



PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO DE COVID-19

Mamiko Onoda, María José Martínez Chamorro. Grupo de Patología Infecciosa de la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria. Abril de 2020. Pruebas diagnósticas de laboratorio de COVID-19. Disponible en: [<https://aepap.org/grupos/grupo-de-Patologiainfecciosa/contenido/documentos-del-gpi>]

El diagnóstico microbiológico del SARS-CoV-2, agente de COVID-19 (enfermedad por el nuevo coronavirus de 2019) es importante tanto para el manejo de la enfermedad individual como de la actual pandemia. Si bien el procedimiento de elección es la PCR, también es necesario disponer de pruebas rápidas, simples e idealmente con alta sensibilidad y precisión y que se puedan realizar a gran escala. El objetivo es un diagnóstico precoz, para un mejor manejo (aislamiento y tratamiento si es necesario) y monitorización de los pacientes, la aplicación de medidas de prevención y control de la expansión y la vigilancia epidemiológica.

Hay tres tipos de pruebas para el diagnóstico de laboratorio del SARS-CoV-2¹:

1. **Pruebas de detección de ácidos nucleicos** (reacción en cadena de la polimerasa o **PCR**).
2. **Pruebas de detección de antígeno.**
3. **Pruebas de detección de anticuerpos (IgG, IgM).**

Los test con control de calidad deben contar con documentación de certificación técnica y datos de evaluación externa. Desde el inicio del brote de COVID-19 en Wuhan, con la propagación del virus a nivel mundial, hay y siguen desarrollándose con gran rapidez numerosos test rápidos que no siempre cuentan con una validación externa, estando disponible solamente la información proporcionada por los fabricantes. Incluso en algunos test marcados con CE (marcado CE o Conformidad Europea es el proceso mediante el cual el fabricante/importador informa a los usuarios y autoridades competentes de que el equipo comercializado cumple con la legislación obligatoria en materia de requisitos esenciales) el rendimiento en laboratorios externos puede ser diferente del ofrecido por el fabricante. Este documento está basado en los conocimientos actuales, limitados y que evolucionan con gran rapidez. Será necesario actualizar la información a medida haya más test disponibles y evidencias sobre su utilidad.

1. PRUEBAS DE DETECCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEÍCOS: REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

¿Qué detectan?

La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en (RT-PCR o qRT-PCR si es cuantificada en tiempo real) es una técnica molecular de detección y amplificación de ácidos nucleicos, es decir de material genético, ARN, del SARS-CoV-2 en distintas muestras biológicas clínicas. En la actualidad es la técnica de referencia y de elección para el diagnóstico de COVID-19².

¿En qué muestras se realiza?

Se han obtenido resultados positivos de la RT-PCR para SARS-CoV-2 tanto en muestras respiratorias como no respiratorias: orina, heces, incluso en sangre³. Las muestras más utilizadas para el diagnóstico de COVID-19 son las nasofaríngeas y orofaríngeas. Las que ofrecen más rendimiento son las nasofaríngeas (positividad 63% y 32% respectivamente en un estudio con pocas muestras nasofaríngeas³) y son las que recomienda el CDC⁴ aunque las orofaríngeas también son válidas y son las que más se usaron en China. La OMS⁵ recomienda muestras nasofaríngea y orofaríngea en el mismo tubo para aumentar la carga viral. En infecciones graves se pueden recoger muestras de vías respiratorias bajas, esputo (si hay expectoración) o de aspirado endotraqueal o bronquial y lavado broncoalveolar, en las que se puede encontrar positividad hasta al cabo de 3 semanas tras el inicio de la enfermedad. Si bien se ha detectado ARN viral en orina y heces, aún no se ha podido determinar si implica la presencia de virus viables y por lo tanto cuál es su papel en la transmisión de la infección, aunque se cree que es menor que por vía respiratoria.

Para no perder precisión en el diagnóstico es necesario que todos los pasos del proceso de las muestras (recogida, transporte, almacenamiento y procesamiento) sean correctos y que el personal sanitario encargado de realizar cada uno reciba un entrenamiento y formación continuados.

¿Cómo debe realizarse la prueba?

Técnica de recogida de la muestra nasofaríngea

Los hisopos nasofaríngeos son más estrechos y flexibles que los orofaríngeos. Las torundas deben ser de dacrón o poliéster. El hisopo se introduce en una de las fosas nasales y se desplaza por el suelo de la cavidad nasal siguiendo el tabique hasta la nasofaringe, hasta la muesca de seguridad, sin forzar si se encuentra resistencia. Se gira la torunda con suavidad durante 5-10 segundos. A continuación, se debe introducir el hisopo en un medio de transporte adecuado, para virus o universal, romper el mango del hisopo por la muesca y cerrar el tapón, a no ser que se vaya a usar de forma inmediata en un test rápido. Las muestras se embalan en contenedores

homologados bajo normativa de "Sustancia biológica clase B (UN3373) y se transportan en frío, a 4°C^{4,5,6}.

