

Salud Pública y Pruebas Diagnósticas del COVID-19: Caso Venezuela.

Alejandro Rísquez Parra*, Rosalba Urosa Salazar de Rodríguez**, Juan Bautista De Sanctis ***

Resumen

La salud pública mundial presenta en la actualidad un reto de grandes dimensiones para realizar las funciones esenciales del Siglo XXI, “el diagnóstico temprano y el tratamiento preventivo de las enfermedades”; por lo tanto la OMS considera que para conocer la magnitud de la epidemia COVID-19 es básico contar con suficientes pruebas diagnósticas en cantidad y calidad. En Venezuela, el Ministerio de la Salud comunica que se han realizado más de 80.484 pruebas por millón de habitantes (marzo-diciembre 2020), las más altas de la región; sin embargo, las pruebas diagnósticas de PCR y Prueba de antígenos, no alcanzan a 1.488,8 (105) y 11,9 (105) respectivamente, muy bajas. Se revisan las pruebas más usadas para detección de genoma, antígenos y serología, mediante pruebas de tiempo y rápidas, ambulatorias o de estricto manejo en laboratorio.

Palabras clave: COVID-19; Venezuela; pruebas diagnósticas; salud pública; diagnóstico.

Public Health and Diagnostics Tests for SARS-COVID-2 Infection. The Venezuela case

Alejandro Rísquez Parra; Rosalba Urosa Salazar de Rodríguez; Juan Bautista De Sanctis.

Abstract

Global public health currently presents a major challenge in performing the essential functions of the 21st century, "early diagnosis and preventive treatment of diseases", so WHO believes that sufficient diagnostic evidence in quantity and quality is essential to understand the scale of the COVID-19 epidemic. In Venezuela, the Ministry of Health reports that more than 80,484 tests per million inhabitants (march-december 2020) have been carried out; however, diagnostic tests of PCR and Antigen Test, do not reach 14,888 (106) and 110 (106) respectively, which is very low compared to neighboring countries. The most commonly used tests for genome, antigen and serology are reviewed.

Key words: COVID-19; Venezuela; diagnostic tests; public health; diagnosis.

Salud pública e identificación y diagnóstico de casos

Dentro de las funciones esenciales de la Salud Pública, renovadas para el siglo XX, y desde sus concepciones iniciales que se remontan a comienzos del siglo XX, la definición de Charles Winslow en 1920, “el diagnóstico temprano y el tratamiento preventivo de las enfermedades” son elementos vitales y los servicios médicos de salud pública esenciales deben contar con dichos servicios para garantizar la salud.¹

La nueva estrategia de servicios de salud integrales orientado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), dirigido a las acciones poblacionales e individuales para la promoción de la salud

* Profesor Titular, Jefe del Departamento de Medicina Preventiva y Social, Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, UCV.

** Profesora de la Cátedra de Salud Pública. Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, UCV.

*** Profesor Titular (J) UCV. Senior Researcher. Institute of Molecular and translational Medicine. Palacky University Olomouc. Czech Republic
Correo: Alejandro Rísquez risqueza@gmail.com

y prevención de la enfermedad incorporan el diagnóstico microbiológico y otros con las pruebas de pesquisa, confirmación y descarte por laboratorio y otros medios.²

Dentro del llamado a fortalecer la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, el proceso del diagnóstico es fundamental, se hace énfasis en fortalecer los servicios de salud y sus capacidades diagnósticas en el área de infectología o microbiología para cumplir metas muy específicas de problemas de salud pública, prioritarios a escala mundial como son la resistencia microbiana múltiple, por lo que se recomienda cortar el eslabón determinante: el uso inadecuado y la falta de programas de uso racional de medicamentos, los microorganismos multirresistentes en los servicios de salud hospitalarios, y los diagnósticos microbiológicos de baja calidad, y la falta de Comités para el control de las infecciones asociadas a la atención en salud. Todos los participantes y actores del sector salud son invitados a participar, y de suma importancia son las Sociedades Científicas por su rol en la educación médica continua del personal de salud y la comunidad general.³

En importante que para su funcionamiento y organización los servicios de salud se centren en la atención a pacientes con diagnósticos específicos y se orienten al tratamiento de enfermedades que requieren abordajes preventivos, curativos o de rehabilitación muy específicos; el caso del COVID-19 tiene implicaciones por tratarse de una enfermedad infecciosa de fácil transmisión con peculiaridades muy específicas aun por investigar.⁴

La capacidad diagnóstica permite en enfermedades como el COVID-19, tomar decisiones claves en el manejo de la epidemia; en particular el manejo de los “portadores asintomáticos” y los “portadores potenciales por contacto con infectados y enfermos” hace muy difícil su manejo, en especial por las implicaciones en su vida personal.⁵

La identificación de la fuente de infección es fundamental para poder actuar sobre la cadena epidemiológica de manera efectiva y contundente; el

diagnóstico de las infecciones como el COVID-19 acarrea dificultades en su abordaje por tratarse de una enfermedad nueva, y en proceso de investigación de los casos sintomáticos y de los portadores asintomáticos, que tiene implicaciones muy importantes sobre la gestión de la población para la fuente de la infección, es decir sobre el aislamiento y la cuarentena, tanto de los enfermos, los asintomáticos y los contactos.⁵

LA GUÍA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA Del MPPS DE VENEZUELA

Utiliza las definiciones de casos adaptada de las Orientaciones Provisionales de la Organización Mundial de la Salud.⁶ La definición de caso es un criterio epidemiológico que se establece durante la investigación de un brote para clasificar los casos como correspondientes o no al brote identificado y poder evaluar entre otros aspectos, las medidas de control y es clave para el accionar orientado.

