

4. Diagnóstico de laboratorio de SARS-CoV2*

Melina Elizabeth Herrera

Palabras claves

Diagnostico — Bioseguridad — RT-qPCR — Anticuerpos IgM/IgG — Secuenciación

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado una serie de guías de recomendaciones con normas y acciones orientativas para garantizar la identificación oportuna del SARS-CoV2, mediante una correcta toma de muestras sospechosas y su envío a los laboratorios de referencia en cada país, así como también la correcta implementación de los protocolos de identificación molecular que se realizarán en cada laboratorio capacitado y autorizado para ello (1,2). Además, se encuentran disponibles las

guías de recomendaciones publicadas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), siguiendo también los lineamientos recomendados por la OMS (3,4).

La decisión de realizar una prueba de detección de SARS-CoV2 debe basarse en una correcta definición del caso sospechoso, que deberá tener en cuenta tanto las manifestaciones clínicas como los datos epidemiológicos, además de una evaluación de la probabilidad de infección.

Recolección de las muestras

Las muestras deben ser recolectadas por personal entrenado, usando materiales de protección personal (guantes descartables, mascarilla quirúrgica, bata antifluidos y protección ocular) y teniendo en cuenta las normas de bioseguridad para virus respiratorios.

Las muestras recomendadas para la detección del virus son las del tracto respiratorio inferior (esputo, lavado bronqueoalveolar y aspirado traqueal). Cuando no sea posible obtener este tipo de muestras, también son útiles las correspondientes

al tracto respiratorio superior, incluyendo la combinación de un hisopado nasofaríngeo y un hisopado orofaríngeo. En este caso, los hisopos deben guardarse y transportarse en el mismo tubo que contenga un medio de transporte viral adecuado.

Las muestras deben conservarse refrigeradas (4-8 °C) y enviarse al laboratorio donde serán procesadas dentro de las 24 a 72 horas. Si no se pueden enviar en ese período, las muestras pueden mantenerse en *ultrafreezer* a -70 °C o menos hasta el momento del envío (2,4).

Envío de las muestras al laboratorio

La muestra recolectada, sospechosa de contener SARS-CoV2, debe acondicionarse en un triple envase que cumpla con las normas de

bioseguridad para el transporte de sustancias infecciosas (4,5) (ver figura 1).

* No existen conflictos de intereses.

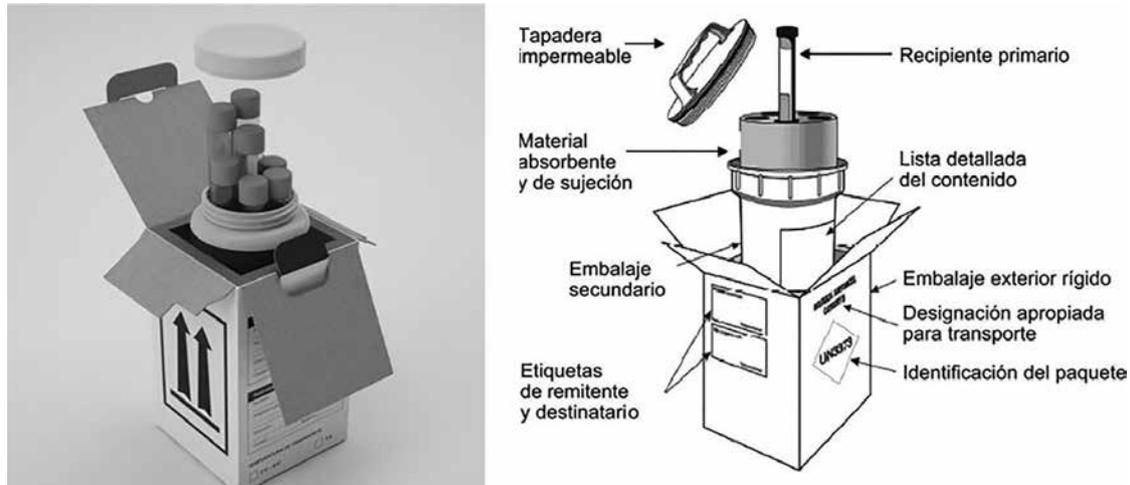


Figura 1. Sistema de embalaje de triple envase para muestras infecciosas. El sistema consta de tres recipientes: el recipiente primario, donde se encuentra la muestra en un medio de transporte adecuado, el cual se coloca junto con un material absorbente y de contención dentro del recipiente secundario que cuenta con cierre hermético e impermeable. Ambos son contenidos dentro del recipiente exterior rígido, que posee la correspondiente etiqueta de identificación y remitente del destinatario. Entre el recipiente secundario y el exterior se coloca material refrigerante para la correcta conservación de la muestra.

