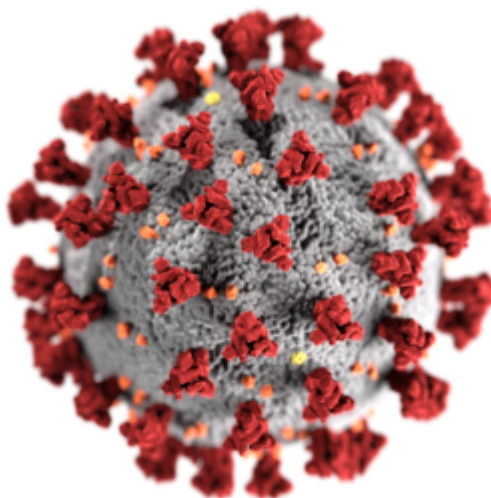
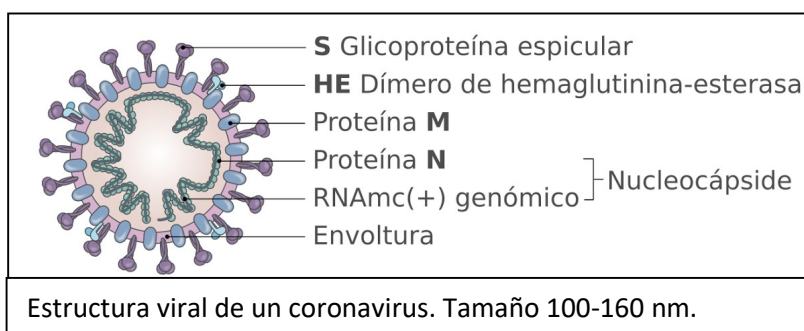


GUÍA RÁPIDA: Pruebas diagnósticas en la detección de
infección por SARS-CoV-2



1.- El SARS-CoV-2.

El virus SARS-CoV-2 es un virus perteneciente a la subfamilia *Orthocoronavirinae* o coronavirus y responsable de la enfermedad COVID-19. Los virus de este grupo están formados por una nucleocápside compuesta por ARN monocatenario empaquetado gracias a la proteína N y una envoltura que presenta unas espigas proteicas (proteína S) en forma de corona y de donde reciben su nombre. Esta estructura en forma de espigas es la que utiliza el virus para adherirse a la célula huésped. El virus también cuenta con otras proteínas necesarias para los procesos de infección y replicación viral.



Hasta la fecha han sido identificados y aislados siete coronavirus circulando entre los humanos de un total de una cuarentena de virus conocidos pertenecientes a esta subfamilia. Algunos de ellos han sido encontrados en pacientes con cuadros leves compatibles con resfriados, mientras que otros han presentado un alto nivel patogénico. De los siete virus, cinco han sido identificados ya en el siglo XXI.

Los coronavirus infectan de manera habitual a mamíferos y aves. Las infecciones en humanos constituyen casos de zoonosis, donde los virus no han saltado directamente desde el reservorio animal sino que han infectado a hospedadores intermedios antes de dar el salto a humanos. Estudios previos han identificado al murciélago como el huésped original de la mayoría de coronavirus que se han encontrado entre humanos. En el caso del SARS-CoV-1, responsable de la epidemia que comenzó en 2002 se cree que el virus saltó de la civete de las palmeras. El MERS, que surgió 10 años más tarde, saltó de los camellos siendo de todos los conocidos (incluido el SARS-CoV-2) el que mayor letalidad ha presentado. El SARS-CoV-2, del que aún no está claro el animal desde el que dio el salto a humanos, es el coronavirus humano que presenta un mayor índice de transmisibilidad.

El aumento de la interacción humana con los animales en todo el mundo incrementa significativamente el riesgo de zoonosis. Los estudios sobre los virus animales permiten conocer cómo mutan y se propagan a otras especies y facilitan el establecimiento de mecanismos enfocados a reducir su potencial pandémico.