Características del COVID-19 en Venezuela al 31 de diciembre del 2020

Según la información del MPPS,^{7,8} se han registrado las siguientes estadísticas: casos totales confirmados a la fecha del 31 de diciembre de 2020: 113.558, casos en hombres: 63.220 (56%) y casos mujeres: 50.338 (44%); fallecidos: 1.028 (Letalidad: 0,91%); El 78% de los casos entre 20 y 59 años; en tasas 3.760 casos por millón de habitantes y 34 muertes por millón de habitantes.

En cuanto al origen de los casos: casos importados: 12.404 (10,97%); contacto con viajero internacional: 565 (0,50%) y casos comunitarios: 100.152 (88,54%).

En relación con la expresión clínica se distribuyen en 93% asintomáticos y leves, y 7% moderados y graves. Casos recuperados 107.583 (95%) y de los casos activos 4.931 (4,3%); se encuentran graves 1,5% en terapia intensiva y los casos moderados alcanzan 5,5%, y el 93% restante entre casos leves 28,9% y los asintomáticos 64,1%.

De los 144.780 venezolanos que han sido registrados retornados al país, 12.404 casos positivos, la mayoría por vía terrestre vienen de

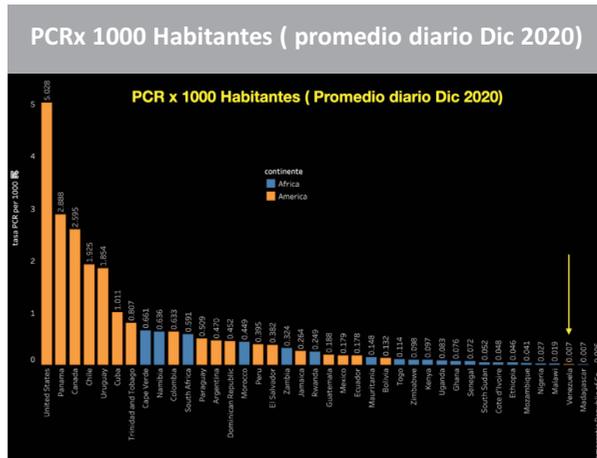
SALUD PÚBLICA Y PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DEL COVID-19: CASO VENEZUELA

Colombia, Brasil, Ecuador y Perú países vecinos (93%), y el resto de viajeros vía aérea exclusiva de Turquía, España, Panamá y México (6%) en orden de frecuencia.

Se han realizado en Venezuela hasta la primera semana de enero 2021, un total de 485.195 pruebas de PCR para una tasa de 1.488,8 por 100.000 habitantes y pruebas de antígenos, 3.878 para una tasa de 11,9 por 100.000 habitantes. Un dato muy destacado es que de cada 100 pruebas de PCR, 26,6 son positivas, una razón de negativas y positivas 356.180/128.996 (26,6%). Según nota de la Organización Panamericana Sanitaria (OPS) del 23 de octubre de 2020, Venezuela ampliará a todo el país el diagnóstico confirmatorio con 340 mil pruebas para el diagnóstico por detección de antígenos y 35 equipos lectores, gestionados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), con el objetivo de llevar el diagnóstico confirmatorio de la COVID-19 a todos los estados del país y mejorar los tiempos en los que se obtienen los resultados. Se lograría aumentar hasta en 4.000 pruebas diarias adicionales, con respuesta rápida, sin embargo, no se han realizado más de 3.878 acumuladas hasta diciembre, es decir no ha mejorado la capacidad diagnóstica del país con las pruebas de antígenos entregadas. En cuanto a la aplicación de pruebas diagnósticas acumuladas (PCR, prueba de antígenos y prueba de anticuerpos) hasta el 31-12-2020, el MPPS informa 2414.531, lo que representa 80.484 pruebas por millón de habitantes; al considerar solo a las pruebas confirmatorias de PCR y antígenos la tasa se calcula 16.302,4 x millón de habitantes, entre las más bajas de mundo (listados de https://en.wikipedia.org/wiki/COVID-19_testing).

Pruebas diagnósticas en general y COVID-19 en Venezuela

No se puede lograr un diagnóstico preciso de COVID-19 solo a través de la presentación clínica porque los signos y síntomas clínicos de la infección por SARS-CoV-2, no son lo suficientemente distintivos de las infecciones causadas por otros virus y bacterias respiratorias como adenovirus, virus de la influenza, virus de la parainfluenza, virus respiratorio sincitial (VSR), rinovirus, otros



CoV, Chlamydia, Legionella y Mycoplasma.⁹ Por lo que un paso muy importante en el combate a la actual pandemia es la identificación del mismo. Existen muchas pruebas diagnósticas para identificar al SARS COV 2. Podemos clasificarlas como las dirigidas a identificar el virus, y las que identifican la respuesta inmune ante el mismo. Las pruebas para detectar la presencia del virus SARS COV 2, podemos clasificarlas a su vez, en las que identifican el material genético (RNA viral) mediante Técnicas que Amplifican los Ácidos Nucleicos (NAAT, por sus siglas en ingles), llamadas también Pruebas Moleculares y las que detectan el Antígeno como tal (proteína de la superficie viral). Además del virus propiamente dicho (cultivo viral). Las pruebas que identifican la respuesta inmune ante el mismo, también llamadas serológicas, (en Venezuela “Pruebas Rápidas”), que detectan los anticuerpos producido por el virus, serán cruciales para la vigilancia, el pronóstico de epidemias y la determinación de Inmunidad al SARS-CoV-2, y en algunas oportunidades ayudan al diagnóstico de enfermedad.