Medidas de seguridad para recoger las muestras

La recogida de las muestras se debe realizar según las recomendaciones oficiales de la OMS y el Ministerio de Sanidad (https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/Procedimiento_COVID_19.pdf) con un equipo de protección individual (EPI) para la prevención de infección por microorganismos transmitidos por gotas y por contacto que incluya bata impermeable a fluidos, mascarilla FFP2, guantes y protección ocular (gafas o pantalla facial). La recogida de muestras de vías bajas genera aerosoles por lo que es elevado el riesgo de contagio y debe realizarse con la protección y medidas adecuadas⁵ (además de la misma protección que para la recogida de muestras respiratorias de vías altas, se deben realizar en una habitación adecuadamente ventilada: como mínimo, ventilación natural con un flujo de aire de al menos 160 litros/segundo por paciente, o habitaciones de presión negativa con al menos 12 cambios de aire por hora)⁵.

Técnica de realización de la RT-PCR

La RT-PCR se realiza en laboratorios de Microbiología clínica, necesita personal experto en Microbiología molecular y medidas de bioseguridad. La muestra debe ser en primer lugar inactivada. La PCR es una técnica utilizada para amplificar secuencias de ADN^{7,8}. Consta de dos fases: extracción y amplificación de los ácidos nucleicos. El ARN es monocatenario y muy inestable por lo que primero debe transcribirse de forma inversa en ADN complementario (ADNc) utilizando una transcriptasa inversa. A partir de aquí, se utiliza el procedimiento de PCR convencional para amplificar el ADNc. Se utilizan secuencias cortas de ADNc, cebadores o *primers*, para seleccionar la parte del genoma a amplificar. La temperatura de la muestra se sube y se baja repetidamente para ayudar a la ADN polimerasa a duplicar la secuencia del ADN que está siendo copiada. Con esta técnica se producen millones de copias de la secuencia estudiada en unas horas. Lo ideal es que ambos procesos estén automatizados para aumentar la rapidez y evitar errores. En la actualidad el resultado de las pruebas está disponible desde unas horas a varios días. Otra ventaja de la PCR en el momento actual, con existencia de muchos casos, es que permite procesar simultáneamente un elevado número de muestras¹.

Los genes diana más usados para la detección de SARS-CoV-2 son el **gen E** (recomendado por la OMS como screening de primera línea²), el **gen RdRp**, para estudio de confirmación y el **gen N** para estudio adicional de confirmación. Otro gen usado es el **Orf1ab**. Para el diagnóstico de confirmación en zonas sin circulación del virus COVID-19 se necesita la positividad frente a dos genes distintos de COVID-19, uno de ellos específico del mismo, o positividad frente a un betacoronavirus más una identificación al menos parcial del genoma del virus COVID-19. En zonas de

transmisión comunitaria como nuestro país en la actualidad, se considera suficiente la positividad de la rRT-PCR para un único gen que sea discriminatorio² de COVID-19.

¿Cuándo debe realizarse la prueba?

El periodo de incubación del SARS-CoV-2 es alrededor de 5-6 días (rango intercuartil [RIC] 2-11 días)⁹. La mediana del periodo entre el inicio de los síntomas y el ingreso hospitalario son unos 7 días (RIC 4-8 días). La mediana del periodo de duración de los síntomas es alrededor de 13-16 días (RIC 5-24 días), algo más largo en pacientes con enfermedad grave. La carga viral en nariz y faringe va ascendiendo desde el momento de la infección (inicio del periodo de incubación) hasta alrededor del 7º día y va disminuyendo a partir de ese día, pudiendo detectarse ARN viral tras la desaparición de los síntomas por un tiempo aún indeterminado. La RT-PCR puede detectar ARN viral desde unos días antes de la aparición de los síntomas, aumentando la probabilidad de positividad hasta ser máxima alrededor del 7º día y disminuyendo a partir de ahí hasta aproximadamente el final de la segunda semana¹⁰. Por lo tanto, en los primeros días del periodo de incubación y tras la desaparición de los síntomas la carga viral es baja y puede no ser detectada por la PCR por estar por debajo del umbral de detección.

Por otro lado, positividad no siempre significa enfermedad. La prueba puede detectar material ARN viral no viable, como sucede al final de la enfermedad.

