivo positivo de todas las técnicas rápidas es >95%**.

Interpretación de estos resultados

1. La sensibilidad de los tests de **antígenos podría ser inferior** a la de anticuerpos, sobre todo en fases avanzadas de la infección, lo que es similar a lo observado en otras infecciones virales, donde los test de antígenos son de utilidad diagnóstica limitada.
2. Las técnicas de detección de **antígeno** deben hacerse en no más de 30 minutos desde que se toma la muestra, por lo que deberían situarse en formato point-of-care (POC) en servicios de urgencia, lo que **resulta complicado en muchos centros sanitarios**.
3. En lo que se refiere a las técnicas de **detección de anticuerpos**, ya sean IgM e IgG por separado o de detección de anticuerpos totales debe indicarse:
    a. Aunque la sensibilidad en nuestro medio es inferior a la reportada previamente, la pruebas rápidas **detectan con rapidez un porcentaje significativo** de casos.
    b. Esta sensibilidad media más baja se debe a que gran parte de los enfermos con un resultado negativo **no habrán producido anticuerpos** con un título suficiente para ser detectado.
    c. En pacientes que llevan **más de 7 días de evolución** de COVID-19, la sensibilidad de la detección de anticuerpos **asciende a más de 75%.**

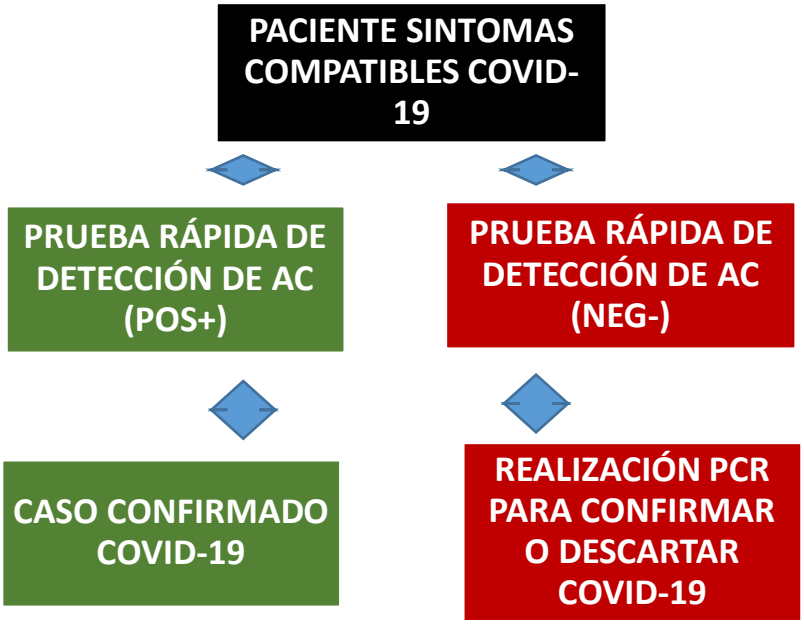
Propuesta de estrategia

Tras lo expuesto en los apartados anteriores se propone lo siguiente:

1. Las técnicas rápidas de detección de anticuerpos, aquellas con sensibilidad alrededor del 60% o superior, podrían emplearse como **prueba de cribado rápido** en pacientes sintomáticos en áreas/centros/situaciones de alta prevalencia de COVID-19:
    a. Un resultado positivo confirmaría la infección.
    b. Los resultados negativos habría que confirmarlos realizando PCR en muestras respiratorias del paciente.
    c. Esta estrategia reduciría el número total de PCR diarias a realizar en los hospitales.
    d. Las técnicas de detección de anticuerpos pueden realizarse en los laboratorios de microbiología, tras recoger la muestra en unidades de extracción de sangre,

sin alterar el funcionamiento hospitalario habitual. Se pueden utilizar muestras de sangre, suero o plasma. Varios fabricantes recomiendan hacer la prueba inmediatamente después de la extracción de la muestra.

FIGURA. Propuesta de algoritmo diagnóstico



2. Utilizando estas técnicas con una sensibilidad media del 60%, **el porcentaje de PCRs que podrían no hacerse tras obtener un resultado positivo con la técnica rápida sería significativo** y dependería de la frecuencia de COVID-19 en la población:
    a. Los hospitales de las CCAA con mayor número de casos están comunicando resultados positivos de PCR entre 50-80% de los casos sospechosos de COVID-19 analizados diariamente.
    b. Con una sensibilidad de la técnica rápida de detección de anticuerpos alrededor del 60% **se ahorrarían un 36-48% de PCRs cada día**, en estos escenarios de alta prevalencia.
    c. En pacientes con enfermedad **más evolucionada**, donde la sensibilidad de la detección de anticuerpos **supera el 75%,** se podría reducir un 60% la necesidad de PCR.
    d. En poblaciones en las que la frecuencia de la enfermedad es inferior, como **CCAA con menor prevalencia**, grupos de personas aisladas en **residencias de ancianos**, **personal** de servicios **esenciales** y **sanitarios**, la utilidad diagnóstica de la detección de anticuerpos sería inferior y la PCR seguiría jugando un papel fundamental.
    e. Además las técnicas rápidas de detección de anticuerpos podrían tener un uso adicional que es ayudar **a confirmar casos compatibles con COVID-19 con resultados de PCR repetidamente negativos**.
3. Las técnicas de detección de **anticuerpos tienen además** otro papel, que es poder detectar anticuerpos en población que ya ha superado la enfermedad y por tanto:
    a. Detectar personas supuestamente **inmunes** que podrían reiniciar sus labores profesionales.

   b. Pacientes **recuperados** a los que se les puede extraer **plasma** para tratamiento de nuevos casos.
   c. Estudios de **seroprevalencia**.
   d. Estudios de respuesta **vacunal**, cuando existan estas vacunas.
4. Por último, las técnicas de detección de **antígeno** podrían emplearse en aquellos casos que superen el 60% de sensibilidad y sólo en aquellos centros que tengan la posibilidad de crear POCs sin alterar el funcionamiento del hospital.

INFORME EMITIDO POR

Prof. Manuel Cuenca Estrella

Subdirector General del ISCIII