

INFECCIÓN POR SARS-COV-2: DEL DIAGNÓSTICO AL TRATAMIENTO



Aspectos microbiológicos de la infección por SARS-Cov 2

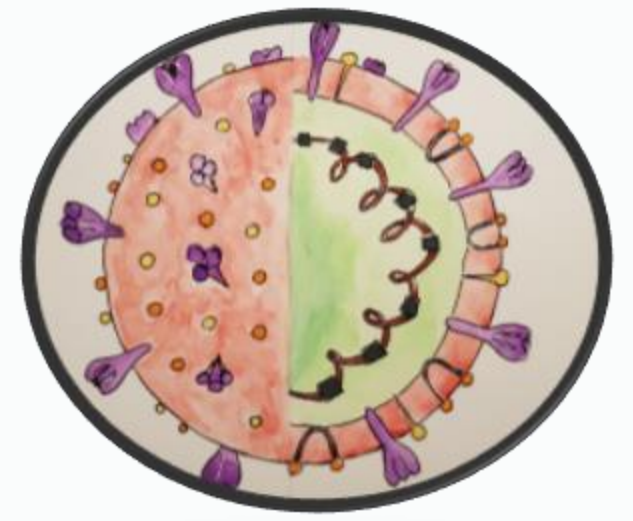


Dr. A. Beltrán.
Servicio de Microbiología.
Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza.

5 Noviembre, 2020.

(Actualizado a: 5 Noviembre, 2020)

1. SARS-CoV 2: generalidades.
2. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas moleculares.
3. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas serológicas.
4. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas rápidas de detección de
antígenos virales.

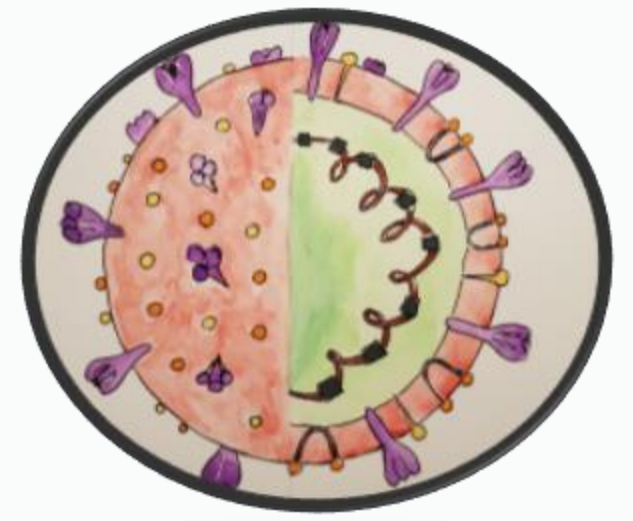


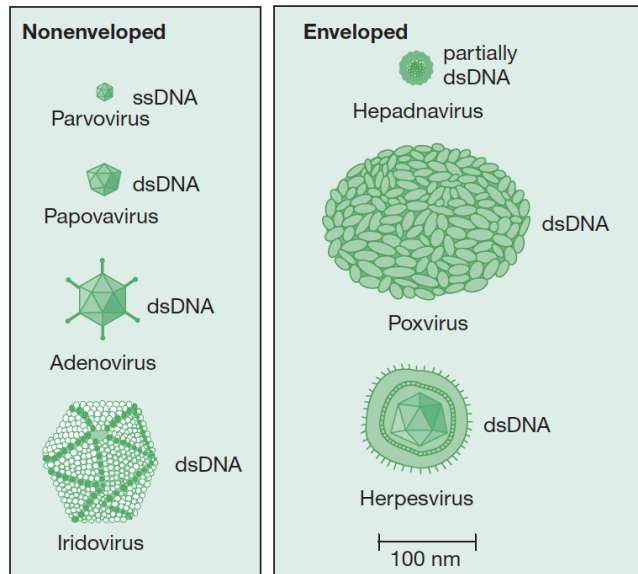
1. SARS-CoV 2: generalidades.

2. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas moleculares.

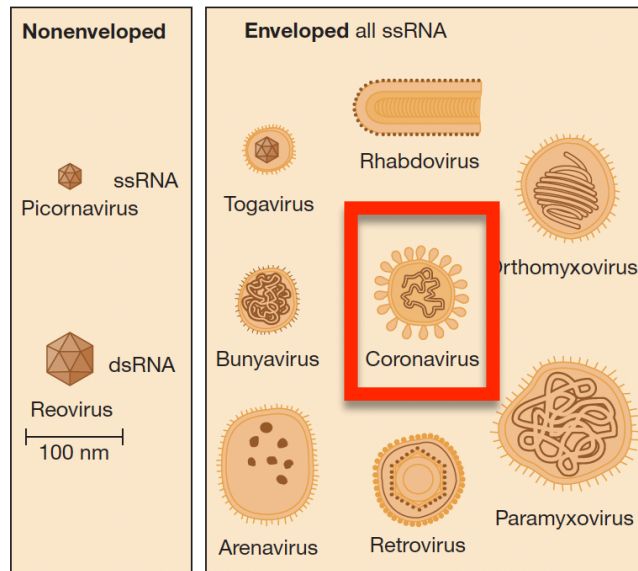
3. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas serológicas.

4. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas rápidas de detección
de antígenos virales.





(a) **DNA viruses**



(b) **RNA viruses**

Figure 9.21 Diversity of animal viruses. The shapes and relative sizes of the major groups of vertebrate viruses. The hepadnavirus genome has one complete DNA strand and part of the complementary strand (↻ Section 21.11).