¿Qué especificidad y sensibilidad tiene?

Es la prueba más sensible de los métodos disponibles^{2,11}. Es la técnica de referencia y de elección para el diagnóstico de COVID-19. Por ejemplo, la sensibilidad del protocolo alemán del Instituto Charité de Virología en el ensayo de la primera línea de despistaje el límite técnico de detección es 5,2 copias ARN/reacción (IC 95% 3,7-9,6), con una tasa de aciertos del 95% (o sea, una especificidad de casi el 100%) y sin reactividad cruzada con otros virus y coronavirus¹².

¿Cómo debe interpretarse?

Como se ha comentado, la PCR es la técnica de referencia para el diagnóstico de COVID-19, pero puede haber falsos negativos y falsos positivos.

Un único resultado negativo en una prueba de PCR, especialmente si se ha realizado a partir de una muestra de las vías respiratorias superiores, no excluye la posibilidad de una infección por SARS-CoV-2. Se recomienda repetir el muestreo, e incluso con una muestra de las vías respiratorias inferiores en caso de enfermedad grave o progresiva.

Falsos negativos: Pueden aparecer si¹:

- La toma de la muestra es inadecuada (cantidad escasa).

- El transporte es inadecuado (no se mantiene la cadena de frío) o con retraso.
- Hay errores pre-analíticos (mal etiquetado de la muestra).
- Hay poca eliminación de virus por el paciente por el estadio del proceso (asintomático, presintomático o postsintomático) o por la gravedad del mismo.

Falsos positivos: Pueden aparecer si¹:

- Hay error pre-analítico en el etiquetado de la muestra a lo largo del proceso
- Contaminación cruzada entre muestras durante el procesamiento¹.

La estrategia más eficiente para diagnosticar el COVID-19 en pacientes sospechosos debe combinar los hallazgos de la RT-PCR con datos clínicos y epidemiológicos (probabilidad de exposición, síntomas y signos) y la radiología torácica (la más sensible es el TAC), ya que las alteraciones radiológicas en el COVID-19 son a veces más precoces que la positividad de la RT-PCR. Como se ha comentado, se debe repetir la RT-PCR en pacientes con uno o más resultados negativos y alta sospecha de COVID-19⁹.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que un resultado positivo por otro patógeno no excluye la posibilidad de COVID-19, aunque aún no se sabe mucho sobre el significado de las coinfecciones^{2,11}.

1.1 PRUEBA RÁPIDA DE PCR

En la actualidad se encuentran en desarrollo diversos sistemas rápidos de PCR (en menos de una hora). Algunas de estas pruebas ya tienen la aprobación de la FDA y se espera en un futuro inmediato el marcado CE^{1,11}. El Ministerio de Sanidad recientemente ha aprobado un test rápido de PCR que permite realizar en determinados equipos, hasta 1.200 pruebas al día con un procedimiento automatizado.

En EEUU el Xpert Xpress SARS-CoV-2[®] (Cepheid) es el primer test de diagnóstico rápido (TDR) o *point-of-care* de rRT-PCR que ha obtenido la aprobación EUA (Autorización para Uso en Emergencias) de la FDA. Utiliza muestras nasofaríngeas y ofrece resultados en 45 minutos. Aunque no es necesario enviar las muestras al laboratorio, se ejecuta en máquinas automatizadas de las que no es fácil disponer. Y tiene el inconveniente de que solo puede procesar las muestras de una en una¹⁴.

Algunas de las pruebas rápidas de PCR en desarrollo utilizan la amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa (RT-LAMP, del inglés *reverse transcription loop-mediated isothermal amplification*), una nueva técnica de amplificación y detección de ácidos nucleicos para el diagnóstico de agentes infecciosos^{14,15}. No requiere aislamiento de RNA y se puede hacer en unos 30 minutos. Tiene las ventajas de funcionar a una temperatura constante, ser menos compleja y precisar menos energía que la PCR convencional. Incluso están en estudio TDR que

combinan la tecnología LAMP con dispositivos de papel que pueden ser integrados con una aplicación de teléfonos inteligentes¹⁵.

2 y 3. PRUEBAS RÁPIDAS BASADAS EN LA REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO

Actualmente numerosos TDR basados en la reacción antígeno-anticuerpo están en desarrollo y dentro de estas pruebas se diferencian aquellas que detectan antígeno y las que detectan anticuerpos (IgM, IgG). De forma general, son pruebas cualitativas, solo ofrecen resultado positivo o negativo.