1. Tests para identificar la presencia del virus

1 a. Test diagnósticos basados en ácidos nucleicos

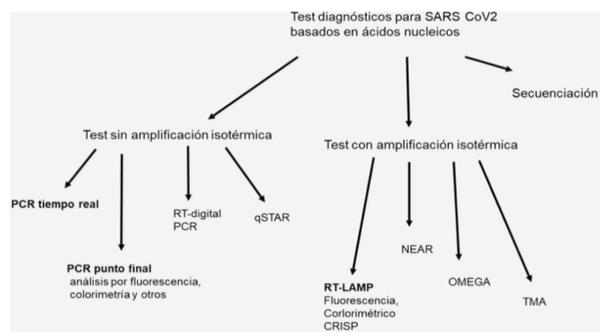
Las pruebas de amplificación de ácido nucleico (NAAT), como la RT-PCR, son reconocidas como las pruebas de diagnóstico estándar para la confirmación de COVID-19 por la OMS y los CDC. La NAAT se ha convertido en la norma en el diagnóstico de laboratorio de la infección viral del tracto respiratorio, ya que evita el tiempo de respuesta más

largo del método de cultivo del virus y permite la identificación de pacientes en las primeras etapas de la infección mediante la detección directa del material genético viral.⁹

Los centros encargados de evaluar la presencia del virus en muestras de pacientes, normalmente, usan técnicas de fácil manejo, rápidas y masivas. Las técnicas expuestas en la figura 1 han sido usadas para analizar la presencia de virus y todas han sido aprobadas por entes reguladores internacionales como la FDA.⁹⁻¹⁵

(Resaltadas en negro las usadas comúnmente). La diferencia entre las dos técnicas es el uso de sis-

Figura 1. Diferentes pruebas usadas para el diagnóstico molecular de SARS CoV2



temas de temperaturas continuas (isotérmicas) o en ciclos (no isotérmica). Siglas: PCR reacción en cadena de la polimerasa. Información de siglas en el texto.

La secuenciación fue, en principio, la técnica más usada porque permitió definir dos puntos: la variante viral que infectó a humanos y la probabilidad de mutaciones. Es el ensayo de referencia para determinar variantes del virus circulante en la población y variante virales en una misma muestra, dependiendo del equipo y la tecnología usada.^{9,10}

Principios básicos de los test con Técnicas de Ampliación de Ácidos Nucleicos (NAAT, por sus siglas en inglés) comúnmente usados.

El primer punto es la extracción del ARN total de células obtenidas en la muestra.

En la mayoría de los ensayos, el ARN extraído es transformado a ADN por la transcriptasa rever-

sa. De allí las siglas RT-agregado al de PCR. El ADN complementario se incuba con los cebadores específicos de segmentos virales y por procesos isotérmicos o no isotérmicos, se amplifica el ADN. Finalmente, el número de copias es analizado y define la presencia y cantidad de virus. Sin embargo, en la mayoría de los casos, el ensayo también cuenta con un control interno que es un amplificado de un ARNm de un gen celular para demostrar que hay suficiente material genético en la muestra. La mayoría de los ensayos comerciales es capaz de detectar el virus a partir de 10 copias; todo depende del tipo de kit que se use y de la pureza del ADN complementario obtenido. Se puede calcular, además, el número de copias virales y carga viral por muestra. En algunos países, se exige reportar la carga viral de la muestra.⁹ En los métodos con ampliación no Isotérmica, el proceso es por ciclos, produciéndose un número determinado de copias por ciclo. En éstos se usa también el término CT (Cicle Threshold): a mayor carga viral, menor el CT. Se requiere un valor igual o menor de 40 CT para reportar el RT-PCR como positivo.¹⁰

Es importante analizar, brevemente, las diferencias entre las técnicas más usadas y sus interpretaciones. La diferencia de PCR tiempo real (que se informa como r RT-PCR, o qRT-PCR) y RT-PCR punto final, es la amplificación del ADN complementario con trazadores fluorescentes y lectura de fluorescencia continua (tiempo real) o el análisis, al final, de la amplificación donde las hebras de ADN se analizan con colorante. A pesar de usar los controles negativo y positivo comparables, la experticia del técnico es crítica en la segunda técnica, el error humano de dilución y tinción puede incrementarse. Se requiere, además, en el segundo caso si no es usan cebadores fluorescentes, usar dos pozos uno para el análisis de virus y otro del material genómico celular.

El RT-digital PCR es la técnica que usa la transcriptasa reversa y amplificación directa en un sistema cerrado, usualmente robótico, que se basa en PCR tiempo real y cuyos resultados son interpretados directamente por el aparato. El qSTAR, técnica de amplificación a temperatura selectiva, también requiere de un aparato específico desarrollado para

SALUD PÚBLICA Y PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DEL COVID-19: CASO VENEZUELA

manejar la muestra y analizar el amplificado de manera secuencial.

La otra técnica muy usada es la RT-LAMP es amplificación isotérmica cíclica que se basa en la amplificación del ADN complementario viral pero añadiendo segmentos que pueden ser puntos de cortes enzimáticos CRISP o nucleótidos fluorescentes. Dado que es una técnica isotérmica, no requiere instrumentación especializada para la amplificación, más, si en el análisis y el rango de detección es similar al mejor rango de PCR.

Una técnica similar al RT-LAMP es el OMEGA. Con la técnica de OMEGA, con sondas específicas, es posible determinar hasta variantes reales dentro de la muestra. Ésta última técnica ha sido usada con éxito para determinar diferentes variantes virales del virus de papiloma en muestras de cuello uterino con una especificidad del 90 %. Las otras dos: NEAR, técnica de amplificación de enzima de restricción puntual y TMA, amplificación por transcripción, son excelentes para el análisis de genes patógenos, no son costosas, pero requieren la experticia técnica adecuada.^{9,10}

Cuándo realizar las pruebas de detección del virus

La exactitud de su resultado va a depender del manejo adecuado de la muestra en todos sus pasos (obtención, transporte y procesamiento, lo cual incluye el tipo de reactivos utilizados) y de la carga viral contenida en ella (lo cual va a depender del momento después de la exposición al virus, en que se tome y del tipo de muestra que se procese).