Sin embargo, que los virus adquieran en un momento dado la capacidad de saltar a los humanos no quiere decir que necesariamente vayan a constituir una amenaza como la pandemia actual. En 2019, meses antes del inicio de la actual pandemia, fue publicado un estudio que identificó el salto a humanos de virus similares al SARS pero cuya evolución no provocó más que un número limitado de infecciones por lo que su transmisión se considera fallida.

2.- Dianas diagnósticas del SARS-CoV-2

Pueden identificarse tres grandes dianas en el diagnóstico del virus, a saber:

2.1.- Detección del ARN viral.

2.2.- Detección de antígenos virales: en este caso se pretende detectar cualquiera de las proteínas que conforman el virus. Para ello es necesario disponer de anticuerpos específicos frente las moléculas diana seleccionadas.

2.3.- Detección de los anticuerpos generados por el huésped frente al virus: este sistema es dependiente de la respuesta inmunitaria, que es distinta en cada cada paciente. Permite identificar una infección activa (Ig M) y pacientes que presentan inmunidad frente al virus debido a una infección pasada (Ig G). Los anticuerpos Ig M aparecen aproximadamente 7 días tras la infección y son detectados con una mayor sensibilidad en la segunda semana tras la infección (8-14 días). Los anticuerpos Ig G aparecen tras 2 ó 3 semanas desde la infección.

3.- Tecnologías empleadas en la detección del SARS-CoV-2.

3.1.- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Es la técnica de elección para el diagnóstico de COVID-19 según criterio de la OMS. Para su realización es necesario realizar una extracción del ARN viral contenido en la muestra y una retrotranscripción para obtener la secuencia complementaria de ADN. Según el método empleado el resultado puede ser cualitativo o cuantitativo.

Para la detección del SARS-CoV-2 mediante PCR se recomienda el empleo de muestra nasofaríngea, donde se obtiene un mayor rendimiento debido a una mayor concentración viral. También se puede realizar sobre otras muestras respiratorias como en orofaringe y vías bajas en infecciones graves, así como en muestras no respiratorias como sangre y orina.

Esta técnica presenta una elevada especificidad y sensibilidad. Los reactivos necesarios son de uso habitual y el diseño y fabricación de cebadores/sondas es razonablemente rápido. Frente a otras técnicas presenta un elevado coste por determinación y el tiempo hasta la obtención del resultado es relativamente largo.

Existen test rápidos basados en la PCR en fase de diseño, y la agencia americana ha aprobado un test rápido que ofrece resultados en 45 minutos.

3.2.- Detección de antígenos virales.

Existen multitud de técnicas que son útiles en la detección tanto de antígenos virales como de los anticuerpos desarrollados por el huésped frente al virus. Algunas de estas técnicas, basadas en la reacción antígeno-anticuerpo, son los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA), inmunocromatografía, inmunofluorescencia, métodos luminométricos y técnicas de aglutinación.

El objetivo es la detección de proteínas virales específicas, como la proteína N o las proteínas que conforman la cápside viral.

Estos métodos tienen una baja especificidad y no cuentan con la aprobación de ninguna agencia. Un resultado positivo significa que existe replicación viral activa.

Aunque no es bien conocida cual es la localización óptima de la toma de muestras para la detección de antígenos virales, generalmente se emplea muestras de origen nasoro-faríngeo y esputo.

3.3.- Detección de anticuerpos.

Con una sensibilidad y especificidad cercanas al 90%, la detección de anticuerpos presenta como posible complicación resultados falsos positivos debido a reacciones cruzadas con anticuerpos frente a virus similares. Aunque hay pacientes que en los primeros días de la infección ya presentan una elevación del título de anticuerpos, no es hasta la segunda semana cuando el 90% de los pacientes tuvieron una determinación positiva mediante ELISA.