Familia: Coronaviridae

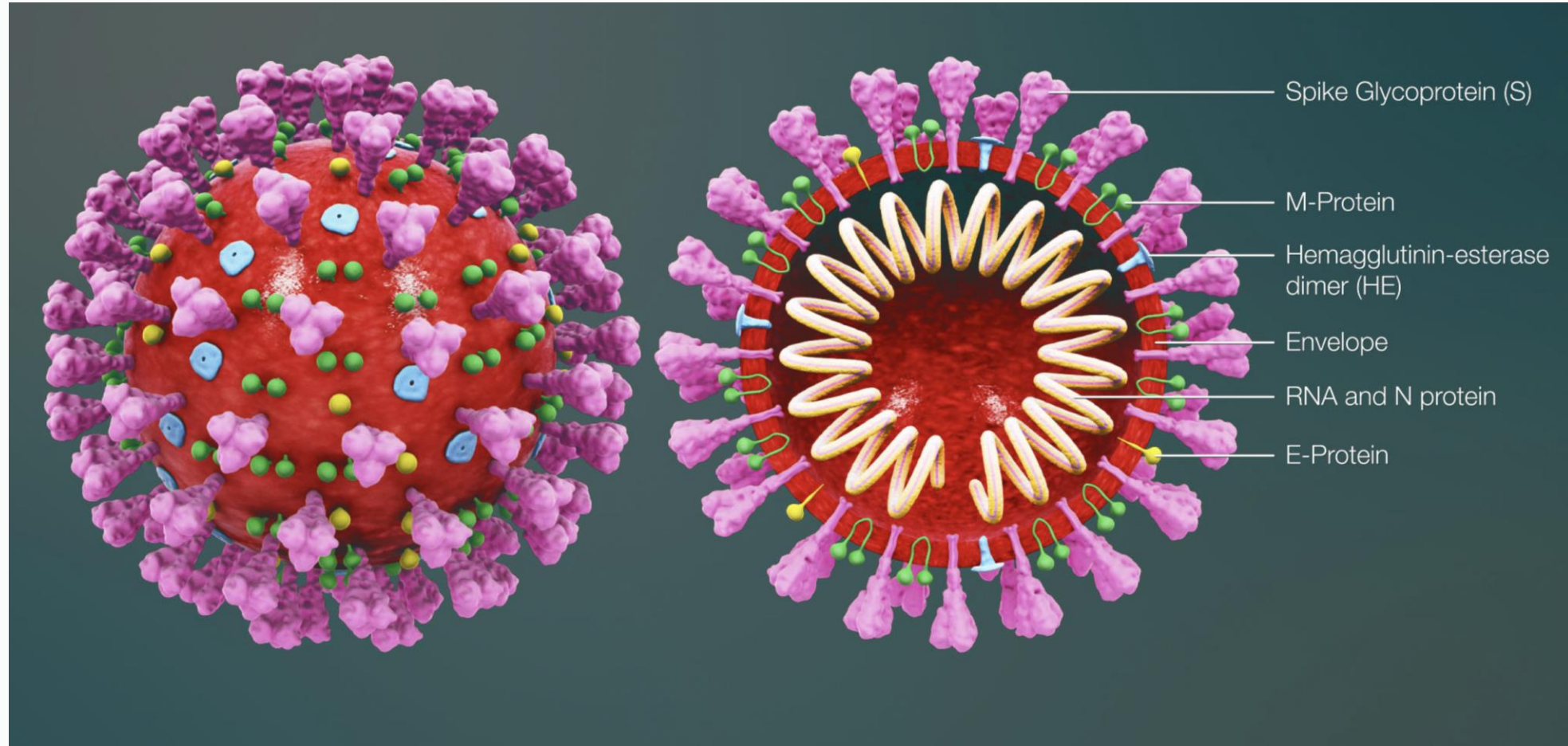
Géneros: **Alphacoronavirus**, **Betacoronavirus**,
Gammacoronavirus y Deltacoronavirus.

Genoma de gran tamaño: 30 MB.

Gran capacidad de **recombinación**.

Origen animal.

CORONAVIRUS: estructura.



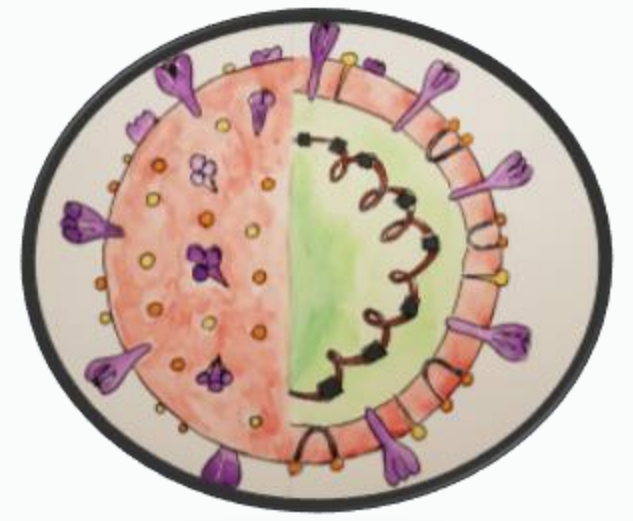
Son virus con una única hebra de **RNA +**, con **envoltura** y un tamaño de 80-160 nm.

1. SARS-CoV 2: generalidades.

**2. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas moleculares.**

3. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas serológicas.

4. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas rápidas de detección
de antígenos virales.

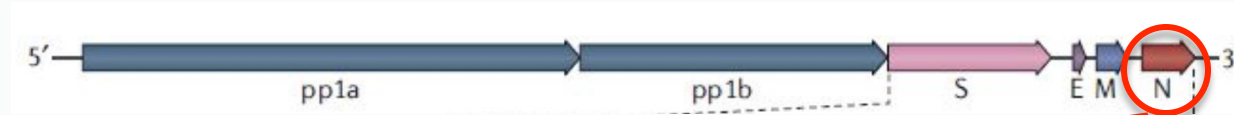


Técnicas moleculares

1. RT-qPCR

2.Otras.

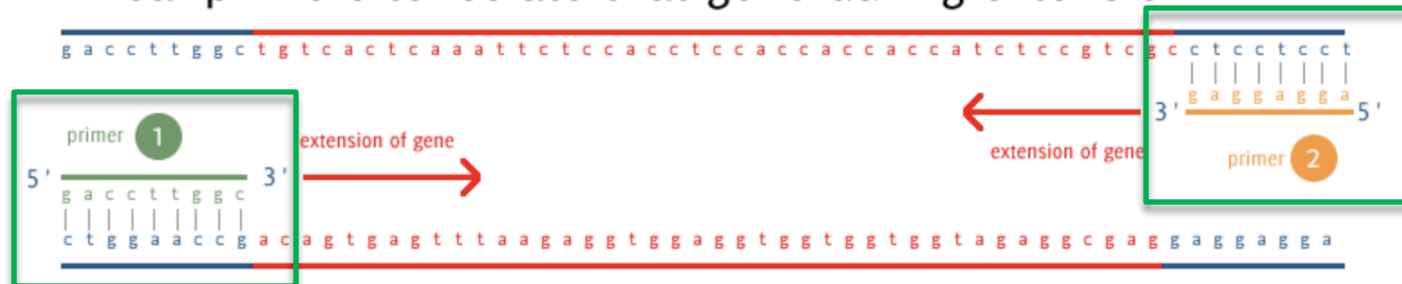
qPCR: ¿cómo detectamos los genes?