La interpretación va a depender de la sensibilidad y especificidad del test (debe reportarla cada plataforma y reactivos utilizados y por estudios publicados) y la probabilidad de enfermedad sospechada en cada paciente en base a sus características clínico-epidemiológicas. El análisis conjunto de 7 estudios publicados encontró que, las tasas de falsos negativos son del 100% el día 1, el 67% el día 4, el 38% cuando los síntomas comienzan el día 5, 20% el día 8 (3 días después de la aparición de los síntomas) para volver a subir hasta el 66% el día 21.¹⁶ Por lo tanto, en su mejor momento (3 días

de los síntomas), la PCR tiene una sensibilidad (capacidad del test de dar positivo en presencia de enfermedad) de 80%. Kim H, reporta en metanálisis de 64 trabajos, una sensibilidad de 89% con IC95% 81 a 94%.¹⁷ Por lo tanto, los ensayos de RT-PCR tienen una capacidad limitada para descartar ECOVI-19 sobre la base de un único punto en el tiempo. También se ha reportado, mayor CT en pacientes graves que en leves, con persistencia de PCR positivo en los primeros por mayor tiempo que en los segundos.¹⁸ Para las personas asintomáticas, la sensibilidad no está bien caracterizada todavía.^{19,20} La especificidad es alta, alrededor de 99-100% (capacidad del test de ser negativo si no existe la enfermedad) dando lugar a valor predictivo positivo alto, que se interpreta como alta probabilidad de tener la enfermedad si se tiene un test positivo, aunque no indique necesariamente que el virus mantenga su capacidad infectiva; las probabilidades de ser falso positivo, pueden atribuirse principalmente a mal manejo de la muestra o a contaminación del reactivo usado.¹⁰ En algunos casos, se ha detectado ARN viral mediante RT-PCR incluso más allá de la semana 6 después de la primera prueba positiva. También se han notificado algunos casos positivos después de 2 pruebas de PCR negativas consecutivas realizadas con 24 horas de diferencia. No está claro si se trata de un error de prueba, una reinfección o una reactivación. En un estudio de 9 pacientes, los intentos de aislar el virus en cultivo no tuvieron éxito después del día 8 del inicio de la enfermedad, lo que se correlaciona con la disminución de la infectividad más allá de la primera semana.

Esa es en parte la razón por la que la “estrategia basada en síntomas” de Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades indican que se puede suspender el aislamiento después de 24 horas sin fiebre sin el uso de medicamentos para reducir la misma y mejoría en síntomas respiratorios (p. ej., tos, dificultad para respirar) y han pasado al menos 10 días desde que aparecieron los primeros síntomas.²¹ Se debe extender a 20 días en casos de ECOVI severo, y en los pacientes severamente inmunocomprometidos.^{13,21} En estos últimos el RT-PCR puede seguir positivo mucho tiempo, con virus replicables, por lo tanto infectantes y hay

que emplear cultivo del virus o realizar RT-PCR para identificar ARNm subgenómicos virales (éste se transcribe solo en células infectadas y es detectado antes de ser empaquetado en viriones; por lo tanto, indica la presencia de material genético de virus activos.^{22,23} También se puede realizar prueba de antígeno para evaluar la viabilidad en caso de RT-PCR positivo, aun cuando la sensibilidad es menor, y requiere de altas cargas virales para dar un resultado positivo.

Las variantes virales de alta transmisibilidad como la Británica, la Danesa, la de Manaus o de California, con cambios genéticos importantes, no son detectados por algunos test de PCR que usan un solo par de cebadores por lo que es necesario maximizar la prueba con amplificadores de 3 partes del gen.

El tipo de muestra también influye. En un metanálisis de 16 estudios Boger B y colaboradores citado por Saavedra²⁴ reportan la sensibilidad de la RT-PCR en diversas muestras en los primeros 14 días post infección: esputo 97.2% (IC: 95% 90,3-99,7%), hisopado faríngeo y nasofaríngeo 73,3%, (IC: 95% 68,1-78%), saliva 62,3%(IC 95%54.5 a 69.6%), y especificidad del 99%. En un estudio de 207 pacientes con ECOVI 19, hospitalizados, las muestras de líquido de lavado bronco alveolar mostraron las tasas positivas más altas (14 de 15; 93%), seguidas de esputo (72 de 104; 72%), hisopado nasal (5 de 8; 63%), biopsia con cepillo de fibrobroncoscopio (6 de 13; 46 %), hisopado faríngeo (126 de 398; 32%), heces (44 de 153; 29%) y sangre (3 de 307; 1%). Ninguna de las 72 muestras de orina fue positiva.¹⁸ A pesar de que la saliva no es la muestra que ofrezca mayor sensibilidad, tiene la ventaja de que su obtención es fácil, cómoda y segura, facilitando los estudios de despistaje, tan importantes para detener la expansión del virus. En un estudio sobre muestras pareadas de hisopado naso faríngeo y saliva, en pacientes con riesgo alto de contagio o síntomas leves, 70 pacientes tuvieron muestras con RT-PCR positivo: 48% coincidieron ambas, 31,4% solo el hisopado nasofaríngeo, y 20% solo la saliva, con una diferencia de 11,4% a favor del primero.²⁵ Recientemente fue aprobado por la FDA, el uso en calidad de emergencia del

protocolo de la universidad de Yale Saliva Direct, que permite eliminar el paso de extracción de ácido nucleico (muy caro en tiempo, recursos y tecnología) y hacerlo más asequible aunque sigue siendo necesaria la PCR, lo cual lo haría mucho más accesible.²⁰

La genotipificación del virus completo es de vital importancia. La epidemiología genética nos permite determinar la presencia de variantes virales que pueden o no ser más agresivas y aplicar los controles epidemiológicos adecuados. La secuenciación del virus completo y su reporte a nivel mundial permite determinar variantes locales de foráneas,¹⁵ aunque esto corresponde a la vigilancia epidemiológica, y no al manejo de rutina de los casos.