Las principales técnicas de detección de antígeno y anticuerpos son:

- Técnicas de aglutinación indirecta o pasiva.
- Inmunofluorescencia.
- Enzimoimmunoanálisis.
- Contrainmunolectroforesis.
- Métodos luminométricos.
- Inmunocromatografía.

De éstas las más comúnmente usadas para el diagnóstico rápido de SARS-CoV-2 son los enzimoimmunoanálisis (ELISA) y sobre todo la inmunocromatografía (flujo lateral).

2. PRUEBAS DE DETECCIÓN DE ANTÍGENOS

¿Qué detectan?

La partícula viral de los coronavirus consiste en una nucleocápside formada por el genoma viral de ARN asociada a proteínas de nucleocápside (N) rodeada de una envoltura compuesta por las proteínas virales espiga (S), de envoltura (E) y de membrana (M).

Las pruebas de detección de antígenos (Ag) se basan en la detección de proteínas virales específicas de SARS-CoV-2 en la muestra, como la proteína N y las subunidades S1 o S2 de la proteína espiga.

¿Cómo y cuándo debe realizarse la prueba?

La muestra se obtiene del tracto respiratorio, generalmente de exudado nasofaríngeo u orofaríngeo, mediante un hisopo, o de esputo y se requiere una correcta recogida en el momento adecuado, como en las pruebas de PCR. Según estudios la carga viral es mayor en esputo y en nasofaringe que en orofaringe^{3,10} y se

ha visto que es más alta en la fase aguda de la infección (los primeros 7 días del inicio de la sintomatología)^{10,16-17}.

¿Qué especificidad y sensibilidad tienen?

Hay poco publicado y por el momento los resultados indican baja sensibilidad por lo que en la actualidad no están aprobados^{1,11,18-19}. Hay una empresa belga que ha desarrollado un test rápido de detección de Ag con una sensibilidad del 60%. El kit fue validado comparando resultados obtenidos por RT-PCR de 231 muestras nasofaríngeas en dos hospitales belgas (University Hospital Laboratory of Brussels y el University Hospital Laboratory of Liège)²⁰.

¿Cómo debe interpretarse?

La detección del antígeno viral implica replicación activa del virus por lo que un resultado positivo de la prueba indicaría infección actual por SARS-CoV-2. Sin embargo, aunque hay laboratorios que señalan que no hay reacción cruzada con otros coronavirus humanos y otros virus en sus pruebas, no se puede generalizar que no pueda haber falsos positivos ya que no hay estudios independientes suficientes.

Por otra parte, un resultado negativo no indica necesariamente que no haya infección ya que dada la baja sensibilidad hay posibilidad de falsos negativos. La OMS además señala que basados en la experiencia que hay con los TDR de detección de Ag para otros virus respiratorios como influenza, donde los pacientes presentan concentraciones similares de carga viral de influenza en muestras respiratorias similares a las que presentan en COVID-19, la sensibilidad de estos test puede variar entre un 34%-80%^{18,21}.

Ventajas

- Rapidez y sencillez del test. Se pueden obtener resultados en 15-20 minutos y no requiere infraestructura especializada.
- En ámbito hospitalario podría usarse como cribado en pacientes con clínica compatible para aislar y tratar de forma rápida. En caso de negativo pero clínica sugestiva se realizaría PCR.
- Valor predictivo positivo bueno: su positividad confirma el caso.

Desventajas

- Al requerir muestras del tracto respiratorio implica la exposición del personal sanitario para su recogida y riesgo de contagio.
- Se desconoce aún la localización para la obtención de muestras más rentable y el momento óptimo con mayor carga viral aunque por los estudios se propone esputo o exudado nasofaríngeo y una vez iniciado los síntomas.

- Se necesita personal entrenado para una correcta recogida de la muestra.
- Riesgo de falsos negativos por su baja sensibilidad como se ha explicado anteriormente.

3. TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS (IgM/IgG):

¿Qué detectan?

Detectan la presencia de anticuerpos IgM e IgG frente SARS-CoV-2 en una muestra de sangre, suero o plasma. Hay TDR que detectan los anticuerpos totales y otros que diferencian entre las IgM e IgG, y pueden detectar aisladamente IgG o IgM o ambas en el mismo kit.

¿Cómo debe realizarse la prueba?

Los TDR se realizan en una muestra de sangre capilar obtenida del dedo del paciente. Li et al²² (2020) comparó niveles de anticuerpos de muestras de sangre capilar con muestras de plasma y suero de sangre venosa y no detectaron diferencias en los resultados para 7 casos positivos y 3 casos control negativos.

Los kits suelen incluir casetes, una solución tampón o un diluyente, un tubo capilar o pipetas en algunos casos, y además se necesitan guantes, una lanceta, alcohol y gasas.