Find the sequences just before and after the desired gene

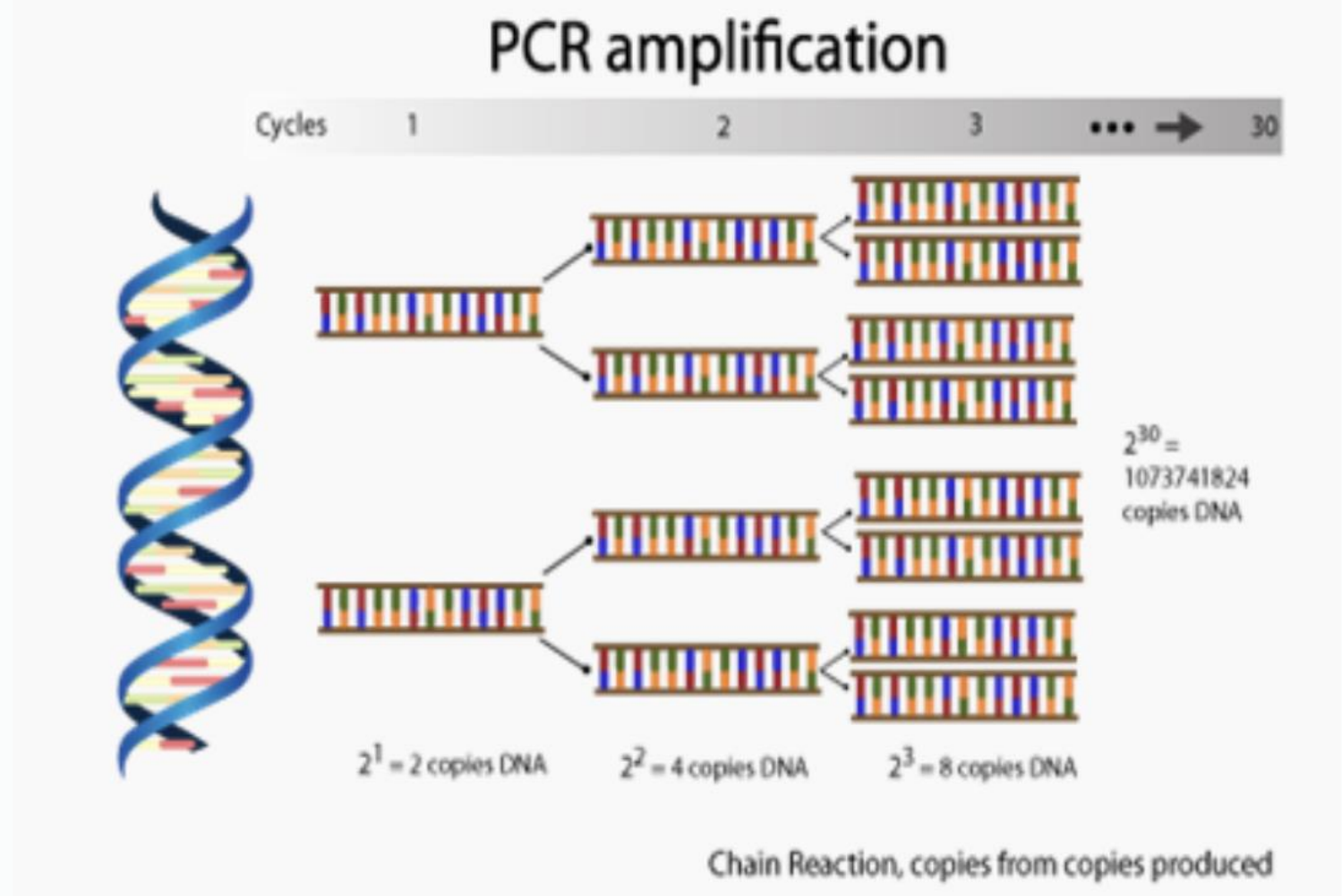
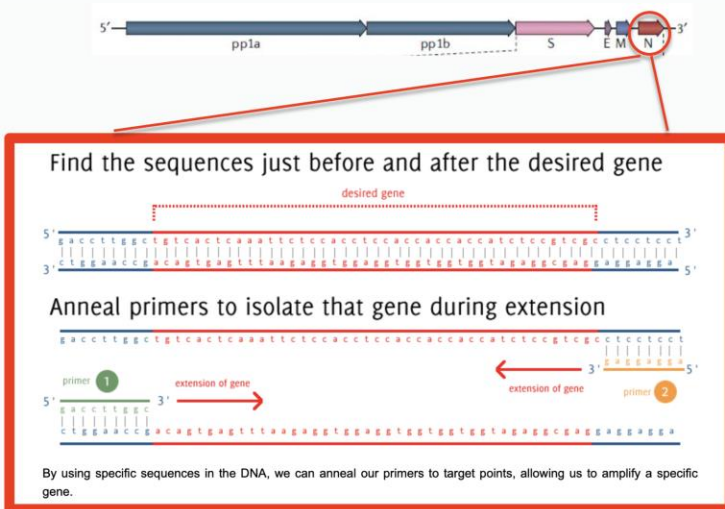


Anneal primers to isolate that gene during extension



By using specific sequences in the DNA, we can anneal our primers to target points, allowing us to amplify a specific gene.

qPCR: AMPLIFICACION de un segmento del genoma



Se generan millones de copias de los segmentos del genoma seleccionados

Detección de SARS-CoV 2: ¿Qué genes seleccionar?



China CDC (x2) : ORF 1ab + N

USA CDC (x2): N (Pan betacoronavirus + específico)

Charite, Alemania (x3): RdRP, E, N

Instituto Nacional de Tailandia (x1): N

¿Cuál es la sensibilidad de las técnicas moleculares?

Sensibilidad analítica.

Sensibilidad clínica.

Sensibilidad clínica.

Difícil de establecer porque no existe un patrón de referencia.

Sensibilidad inicialmente: 60-70%

Posteriormente, se vio que **la sensibilidad depende de muchos factores:**

Tipo de muestra.

Calidad de la muestra.

Momento de la infección: vrrss (<7d) vrrii (>7d).

Test diagnóstico (p.ej. plataforma comercial).

Biología del propio virus (mutaciones en genes diana).

Sensibilidad clínica según tipo de muestra.

Lavado broncoalveolar



Esputo



VVRRSS

¿Qué tipo de muestra debo enviar ?

- Muestra de vrrss:

No está claro cual es la mejor muestra.

Algunos estudios han demostrado una mayor tasa de (+) y >CV en FN/FNF vs FOF

- Otras muestras respiratorias:

En caso de sospecha de infección de vrrii + PCR(-) de vrrss.

Esputo, aspirado traqueal, LBA.

No recomendado esputo inducido.

¿ Saliva como tipo de muestra para el diagnóstico?

Mejor tolerancia por el paciente.

Mayor seguridad para el personal sanitario.

Menor consumo en los EPIs.

Muy buenos resultados:

En algunos estudios $S=85\%$ vs FNF.

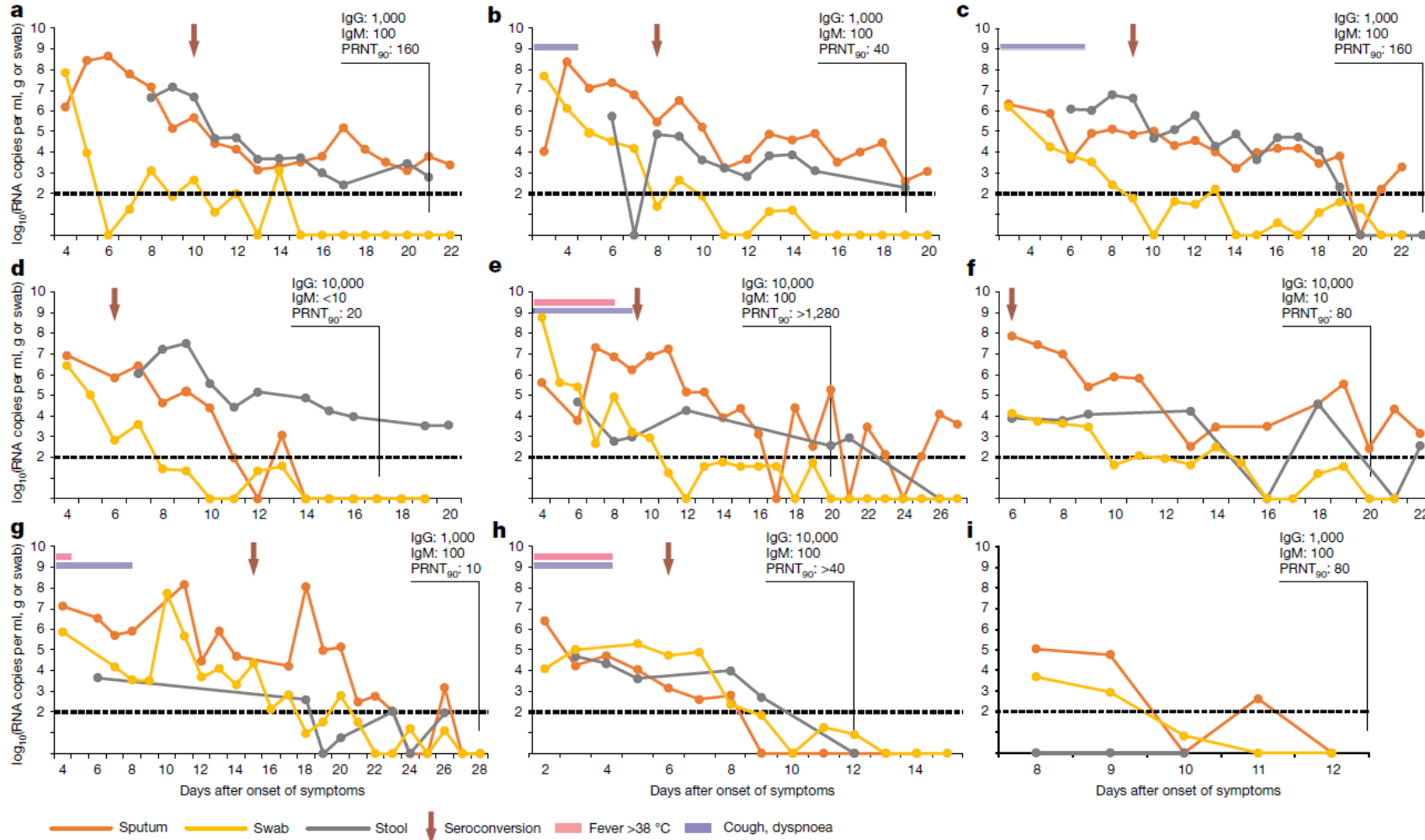
En otros incluso $> S$ que FNF o FN.