2.-Pruebas de antígeno

Las pruebas de antígeno se basan en un anticuerpo monoclonal contra la proteína S del virus, en la mayoría de los casos de origen aviar, IgY, o de cabra pegado a un metal pesado en un papel. La muestra obtenida de saliva, solución salina de lavado, o hisopo lavado en solución salina, son incubados en los porta-muestra que contienen el anticuerpo monoclonal pegado. Luego de incubar a temperatura ambiente por 15 minutos, se añade una solución, en algunos casos se cierra el porta-muestra por unos minutos, que contiene un compuesto con colorante. Luego de 5 minutos de incubación, en los positivos debe observarse un precipitado correspondiente al reconocimiento del virus.

La especificidad de la prueba es baja, 60-70 %, dependiendo de la casa comercial. La inespecificidad incrementa con el tiempo de toma de la muestra. Por ello, es preferible procesar en un tiempo corto.

Una de las aprobadas en EEUU, el ensayo de inmuno fluorescencia (FIA por sus siglas en inglés) proporciona resultados en 15 minutos. La positividad indica Infección Activa. La FIA detecta el antígeno de la proteína de la nucleocápside del SARS-CoV-2, que generalmente está presente en la nasofaringe durante la infección aguda. La prueba se puede realizar en muestras nasofaríngeas y de frotis nasales,

SALUD PÚBLICA Y PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DEL COVID-19: CASO VENEZUELA

procesadas directamente o después de colocarlas en un medio de transporte viral. Los hisopos se recolectan de la misma manera que para las pruebas de PCR. Las pruebas deben seguir las instrucciones del fabricante según la EUA, pero se pueden realizar en los puntos de atención de la exención CLIA y en los laboratorios clínicos.

Sensibilidad: los estudios de la industria informan una sensibilidad de solo el 80% en relación con la PCR, que en sí misma no es perfectamente sensible.

Especificidad: los CDC han informado falsos positivos, lo que indica que la verdadera especificidad es menor al 100% en el uso práctico. Los falsos positivos son más probables cuando las pruebas no se realizan según las especificaciones o cuando se produce una contaminación cruzada.

De manera similar a las moleculares, por su alta especificidad, un resultado positivo significa infección en este caso ACTIVA, por lo tanto contaminante, pero se recomienda confirmar con PCR por los falsos positivos reportados. La negatividad no descarta la enfermedad.²⁰ En Venezuela, recién se empieza a usar, aunque desconocemos cuál de las técnicas se usa, y sus características operativas.

Cuando es posible detectar antígenos, normalmente 2 días luego de que se detecta el virus por PCR se observan los antígenos, día 4 a 5 de la exposición viral hasta el día 10 a 14 dependiendo de la carga viral.

Si se realizan las dos pruebas PCR tiempo real y antígeno, la especificidad puede aumentar el 96 % en el período luego de 3 a 4 días de exposición.

Fallos de control epidemiológico en los ensayos de PCR y antígeno

Los fallos más comunes en la detección viral son el tiempo de exposición y carga viral. Por ello, estadísticamente se define un período de ventana de 5 días desde la posible exposición a la aparición de los síntomas. Luego de 5 días, en caso de infección, la especificidad de las pruebas es PCR es 95 % y de antígeno 80 %, y de ambas pruebas 98 a 99 %,

de allí que la mayoría de los países asumen ese período para exigir los test cuando están en cuarentena.

3.-Pruebas de anticuerpos

Usan diferentes metodologías: Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISA), Lateral Flow Immunoassays (LFIA), Chemiluminescent Immunoassays (CLIA) para la determinación de Anticuerpos (IgG, IgM, IgA), en suero (por lo que se las llama Pruebas Serológicas), plasma o sangre completa. Normalmente los ensayos de anticuerpos se realizan con ELISA donde los antígenos virales están pegados a la placa (normalmente mezcla antigénica de péptidos sintéticos de la proteína S, N y Orf).

En Venezuela se conocen como “pruebas rápidas”, se realizan en el punto de atención al paciente. La exactitud, va a depender al igual que las pruebas moleculares, de la toma adecuada de la muestra, tipo de metodología utilizada, momento de la realización del test en relación a la exposición o inicio de los síntomas.