Procedimiento y lectura:

Se toma una muestra de sangre capilar del dedo del paciente. Se recoge la muestra con el tubo capilar (o pipeta), se coloca la muestra de sangre en el casete, se añade el tampón o diluyente y se obtiene los resultados en unos 15 minutos. Hay una banda coloreada de control que debe aparecer marcada para que la determinación sea válida. Si además aparece coloreada la línea M indica positividad de IgM, si aparece la línea de IgG, positividad de IgG y si se marcan ambas líneas, positividad de IgG e IgM.

Vídeos con la demostración de cómo realizar la prueba:

<https://www.youtube.com/watch?v=s9W5LHy4sW8>

<https://www.youtube.com/watch?v=iqPuiZiq4io>

¿Cuándo debe realizarse la prueba?

Varios estudios confirman la generación de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV-2 aunque aún no se ha determinado con exactitud cuándo comienzan a elevarse tras el inicio de la clínica y la duración de la inmunidad.

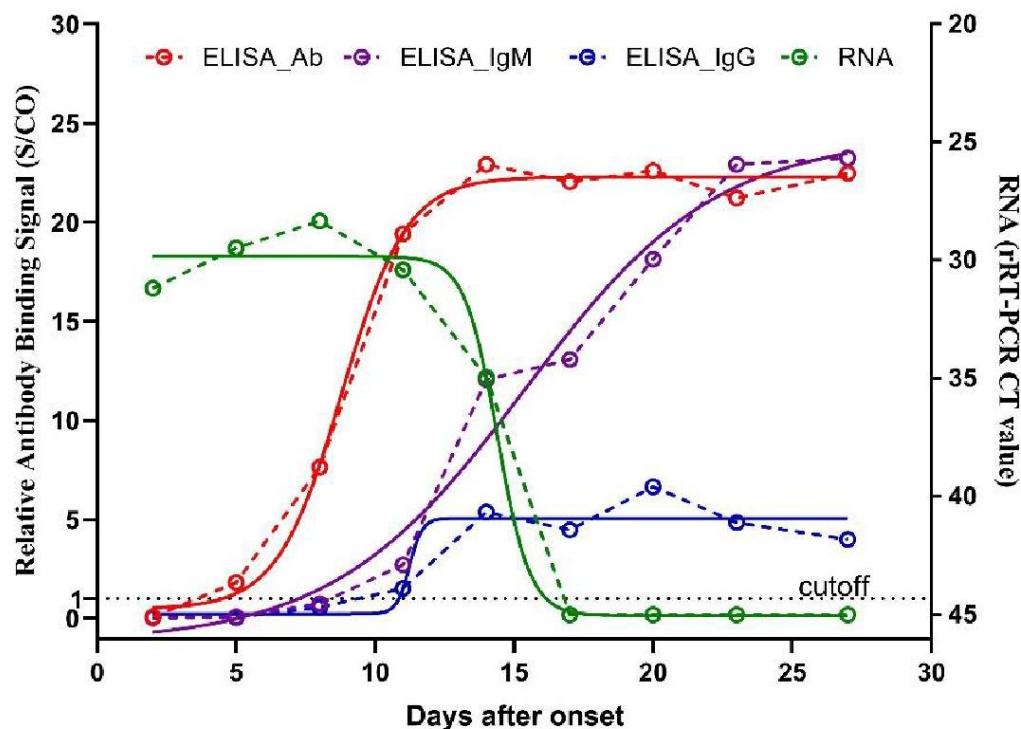
Según la Sociedad Española de Inmunología (SEI) tras la infección se generan anticuerpos de tipo IgM y aunque parece que empiezan a elevarse aproximadamente 5-7 días tras la infección, los test los detectan mejor a los 8-14 días. Pasados 15-21 días aparecen los anticuerpos de tipo IgG²³.

Guo et al²⁴ (2020) analizaron con métodos de inmunoanálisis (ELISA) 208 muestras de plasma de 82 casos confirmados por PCR y 58 casos probables. A día +1 del inicio de síntomas ya se detectaron anticuerpos en algunos pacientes. Sin embargo, en 18 de los 82 casos (22%) confirmados por PCR no se detectó IgM. De esos 18 pacientes 13 fueron analizados en los 7 primeros días del comienzo de la clínica por lo que quizás estos pacientes aun no habían desarrollado títulos detectables de IgM. El método de análisis no presentó reacción cruzada entre SARS-CoV-2 y otros coronavirus humanos. Además se estudió una familia con 2 casos y 4 contactos estrechos y se comprobó la utilidad de los anticuerpos en el diagnóstico cuando la clínica es sugerente pero PCR negativa y la existencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en pacientes asintomáticos.