Aparte de muestras respiratorias,
¿en qué tipo de muestras se ha detectado RNA viral?

En pacientes con infección por SARS-CoV 2, se ha detectado PCR (+) en :

- Sangre completa.
- Suero.
- Heces.
- Orina.
- Otras.

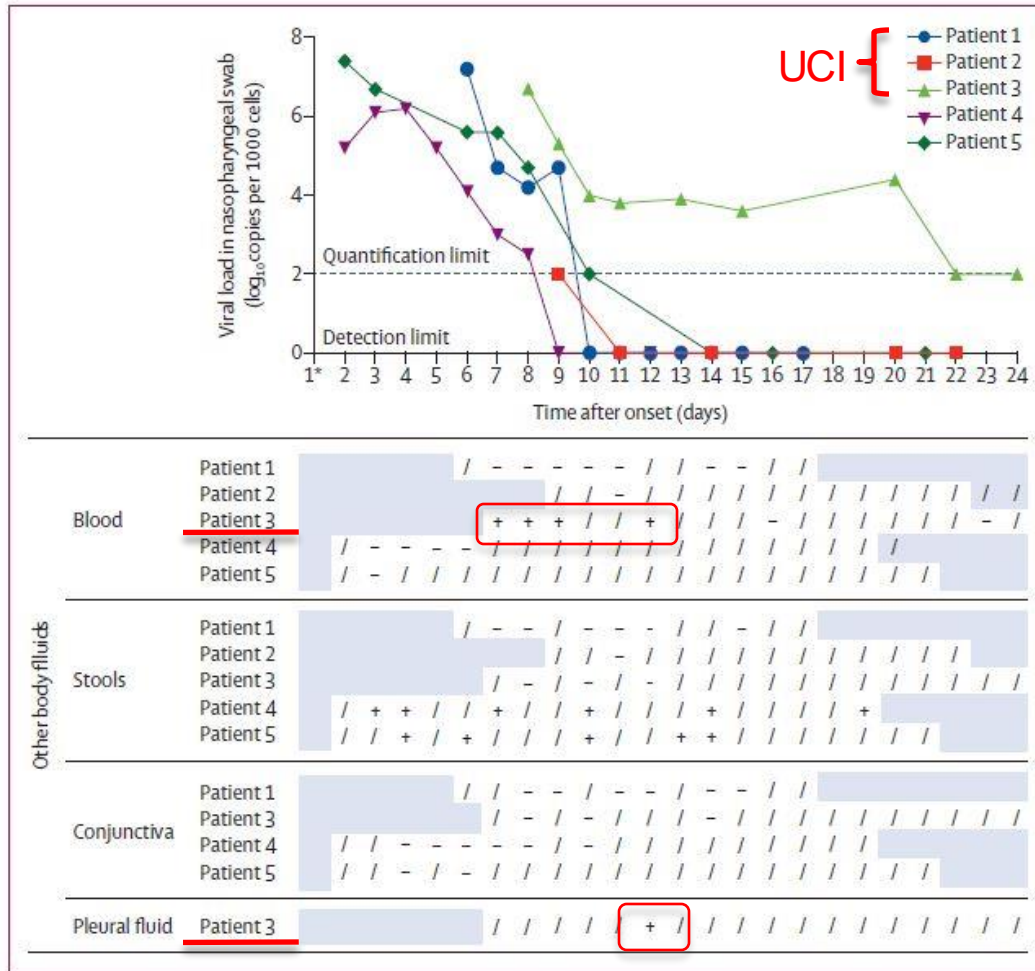
Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019



PCR suele negativizar tras aparición de Acs, pero no sincrónicamente.

Los niveles de RNA fluctúan.

Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series



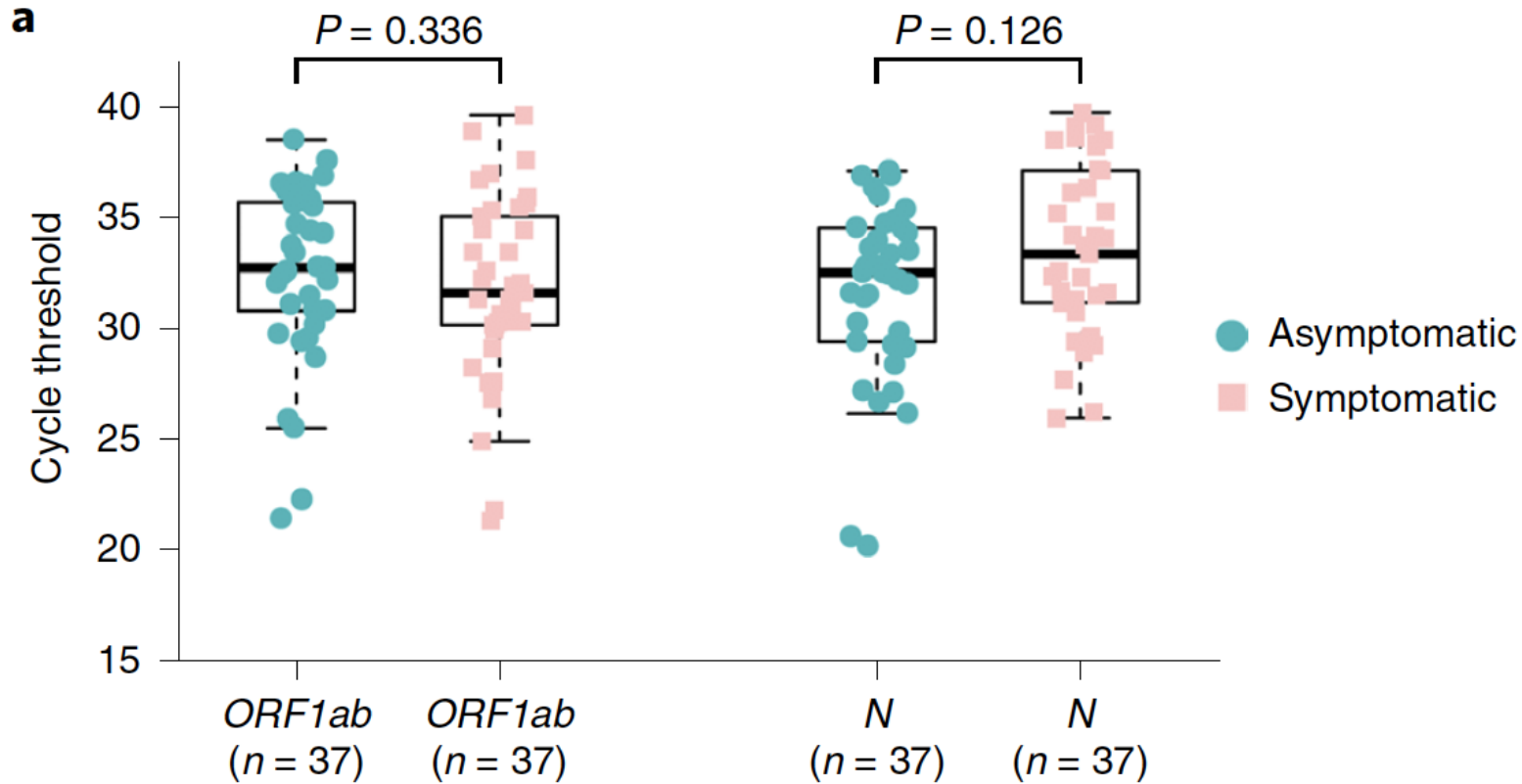
Pacientes graves:

1. **>CV.**
2. **> Persistencia viral.**
3. Detección en múltiples localizaciones.
4. Disociación CV-síntomas (pac. 1 y 2).

Figure 3: Overall dynamics of the nasopharyngeal viral load and virus detection in other body fluids in the five COVID-19 cases in France
 COVID-19=coronavirus disease 2019. / indicates not done, + indicates a positive result, and - indicates a negative result. *COVID-19 symptom onset.

¿Y qué pasa con las infecciones asintomáticas?

Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections



Distrito de Wanzhou, China.

Estudio de 37 pacs sint. y 37 asint.

Valores de Ct similares.

POTENCIALMENTE = contagiosidad.

¿Es infeccioso / contagioso mi paciente?

1. Salud Pública: control de la pandemia.

2. Reincorporación bajas laborales.

3. Reincorporación centros escolares.

Etc, etc, etc.

Criterios de ausencia de contagiosidad/transmisibilidad del paciente

1. Clínicos.

2. Analíticos:

Cultivos celulares.
sgRNA.

EN LA PRÁCTICA: x1 PCR (-).; x2 PCR (-);

ESTRATEGIA DE DETECCIÓN PRECOZ, VIGILANCIA Y CONTROL DE COVID-19

Actualizado 25 de septiembre de 2020

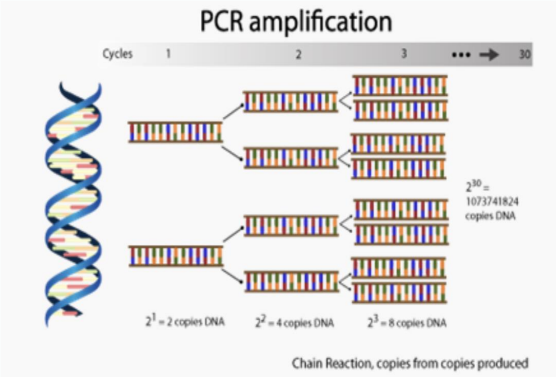
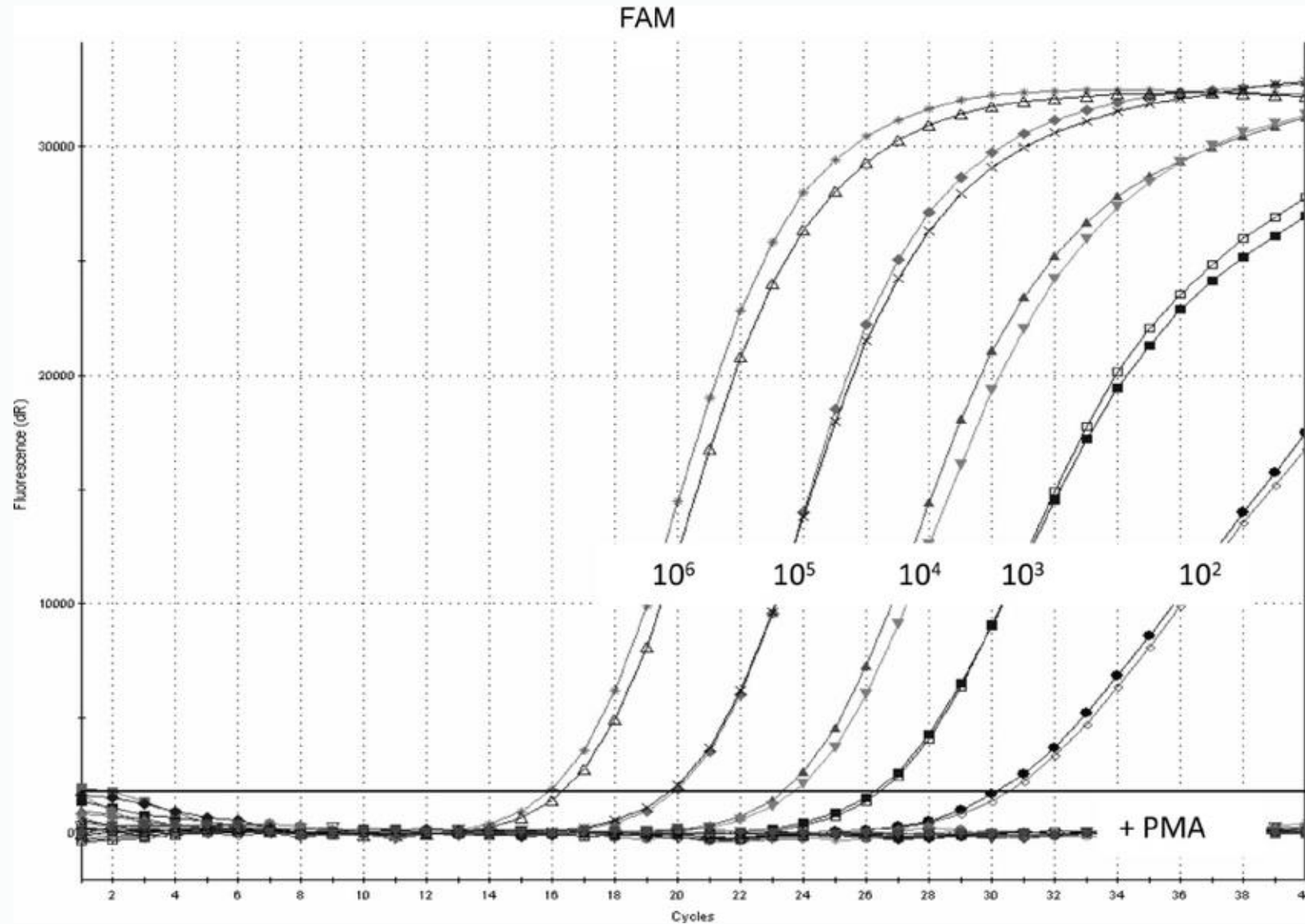
Ámbito laboral

Personal sanitario y sociosanitario

El personal sanitario y socio-sanitario que resulten casos confirmados y no requieran ingreso hospitalario serán manejados de la misma forma que la población general en cuanto al aislamiento. Estas personas trabajadoras se podrán reincorporar a su puesto de trabajo tras 10 días del inicio de síntomas siempre que permanezcan asintomáticas al menos 3 días y tras la realización de una prueba de diagnóstico que indique ausencia de transmisibilidad, bien sea por una determinación positiva de Ig G por una técnica de alto rendimiento o por una PCR negativa o que, aún siendo positiva, lo sea a un umbral de ciclos (Ct) elevado⁷.