Teniendo en cuenta la cinética de la respuesta inmune en pacientes con infección por SARS-CoV-2 se considera que el punto para usar pruebas serológicas es de 14 días a partir del inicio de los síntomas. Esto debido a que a partir de ese momento se ha documentado que, hasta la mitad de los pacientes infectados ya podrían tener estos anticuerpos, y que al combinar estas pruebas con RT-PCR de SARS-CoV-2 en algoritmos diagnósticos se aumenta la probabilidad de lograr un diagnóstico.²⁴

En una revisión sistemática de 24 estudios, con número total de muestras incluidas entre 91 y 2.708 para Sensibilidad y de 721 a 11.887 para la especificidad, que incluyó diferentes tipos de poblaciones, técnicas de determinación de anticuerpos, determinación de Ig (M, G, A) diseños de investigación, la sensibilidad promedio en la semana uno después el inicio de los síntomas osciló entre 23% y 63% y en la segunda semana osciló entre 68% y 96%, mientras que la especificidad promedio varió de 96% a 100%. La calidad de la evidencia que informó las determinaciones de sensibilidad varió de muy baja a baja, mientras que la especificidad fue de baja a moderada.²⁶ El

metanálisis de Lisboa, de 40 estudios, reporta que la sensibilidad fue mayor al menos tres semanas después del inicio de los síntomas (69,9% hasta 98,9%) en comparación con la primera semana (desde 13,4% a 50,3%).²⁷ Las pautas de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA), no recomiendan el uso de pruebas serológicas para diagnosticar la infección por SARS-CoV-2 durante los primeros 14 días posteriores al inicio de los síntomas. Cuando se usa con finalidad diagnóstica como complemento de pruebas moleculares, recomienda la determinación de IgG, o, anticuerpos totales, en tres o cuatro semanas del inicio de los síntomas, para maximizar el dx de infección pasada.^{20,26}

La serología puede ser útil para diagnóstico, cuando los pacientes se presentan con complicaciones tardías de la enfermedad, cuando la reducción de la eliminación viral puede hacer que la RT-PCR sea falsamente negativa.^{20,22}

Limitaciones de la serología:

Precisión variable: los ensayos varían en precisión y pueden tener reactividad cruzada con otros coronavirus humanos.^{22,27} La sensibilidad combinada de los ELISA que miden IgG o IgM fue del 84,3% (intervalo de confianza del 95% 75,6% al 90,9%), de las LFIA fue del 66,0% (del 49,3% al 79,3%), y de CLIA fue del 97,8% (46,2% a 100%). En todo análisis, la sensibilidad combinada fue menor para los LFIA, el método potencial en el punto de atención. Entre las LFIA, la sensibilidad agrupada de los kits comerciales fue 65,0%, (IC95% 49,0% a 78,2%), inferior al de las pruebas no comerciales 88,2%, (IC95% 83,6% a 91,3%). Se vio heterogeneidad en todos los análisis. La especificidad agrupada osciló entre el 96,6% y el 99,7%.²⁷

Relación con la infectividad. Se necesitan datos sobre la relación entre la serología y el riesgo de una persona de infectar a otros, particularmente cuando la serología se realiza debido a la falta de disponibilidad de pruebas virales rápidas. La duración de la serología / protección positiva se ha informado de forma variable. La duración real de la enfermedad asintomática, leve o grave es incierta.²⁰

Pacientes asintomáticos: pueden desarrollar una respuesta inmunitaria menor: en un pequeño

estudio de pacientes chinos, a las 8 semanas, más pacientes asintomáticos que sintomáticos eran seronegativos para IgG (40% frente a 13%).²⁸

Enfermedad leve: un estudio de 34 pacientes que se recuperaron de Covid-19 leve, encontró que la vida media de anticuerpos fue de 37 días IC95% 26 a 60 días, lo que sugiere una rápida disminución de la inmunidad humoral.²⁹

Prueba rápida semicuantitativa de IgG: COVID-SeroKlir

Actualmente en EUA fue aprobado por la FDA, una prueba semicuantitativa para medir IgG, contra dos antígenos del virus: la proteína de pico de longitud completa y su dominio de unión al receptor, con una sensibilidad de 98,8% y especificidad de 99,6 según el fabricante. La prueba puede ser realizada por cualquier laboratorio certificado por CLIA.²⁰ No se dispone de ella en Venezuela.

A pesar de las importantes limitaciones en la utilidad y precisión de la serología, la insuficiencia continua y las limitaciones de las pruebas de PCR viral en muchos entornos clínicos han llevado a los médicos a utilizar la serología en combinación con los síntomas clínicos para informar el diagnóstico y guiar la toma de decisiones prácticas. Incluso cuando se dispone de pruebas de PCR viral, las tasas altas de falsos negativos significan una probabilidad persistentemente alta de enfermedad del SARS-CoV-2 posterior a la prueba negativa, si la sospecha clínica previa a la prueba era alta. Por lo tanto, en situaciones como una alta sospecha de Ecovi-19 en un paciente con PCR negativa, la serología se puede utilizar para confirmar la sospecha clínica y aclarar la necesidad de un control continuo de la infección y opciones de tratamiento.³⁰

El anticuerpo IgA específico puede detectarse en mucosas, lavado nasal/faríngeo y menos en sangre periférica. La IgM se observa en sangre periférica luego de 15 días. Las curvas de IgM e IgA se solapan refiriendo que es posible detectar ambas en una muestra. Sin embargo, en la mayoría de los casos la IgA específica en mucosas disminuye a las 2 semanas.

Finalmente, la aparición de IgG específica se

SALUD PÚBLICA Y PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DEL COVID-19: CASO VENEZUELA

observa a partir del día 21 de la exposición viral. En la mayoría de los infectados leves, los títulos de anticuerpos IgA e IgM caen a las 3 semanas y los de la IgG específica caen a los 90 días. Es muy probable que el individuo se reexponga al virus y sus títulos de anticuerpos se mantengan prolongados por el tiempo. La memoria inmunológica se mantiene con el tiempo. De hecho, la estrategia de vacunación masiva sugiere que aquellas personas que padecieron la infección viral hace más de tres meses sean vacunadas para mantener una respuesta inmune protectora prolongada.