Zhao et al²⁵ (2020) analizaron también los niveles de anticuerpos por ELISA en 173 pacientes. A los 7 días de iniciar la clínica sólo el 38.3% dieron positivo, elevándose al 89.3% en la segunda semana.

En ambos estudios se comparó la detección de casos por PCR y por anticuerpos y fue mayor con el uso de anticuerpos a partir de los 6-8 días tras el inicio de síntomas. Así mismo en los dos estudios se analizaron los resultados de la combinación de PCR con pruebas serológicas y se vio que aumentaba la sensibilidad en la detección de casos en diferentes fases de la enfermedad. Proponen el uso complementario de las pruebas para una mayor rentabilidad en el diagnóstico de los pacientes.

Lou et al²⁶ (2020) resume en una gráfica los resultados de su estudio sobre la detección de anticuerpos totales, de IgM e IgG, en 80 pacientes diagnosticados por PCR a lo largo del tiempo desde el inicio de los síntomas:



Dado que los títulos de anticuerpos no se detectan hasta pasado unos días del inicio de los síntomas es razonable pensar que puede ser de utilidad como diagnóstico rápido en pacientes con un tiempo medio de evolución de la clínica¹.

¿Qué especificidad y sensibilidad tiene?

Li et al²² (2020) estudian la validez del TDR que desarrollan (COVID-19 IgM/IgG Rapid Test de BioMedomics®/Jiangsu Medomics Medical Technology). Este test rápido detecta IgM e IgG a través de un ensayo de *lateral flow*. Muestran una sensibilidad total de 88.66% y especificidad de 90.63% en un estudio con 397 casos positivos confirmados con PCR y 129 controles negativos. Aunque el antígeno recombinante que se usa es específico de SARS-CoV-2 explican que no se puede descartar que den falsos positivos ante la presencia de anticuerpos formados contra otros virus respiratorios. Algunos autores estaban afiliados a la empresa.

Según el documento de "COVID-19 Science Report: Diagnostics" de NUS Saw Swee Hock School of Public Health hay otros laboratorios que han desarrollado TDR de detección de anticuerpos en los que la sensibilidad de la detección de IgM ronda entre el 85%-96% y del 98%-100% para la IgG.

¿Cómo debe interpretarse?

Un resultado positivo indicaría infección por SARS-CoV-2 ya que implica la formación de inmunidad contra ello, sin olvidar que existe la posibilidad de falsos positivos por reacción cruzada con otros coronavirus humanos y otros virus, aunque hay laboratorios que señalan que sus TDR son específicos para el SARS-CoV-2.

Tabla 1. Estado de inmunidad y momento de la infección según los resultados de la IgG y/o IgM*.

IgM	IgG	Interpretación
-	-	No infección o infección en fase muy precoz
+	-	Infección aguda
+	+	Infección aguda pero más evolucionada
-	+	Infección pasada

* Los resultados siempre se deben valorar conjuntamente con la situación clínica y epidemiológica.

Falsos negativos: Pueden aparecer si:

- Técnica inadecuada de realización del test.
- Fallos en los kits.
- Fase precoz de la infección con lo que no se han elevado aún los anticuerpos para ser detectados.

Ventajas:

- Rápido y sencillo. Resultados en 15 minutos.
- Conlleva una menor exposición al sanitario ya que se requiere una mínima cantidad de sangre capilar.
- Puede ser útil cuando el paciente ha iniciado sintomatología pero la PCR es negativa o si se sospecha que la carga viral es baja en el tracto respiratorio superior pero no es seguro recoger muestra del tracto respiratorio inferior.
- Útil para estudiar la epidemiología: casos asintomáticos, personas candidatas a la vacuna cuando la haya, personal sanitario o sociosanitario para la reincorporación al trabajo, para investigar transmisión intrafamiliar.

Desventajas:

- Hay riesgo de falsos negativos sobre todo en fases precoces de la infección y hay variabilidad en la respuesta IgM e IgG.
- Riesgo de falsos positivos si el paciente ha estado expuesto a otros coronavirus.

4. ¿CUÁL ES LA PRUEBA MÁS ADECUADA EN CADA MOMENTO?

La técnica de referencia para el diagnóstico de COVID-19 sigue siendo la PCR. A pesar de todos los TDR de detección de antígenos como de anticuerpos que se están desarrollando y usando a nivel mundial está muy discutido a día de hoy su uso como prueba diagnóstica dadas las limitaciones que tienen, sobre todo en cuanto a su sensibilidad. La última recomendación de la OMS es no usar los TDR salvo en el campo de la investigación y en el caso de los anticuerpos también para estudios epidemiológicos¹⁸.