⁷ Por consenso se admite que un Ct>30-35 equivaldría a una carga viral sin capacidad infectiva. Sin embargo, este criterio debe ser validado por el laboratorio responsable en cada caso.

Ct = Cycle treshol = Ciclo umbral.



¿Utilizar Ct como marcador de (No) contagiosidad?

El valor de Ct depende de:

Tipo de muestra.

Número de genes detectados.

Plataforma comercial.

Reactivos utilizados.

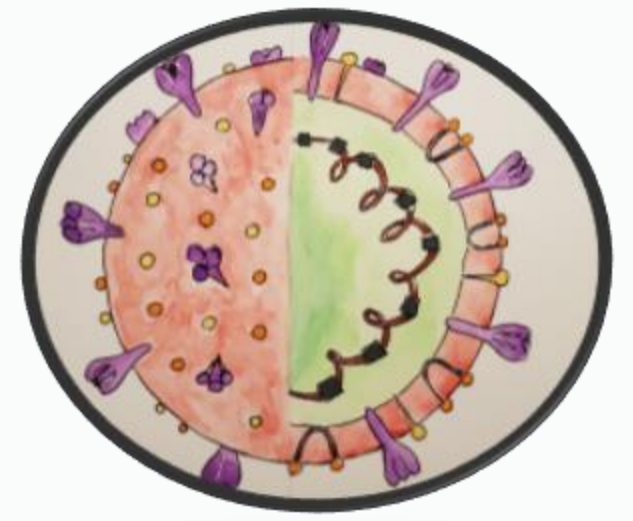
Variabilidad intra e interensayo.

1. SARS-CoV 2: generalidades.

2. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas moleculares.

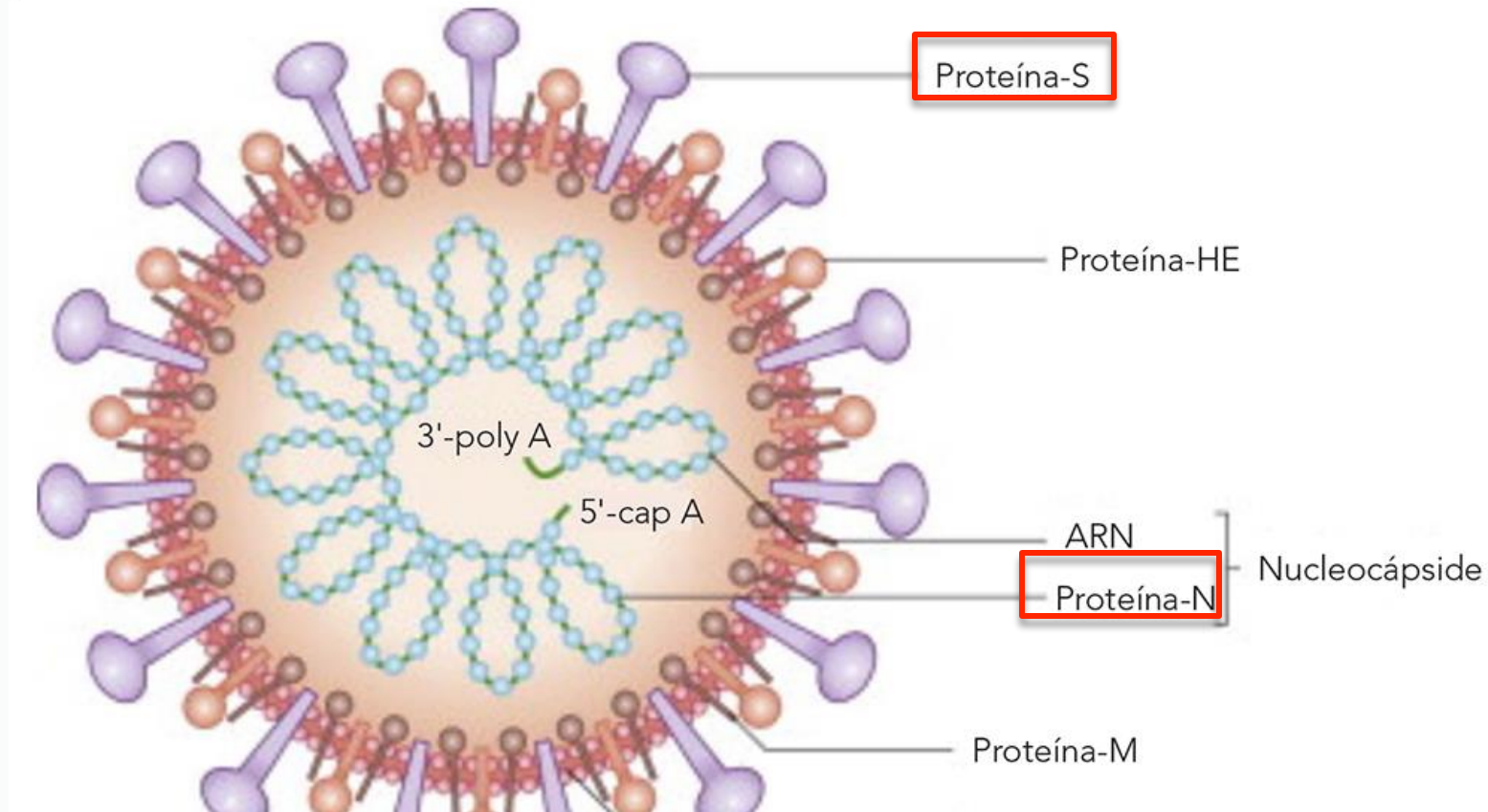
**3. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas serológicas.**

4. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas rápidas de detección
de antígenos virales.



¿Cuáles son los principales antígenos virales del virus SARS- CoV 2?

Figura 5. Coronavirus con sus Principales Proteínas Indicadas



¿Cuáles son los principales tipos de Acs detectados en la infección por SARS-Cov2?

1. Según la **clasificación inmunológica:**

IgG.

IgM.

IgA.

Total: potencialmente todos.