La exposición de personal de salud y los test que deben realizarse

Se recomienda que aparte de la protección física necesaria para la toma de muestra y cuidado de los pacientes, se realicen test de PCR y anticuerpos específicos cada mes independientemente si presentan síntomas o no. La razón de dicho esquema redundante en que el profesional de la salud está más expuesto a altas cargas virales y a variantes virales continuamente por lo que no se garantiza la generación de una respuesta inmune óptima ante el virus.

NOTAS RELEVANTES SOBRE LOS PATRONES HEMATOLÓGICOS Y PARACLÍNICOS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR SARS Cov-2

Dentro de los patrones más relevantes encontrados en la hematología está la linfopenia y el incremento en la población de neutrófilos. El incremento de neutrófilos es notorio en los pacientes moderados a severos y el índice neutrófilos/linfocitos, fue propuesto como un método sencillo para determinar el deterioro y sobrevida del paciente.³¹ Los cambios en el volumen corpuscular medio de eritrocitos en pacientes moderados a severos han sido materia de discusión, así como los niveles de hemoglobina. La disminución de la cantidad de plaquetas es una característica común de los pacientes infectados con el virus, los marcadores de activación y agregación son comunes en dichos pacientes.³²

Los otros parámetros conocidos, proteína C reactiva, procalcitonina, LDH, dímero D han sido usados con éxito; sin embargo, se debe agregar consumo de complemento como factor de riesgo

midiendo los niveles de C3 y C4.³³ Es importante mencionar que la hipoalbuminemia también es un factor de riesgo.

En referencia a la linfopenia, está marcada por la disminución de linfocitos T tanto ayudadores como citotóxicos. Sin embargo, en un estudio hecho en población venezolana y comparado con otras poblaciones, se observa que los linfocitos T de memoria disminuyen significativamente en pacientes moderados y severos y no en adultos jóvenes con resolución rápida de la infección viral.³⁴

CONCLUSIONES:

Para cerrar esta revisión sobre las estadísticas y las pruebas diagnósticas de COVID-19 durante su primer año de pandemia, concluimos con los siguientes puntos:

- La RT-PCR sigue utilizándose como estándar de oro para diagnóstico de la infección por SARS-COV-2.
- La positividad de la RT-PCR, confirma la infección por SARS COV 2, en personas sintomáticas o no
- La negatividad de la RT-PCR temprana o tardía, no descarta la infección por SARS COV 2.
- La positividad de la RT-PCR, no significa necesariamente que el virus sea transmisible, especialmente después de los 10 días de enfermedad.
- La positividad de la PCR en personas infectadas depende de la carga viral, momento y tipo de muestra, y de la manipulación adecuada de la misma.
- La positividad del antígeno sigue el patrón de comportamiento de la RT-PCR pero si traduce virus replicable (transmisible).
- La tasa de falsos positivos y negativos es mayor en la prueba de antígenos que la PCR-RT.
- Las pruebas de anticuerpos no sirven para diagnóstico de la infección excepto en circunstancias específicas.
- Su uso debe ser para conocer el estado de inmunidad de la persona, en relación al SARS-COV-2.

- Son habitualmente negativas antes de las dos semanas de la enfermedad.
- Los resultados de una prueba deben ser interpretados en base a las características operativas de la prueba, momento y tipo de muestra, valor pretest, en base a las características clínico-epidemiológicas del sujeto.
- Las pruebas negativas, deben ser interpretadas con cautela, ya que pueden inducir falsa seguridad, y bajar las medidas preventivas, individual o colectivamente.
- El bajo nivel de pruebas que identifican el virus (PCR, antígeno), produce una falsa situación de control de la epidemia.
- La falta de información sobre las características de las pruebas en uso no permite conocer adecuadamente el comportamiento de las mismas en la población venezolana.