Diversos estudios han comparado el rendimiento diagnóstico de las pruebas serológicas con la PCR, siendo mayor en las primeras en aquellos pacientes que ha transcurrido más de una semana desde el inicio de los síntomas. De igual manera, se ha visto que la combinación de ambas determinaciones aumenta la sensibilidad en el diagnóstico de COVID-19. Los estudios serológicos se realizan en sangre extraída mediante venopunción o bien sangre capilar en el caso de los test rápidos.

3.4.- Biosensores y nanobiomedicina.

La repentina epidemia provocada por el SARS-CoV-2 ha supuesto un reto para todo el sistema sanitario y a los laboratorios asistenciales de forma especial. Desde el punto de vista diagnóstico, los laboratorios se han enfrentado a diversos contratiempos como son:

- La falta de reactivos.
- La urgencia clínica en el diagnóstico.
- El incremento repentino de determinaciones solicitadas.
- La falta de sensibilidad de algunos métodos.

En este tiempo han surgido muy diversos trabajos que buscan poner a disposición de los equipos asistenciales métodos técnicos que permitan no interrumpir el flujo de trabajo asistencial, recortando los tiempos en obtención de resultados y mejorando la sensibilidad de las técnicas disponibles.

Los dispositivos biosensores presentan un gran potencial dentro del espectro de las tecnologías en desarrollo. Diseñados como dispositivos autónomos que permiten un uso descentralizado, su funcionamiento se basa en la identificación de una o múltiples moléculas diana por medio de biosensores inmovilizados. La unión entre la molécula y el biosensor genera cambios físico-químicos detectados por un transductor y cuya señal es procesada para emitir un resultado cuantitativo.

Este tipo de tecnología puede ser empleada para realizar estudios genómicos e inmunológicos, entre otros.

4.- Interpretación diagnóstica de los resultados de laboratorio.

Ni todas las dianas ni todas las tecnologías pueden ser empleadas indistintamente. En función del objetivo, de la urgencia diagnóstica y del contexto (entorno hospitalario, residencias, atención primaria, etc.) se emplearán unos u otros. Por ejemplo, los test rápidos tienen la ventaja de que se pueden emplear en cualquier entorno, sin necesidad de equipamiento especial ni de personal especializado. Su uso puede ser oportuno en residencias y centros de atención primaria o cuando se requiere de un resultado urgente. Sin embargo, esta metodología carece de la sensibilidad de otras técnicas desarrolladas en el laboratorio por lo que estas últimas serán utilizadas cuando se requiera de un diagnóstico confirmatorio o cuando hay discrepancia entre los primeros y la clínica que presenta el paciente.

La OMS ha establecido la PCR como la técnica diagnóstica de referencia y recomienda utilizar las determinaciones inmunológicas para estudios epidemiológicos e investigación. El empleo de técnicas genómicas en el diagnóstico de COVID-19 ofrecen una fotografía del momento actual. Aquellos pacientes con un resultado positivo presentan una infección activa por el virus SARS-CoV-2 mientras que un resultado negativo indica ausencia de virus. Las técnicas inmunológicas ofrecen un resultado indicativo de la evolución del paciente, donde un resultado positivo para IgM indica enfermedad avanzada por COVID-19 y un resultado positivo para IgG indica que el paciente ha estado infectado por el virus y se ha recuperado.

Diversos estudios sugieren que el estudio serológico del paciente junto a la PCR aumenta la sensibilidad diagnóstica. El empleo de ambas determinaciones ofrece una perspectiva completa sobre el estado de salud del paciente: si presenta una infección actual o pasada, fase de la infección y estado inmunitario frente al virus. La siguiente tabla reproduce la interpretación clínica de los resultados combinados de PCR y serología.

PCR	IgM	IgG	Significado clínico
-	-	-	Negativo.
+	-	-	Fase precoz de la infección.
+	+	-	Fase aguda.
+	+	+	Fase aguda (> 2 semanas).
+	-	+	Fase final de la infección.
-	+	-	Fase temprana con falsos negativos. PCR de confirmación.
-	-	+	Infección pasada.
-	+	+	Enfermedad en evolución. PCR de confirmación.