Por el momento los TDR que está facilitando el Ministerio de Sanidad son de detección de anticuerpos totales²⁷ por lo que su uso es limitado. Pueden ser útiles para conocer si un paciente ha estado en contacto o no con el SARS-CoV-2 aunque no permite conocer en qué fase de la infección está. Si dispusiéramos de TDR que detectan tanto IgM e IgG podría usarse de forma complementaria a la PCR para una mayor sensibilidad en el diagnóstico de los pacientes tal como sugieren varios estudios^{23-25,28}.

Tabla 2. Indicaciones de tipo de test (de forma general e idealmente) según el momento, la situación clínica y algunos factores de riesgo social.

<p>➤ Fase precoz (antes de los 7-10 días de iniciar los síntomas):</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Sintomatología leve</i>: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Personal sanitario o sociosanitario: PCR. ▪ Pacientes sociosanitarios: PCR (por ser población muy vulnerable y riesgo rápido de expansión). ▪ Resto de pacientes: Ninguna prueba (o TDR antigénico que fuera sensible*). ○ <i>Sintomatología moderada/grave</i>: PCR. Si es negativa, pero persiste sospecha, repetir PCR. Podrían ser útiles los TDR IgM/IgG. (Un TDR de detección de antígenos sensible* sería de utilidad como cribado inicial en pacientes hospitalarios).
<p>➤ Fase media en casos leves (tras los 7-10 días del inicio de síntomas) o postsintomática: TDR IgM/IgG.</p>
<p>➤ Estudio del estado inmunitario (a partir de 14 días): de interés personal sanitario y sociosanitario para reincorporarse al trabajo, convivientes con inmunodeprimidos, estudios epidemiológicos, posibles candidatos a vacunar cuando haya vacuna: TDR IgM/IgG.</p>

*Se considera TDR antigénico sensible si la sensibilidad es $\geq 80\%$.

Tabla 3. Interpretación de resultados combinando PCR y detección de anticuerpos (tabla modificada del protocolo de actuación de la Junta de Castilla y León²⁹, 2020):

Resultados			Significado clínico
PCR	IgM	IgG	
-	-	-	Negativo
+	-	-	Fase precoz de la infección
+	+	-	Fase aguda
+	+	+	Fase aguda (más evolucionada que anterior)
+	-	+	Fase final de la infección
-	+	-	Estadio temprano con falso negativo. PCR de confirmación
-	-	+	Infección pasada
-	+	+	Enfermedad en evolución. PCR de confirmación

Para más información sobre pruebas diagnósticas del SARS-CoV-2 disponibles o en desarrollo y el estado de sus autorizaciones de uso consultar FIND (2020 SARS-CoV-2 Diagnostic Pipeline. Disponible en: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>³⁰[FIND o Foundation for Innovative New Diagnostics], organización sin ánimo de lucro que colabora con la OMS para el desarrollo y distribución de pruebas diagnósticas, sobre todo en países con bajos recursos y también realiza evaluaciones independientes de las mismas) o el Informe de la Escuela de Salud Pública Saw Swee Hock School of Public de la Universidad de Singapur¹¹ (COVID-19 Science Report: Diagnostics. 3 April 2020 <https://sph.nus.edu.sg/wp-content/uploads/2020/04/COVID->

[19-Science-Report-Diagnostics-6-Apr.pdf](#)), que hace un seguimiento del desarrollo de pruebas diagnósticas tanto comerciales como académicas

BIBLIOGRAFÍA

1. Recomendaciones institucionales. Documento de posicionamiento de la SEIMC sobre el diagnóstico microbiológico de Covid-19. PDF: https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/recomendaciones/seimc-rc-2020-Posicionamiento_SEIMC_diagnostico_microbiologico_COVID19.pdf. Consultado 26 marzo 2020.
2. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. Interim guidance. 19 March 2020. <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>. Consultado 31 marzo 2020.
3. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. JAMA. Published online March 11, 2020. doi:10.1001/jama.2020.3786.
4. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>. Consultado 28 Marzo 2020.
5. World Health Organization (2020) Novel Coronavirus (2019-nCoV) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans. 31 Jan 2020. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technicalguidance/laboratory-guidance>. Consultado 26 Marzo 2020.
6. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2019. (<https://www.who.int/ihr/publications/WHOWHE-CPI-2019.20/en/>). Consultado 28 Marzo 2020.
7. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3):2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045> PMID: 31992387.
8. Chu, D. K. W., Pan, Y., Cheng, S. M. S., Hui, K. P. Y., Krishnan, P., Liu, Y., Ng, D. Y. M., Wan, C. K. C., Yang, P., Wang, Q., Peiris, M., & Poon, L. L. M. (2020). Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clinical Chemistry*, 555, 549–555. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa029>
9. Lippi, G., Simundic, A.-M., & Plebani, M. (2020). Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 0(0). <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0285>
10. Zou L et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1177–9.