Referencias

1. Organización Panamericana de la Salud. Estrategia para el acceso universal a la salud y la cobertura universal de salud [Internet]. 53.º Consejo Directivo de la OPS, 66.ª sesión del Comité Regional de la OMS para las Américas; del 29 de septiembre al 3 de octubre del 2014; Washington, D.C. Washington, D.C.: OPS; 2014 (documento CD53/5, Rev. 2) [consultado el 12 de noviembre del 2018]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/28276>.
2. Organización Panamericana de la Salud. Estrategia para el acceso universal a la salud y la cobertura universal de salud [Internet]. 53.º Consejo Directivo de la OPS, 66.ª sesión del Comité Regional de la OMS para las Américas; del 29 de septiembre al 3 de octubre del 2014; Washington, D.C. Washington, D.C.: OPS; 2014 (documento CD53/5, Rev. 2) [consultado el 12 de noviembre del 2018]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/28276>.
3. World Health Organization. (2010) . Informe sobre la salud en el mundo: la financiación de los sistemas de salud: el camino hacia la cobertura universal. Ginebra : Organización Mundial de la Salud. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44373>
4. Cavanagh S, Chadwick K. Health Needs Assessment: A practical guide. Londres: National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE); 2005. https://ihub.scot/media/1841/health_needs_assessment_a_practical_guide.pdf
5. OPS/OMS. Módulos de Principios de Epidemiología para el Control de Enfermedades, segunda edición. Programa Especial de Análisis de Salud de la Oficina Central de la Organización Panamericana de la Salud (Washington DC, EUA) en 2001.
6. WHO. Public health surveillance for COVID-19: interim guidance. WHO/2019-nCoV/SurveillanceGuidance/2020.7 <https://www.who.int/es/publications/i/item/who-2019-nCoV-surveillanceguidance-2020.7>
7. Ministerio del Poder Popular para la Salud. República Bolivariana de Venezuela. COVID-19 Boletín Nacional. <https://covid19.patria.org.ve/estadisticas-venezuela/>
8. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Situación de la COVID19 en la República Bolivariana de Venezuela año 2020. (Presentación digital no publicada).
9. Yu CY, Chan KG, Yean CY, Ang GY. Nucleic Acid-Based Diagnostic Tests for the Detection SARS-CoV-2: An Update. *Diagnostics* (Basel). 2021 Jan 1;11(1):53. <https://www.mdpi.com/2075-4418/11/1/53/>
10. Sethuraman, N., Jeremiah, S. S., Ryo, A. J. *Am. Med. Assoc.* 323, 2249–2251 (2020).
11. Rai P, Kumar BK, Deekshit VK, Karunasagar I, Karunasagar I. Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2021;105(2):441-455. https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-020-11061-5?utm_source=other&utm_medium=other&utm_content=null&utm_campaign=BSCN_1_DD01_CN_springer_article_paid_XMOL.
12. US. Food and Drugs Administration. FDA. Coronavirus disease www.fda.gov/emergency-preparedness-and-response/counterterrorism-and-emerging-threats/coronavirus-disease-2019-covid-19
13. CDC. Center Diseases Control. COVID-19. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>
14. Saloman, Laurie. Contagion Infectious Diseases Today. Contagionlive.com. Changes in Guidelines for COVID-19 Diagnostic Testing. <https://www.contagionlive.com/view/changes-in-guidelines-for-covid-19-diagnostic-testing>
15. GISAID Initiative. <https://www.gisaid.org/>
16. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase PolymeraseChain Reaction–Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Ann Intern Med.* 2020 May 13 : M20-1495. <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-1495consultado-18-7-20>
17. Kim H, Hong H, Yoon SH. Diagnostic Performance of CT an ReverseTranscriptase-Polymerase Chain Reaction for Coronavirus Disease 2019:A Meta-Analysis. *Radiology.* 2020; 296:E145–E155
18. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Gu G,Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7066521/consultado-18-7-20>
19. Woloshin S, Patel N, Kesselheim AS. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection — Challenges and Implications. *N Engl J Med* 2020; 383:e38.
20. American College of Physicians. Covid 19: an ACP physician’s guide + Resources. ACP interactive Modules. <https://www.acponline.org/cme-moc/online-learning-center/covid-19-an-acp-physicians-guide-resources>
21. CDC. When You Can be Around Others After You Had or Likely Had COVID-19. Updated Dec. 1, 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/if-you-are-sick/end-home-isolation.html>
22. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, QuachC, Libman M, Dittrich S, P. Yansouni CP. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome–Related Coronavirus 2. A Narrative Review. *Ann Intern Med.* 2020;172:726–734.
23. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, Niemeyer D , Jones TC , Vollmar P, Rothe C, Hoelscher M, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Ehmann R, Zwirgmaier K, Drosten C, Wendtner C et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* [Internet]. 2020 Apr 1;1–10.
24. Saavedra Trujillo CH. Consenso colombiano de atención, diagnóstico y manejo de la infección por SARS-COV-2/COVID-19 en establecimientos de atención de la salud. Recomendaciones basadas en consenso de expertos e informadas en la evidencia. *Infect.* [Internet]. 2020 Dec. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000500061&lng=en.
25. Caulley L, Corsten M, Eapen L, et al. Salivary Detection of COVID-19. 2020 Aug 28. *Ann Intern Med.* <https://doi.org/10.7326/M20-4738>
26. Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, Englund JA, Hayden MK, LeeMJ, Loeb M, Patel R, Altayar O, Alayli AE, Sultan S, Falck-Ytter Y, Lavergne V, Morgan RL, Hassan Murad M, Bhimraj A,

SALUD PÚBLICA Y PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DEL COVID-19: CASO VENEZUELA

- Mustafa RA. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing Last updated August 18, 2020 and posted online at www.idsociety.org/COVID19guidelines/serology.
27. Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK, Campbell JR, Haraoui LP, Johnston JC, Lan Z, Law S, MacLean E, Trajman A, Menzies D, Benedetti A, Ahmad Khan F. Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020;370:m2516-.2528
 28. Long QX, Tang XJ, Shi QL, Li Q, Deng HJ, Yuan FJ, Hu JL, Xu W, Zhang Y, Lv FJ, Su K, Zhang F, Gong J, Wu B, Mao Liu X, Li JJ, Qiu JF, Chen J, Huang AL. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections *Nat Med*. 2020;26:1200–1204 .
 29. Ibarondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliott J, Hofmann C, Hausner MA, Ferbas KG, Tobin NH, Aldrovandi GM, Yang OO. Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild Covid-19 . *N Engl J Med* 2020; 383:1085-1087 .
 30. Caturegli G, Materi J, Howard BM, Caturegli P. Clinical Validity of Serum Antibodies to SARS-CoV-2: A Case-Control Study . *Ann Intern Med*. 2020;173:614-622.
 31. Li X, Liu C, Mao Z, Xiao M, Wang L, Qi S, Zhou F. Predictive values of neutrophil-to-lymphocyte ratio on disease severity and mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2020 Nov 16;24(1):647
 32. Zaid Y, Puhm F, Allaeys I, et al Platelets Can Associate with SARS-Cov-2 RNA and Are Hyperactivated in COVID-19. *Circ Res*. 2020 Sep 17;127(11):1404–18.
 33. Dong X, Wang C, Liu X, Gao W, Bai X, Li Z. Lessons Learned Comparing Immune System Alterations of Bacterial Sepsis and SARS-CoV-2 Sepsis. *Front Immunol*. 2020 Nov 30;11:598404
 34. Mayora S, Zabaleta M, Martínez W, Toro F et al. Subpoblaciones linfocitarias de pacientes venezolanos infectados con SARS-CoV-2 *Gaceta médica de Caracas* 128(Supl 1):S74-S78 (2020)