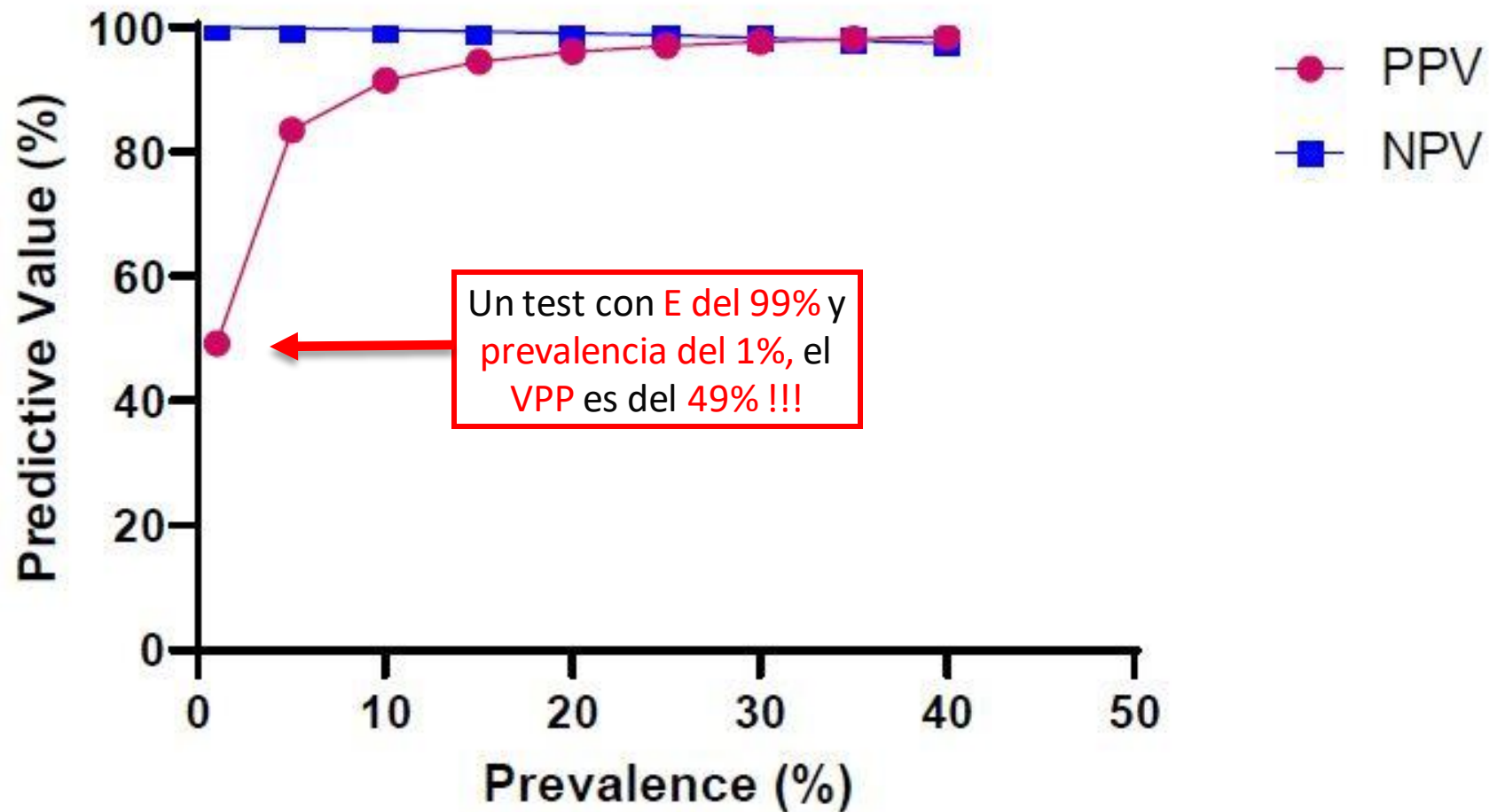
2. Según su **función:**

✓ **Neutralizantes + No neutralizantes.**

✓ Ambos tienen utilidad diagnóstica.

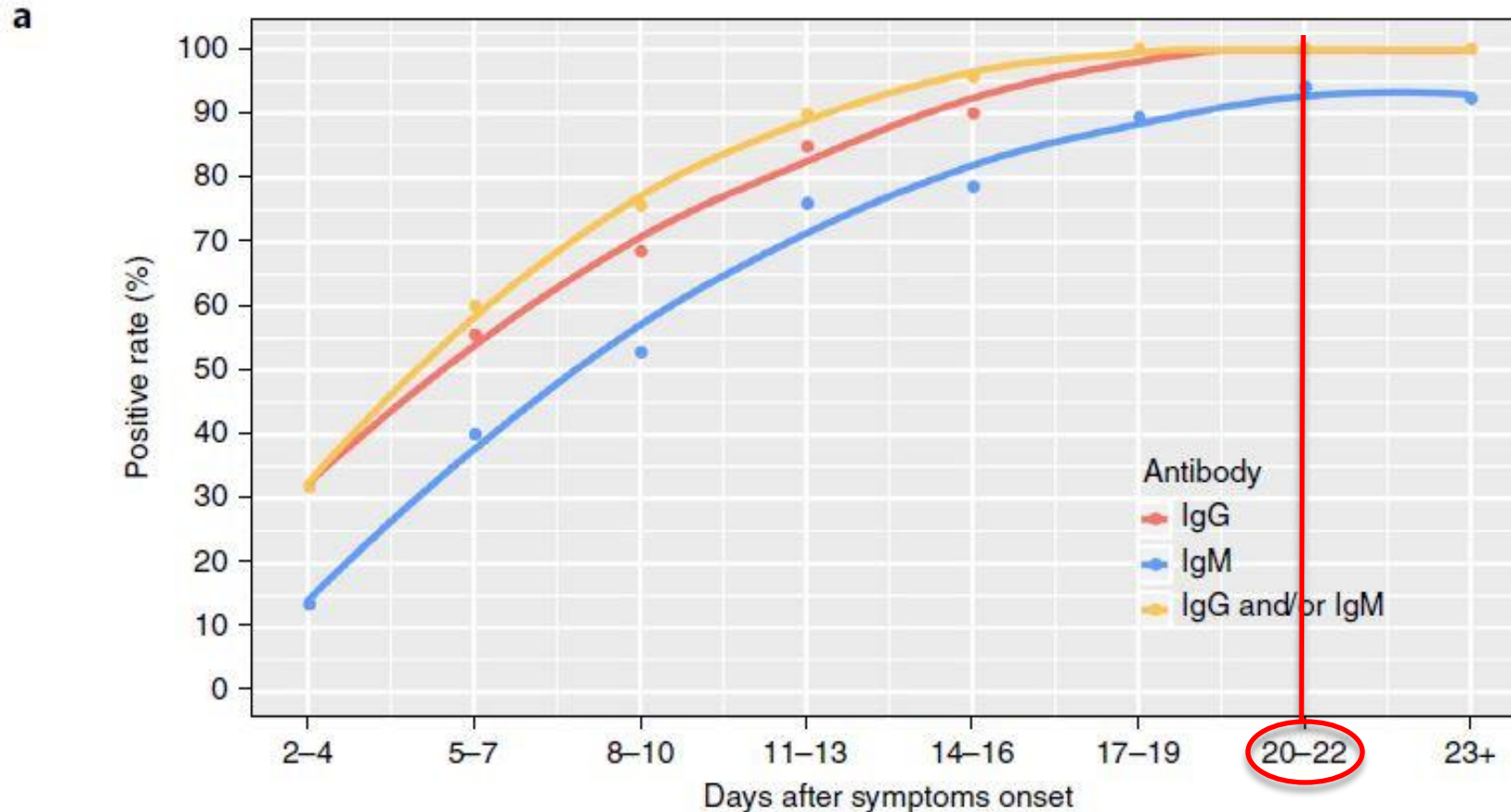
✓ **Sistemas comerciales NO DIFERENCIAN
ambos tipos.**

¿Cuál es la probabilidad *a priori* de infección?



¿Cuál es la dinámica de anticuerpos?