11. Jason Chin-Huat YAP, Ian Yi Han ANG, Sharon Hui Xuan TAN, Jacinta I-Pei CHEN, Ruth Frances LEWIS, Qian YANG, Rowena Kah Sin YAP, Bob Xian Yi NG, Hao Yi TAN (2020-02-27). COVID-19 Science Report: Diagnostics. ScholarBank@NUS Repository. <https://doi.org/10.25540/e3y2-aqye>
12. Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., et al. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* : Bulletin European Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin, 25(3), 1–8. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
13. CNBC (2020) FDA grants 'emergency use' coronavirus test that can deliver results in 45 minutes. 21 Mar 2020. Disponible: <https://www.cnbc.com/2020/03/21/fda-grants-emergencyuse-coronavirus-test-that-can-deliver-results-in-45-minutes.html>. Consultado 31 Marzo 2020.
14. Nguyen, T., Duong Bang, D., & Wolff, A. (2020). 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Paving the Road for Rapid Detection and Point-of-Care Diagnostics. *Micromachines*, 11(3), 1–7. <https://doi.org/10.3390/mi11030306>
15. Yang T, Wang Y-C, Shen C-F, Cheng C-M. Point-of-Care RNA-Based Diagnostic Device for COVID-19. *Diagnostics* 2020, Vol. 10, Page 165, 10(3), 165. <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS10030165>
16. Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis*. 2020 Apr;20(4):411-412. Epub 2020 Feb 24. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4)
17. Kai-Wang To K 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*. Epub 2020 Marzo 23. doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1)
18. World Health Organization. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. Scientific brief. 8 April 2020. Disponible en: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/sb-2020-1-poc-immunodiagnosics-2020-04-08-e.pdf?sfvrsn=4c26ac39_2. Consultado 9 abril 2020.
19. SEIMC. Reflexiones de SEIMC sobre el uso de la detección de antígenos y anticuerpos para diagnóstico de COVID-19. 30 marzo 2020. Disponible en: [https://seimc.org/contenidos/noticias/2020/seimc-nt-2020-Reflexiones deteccion Ag y AC COVID-19.pdf](https://seimc.org/contenidos/noticias/2020/seimc-nt-2020-Reflexiones%20deteccion%20Ag%20y%20AC%20COVID-19.pdf). Consultado 9 abril 2020.
20. CORIS BioConcept. COVID-19 Ag Respi-strip. <https://www.corisbio.com/Products/Human-Field/Covid-19.php#>. Consultado 4 abril 2020.
21. Michael J. Loeffelholz & Yi-Wei Tang (2020) Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art, *Emerging Microbes & Infections*, 9:1, 747-756, DOI: [10.1080/22221751.2020.1745095](https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1745095)
22. Li Z et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol*. 2020 Feb 27. (<https://doi.org/10.1002/jmv.25727>)
23. Sociedad Española de Inmunología. Utilidad de la determinación de anticuerpos anti SARS-CoV-2. Propuesta de implementación como prueba diagnóstica, pronóstica y de desarrollo de inmunidad protectora. 2 abril 2020. Consultado 5 abril 2020.
24. Guo L et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis* 2020 Mar 21. (<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa310>)

25. Zhao J et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020 Mar 28. (<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>)
26. Lou B, Li T, Zheng S, Su Y, Li Z, Liu W, et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptoms onset. 2020 March 27. medRxiv [Internet]. Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.23.20041707v1>
27. Ministerio de Sanidad. Guía para la utilización de tests rápidos de anticuerpos para COVID-19. 7 abril 2020. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/Guia_test_diagnostics_serologicos_20200407.pdf. Consultado 7 abril 2020.
28. Zhang W, Du RH, Li B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):386–389. 2020 Feb 17. doi:10.1080/22221751.2020.1729071
29. Junta de Castilla y León. Sacyl. Indicaciones y procedimiento de utilización de test diagnósticos de infección Covid-19. 4 abril 2020. Consultado 10 abril 2020.
30. FIND 2020 SARS-CoV-2 Diagnostic Pipeline. Disponible en: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>. Consultado 1 abril 2020.

|