Pruebas de laboratorio para la confirmación de SARS-CoV2

Ensayos basados en la detección de ácidos nucleicos

La OMS ha puesto a disposición una serie de protocolos de detección molecular del virus SARS-CoV2 (6). Así mismo, *Centers for Disease Control* (CDC) desarrolló también un protocolo para la detección y el diagnóstico de COVID-19 (7).

Los métodos de rutina se basan en la detección de secuencias únicas de ARN viral mediante test de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT, *Nucleic acid amplification tests*), como RT-qPCR (retrotranscripción seguida de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real). Los genes que se utilizan como marcadores para

la amplificación son los genes N, E y RdRP (8). La extracción del ARN debe realizarse en una cabina de bioseguridad. La detección de genes N y E son considerados de *screening* para detectar cualquier beta-coronavirus asociado a murciélagos. Si esta prueba resulta positiva, se sugiere realizar la confirmación mediante amplificación del gen RdRP, el cual es específico para coronavirus tipo SARS, incluyendo el SARS-CoV2.

Se debe tener en cuenta que uno o más resultados negativos no descartan la posibilidad de infección por el virus SARS-CoV2.

Ensayos basados en la detección de anticuerpos

Los ensayos de detección de anticuerpos IgM/IgG en muestras de suero pueden ayudar a

investigar un brote en curso y a realizar una evaluación retrospectiva de la tasa de infección. Si bien

existen algunas pruebas comerciales de detección de anticuerpos para la detección del SARS-CoV2, no son recomendadas actualmente para usarse como método diagnóstico. Por un lado, sus resultados positivos podrían estar relacionados también con la presencia de otros tipos de coronavirus

circulantes en la comunidad, y hacer muy difícil su interpretación. Por otro lado, aún no se ha establecido completamente la dinámica entre la respuesta y la producción de anticuerpos en las distintas fases de la infección, lo que limita más aún el uso de estas pruebas (6).

Métodos de secuenciación viral

La secuenciación del genoma de los agentes virales presentes en diversas muestras además de confirmar la presencia del virus en las mismas, es una herramienta que permite monitorear y hacer una evaluación de las mutaciones que se van

produciendo en el genoma viral y que podrían tener implicancia en las medidas de tratamiento, pruebas de diagnóstico, entre otras. Además permite brindar información sobre la epidemiología molecular (6).

Melina Elizabeth Herrera
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Adventista del Plata
Entre Ríos, Argentina
melina.herrera@uap.edu.ar

Ingreso: 27 de abril
Aceptado: 30 de abril

Lista de abreviaturas

ARN: ácido ribonucleico

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

IgG: inmunoglobulina G

IgM: inmunoglobulina M

NAAT: nucleic acid amplification tests

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

RdRp: RNA-dependent RNA polymerase o nsp12

RT-qPCR: retrotranscripción seguida de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real

SARS-CoV2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

Bibliografía

1. WHO. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19). Interim guidance, 19 March 2020.
2. WHO. Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19. Interim guidance, 31 March 2020.
3. PAHO. Laboratory guidelines for detection and diagnosis of the novel coronavirus (2019-nCoV) infection. 1 February 2020.
4. PAHO. Interim laboratory biosafety guidelines for the handling and transport of samples associated with the novel coronavirus 2019 (2019-nCoV).
5. WHO Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020. Geneva: World Health Organization; 2019.
6. WHO. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance, 19 March 2020.
7. CDC. Real Time RT-PCR panel for detection 2019-Novel Coronavirus. 2019.
8. 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).