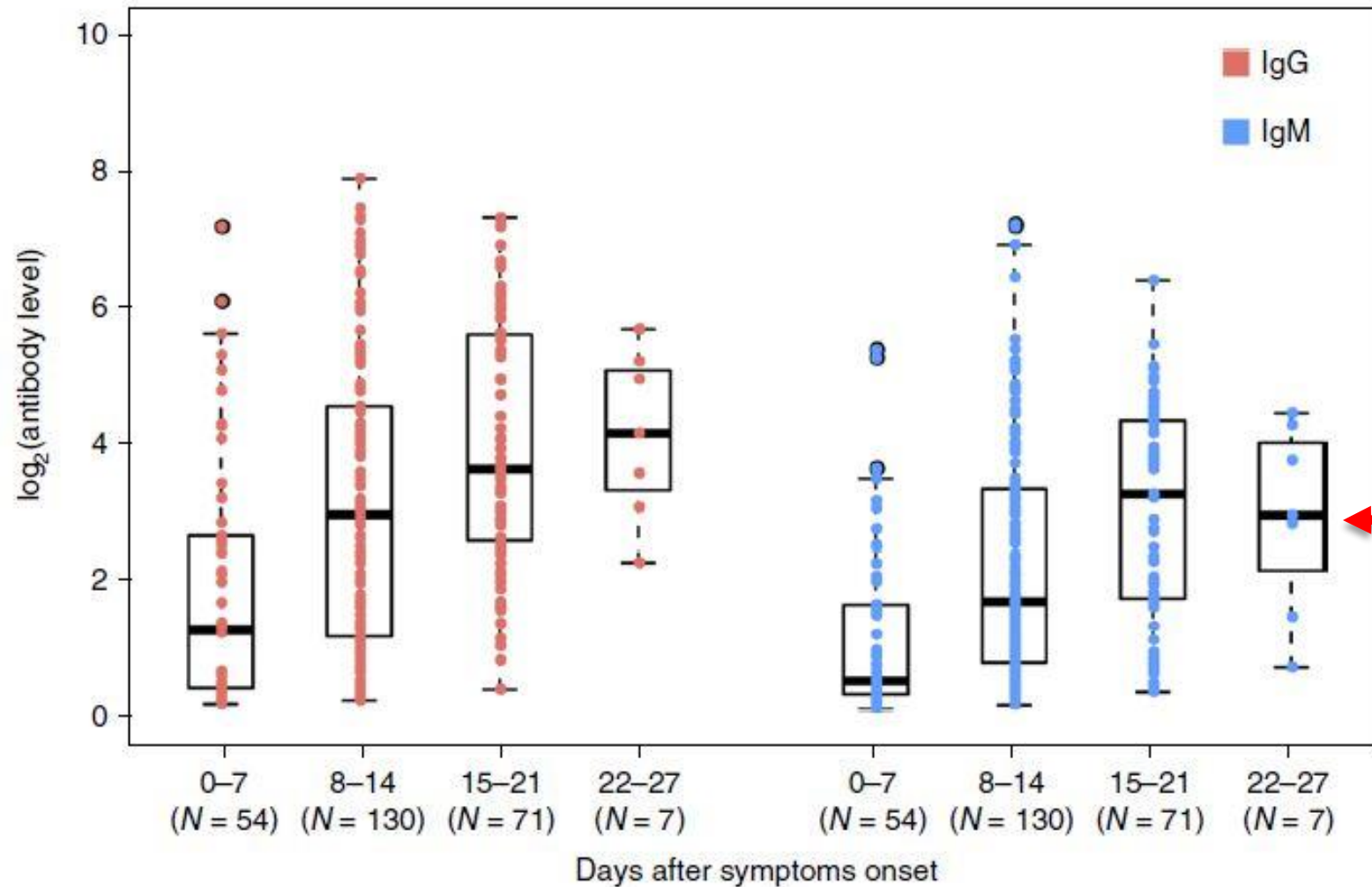
Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19



Los niveles se estabilizan a las **3 semanas** desde comienzo de síntomas.

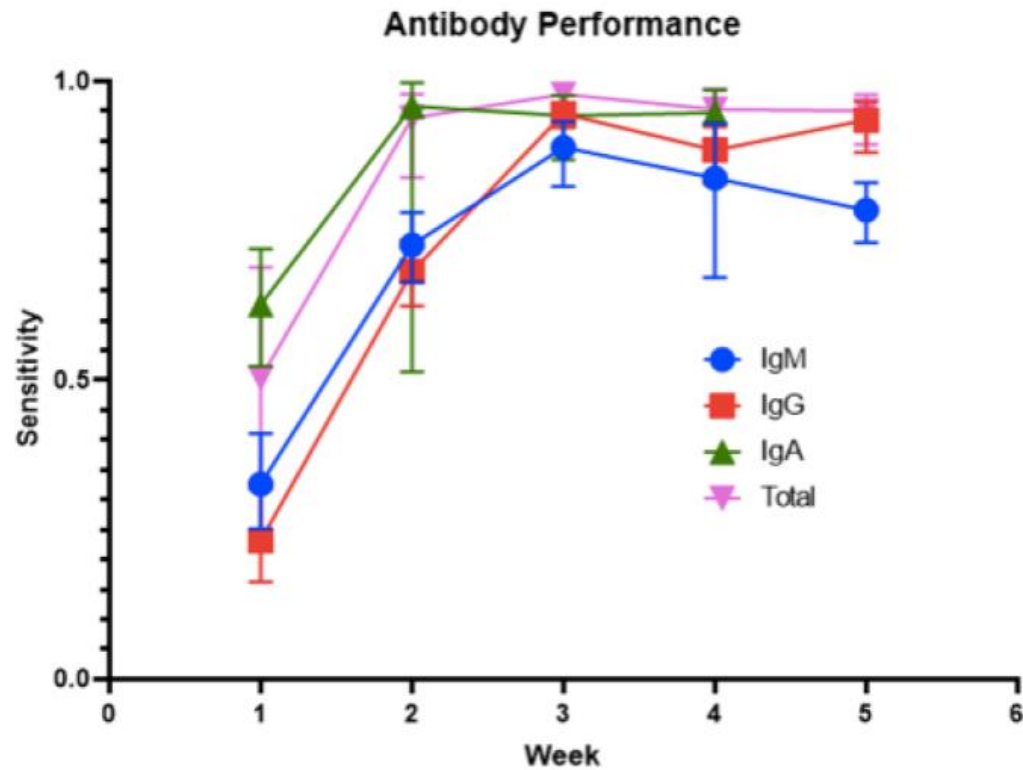
¿Cuál es la dinámica de anticuerpos?

Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19



IgM comienza a descender a las 3 semanas

¿Qué tipo de Ig deben incluir las técnicas diagnósticas?



Footnote: This figure summarizes the pooled sensitivity with 95% confidence intervals of antibody classes per week post-symptom onset. The estimates were derived from the 24 studies and seven package inserts informing recommendations 1 through 5.

- La detección de IgG ó Acs totales: a partir de la 3^a semana.

- ¿¿IgM a partir de la 3^a semana??(<S).

- **NO se recomienda la determinación de IgA.**

La SEROLOGIA puede ser UTIL para...

1. Diagnóstico de paciente de alta sospecha en caso de PCR repetidamente negativas en pacs. sintomáticos \geq 2semanas.
2. Diagnóstico de infección pasada.
3. Estudios de seroprevalencia.
4. Diagnóstico del síndrome inflamatorio multisistémico en niños (MIS-C).

La SEROLOGIA NO es útil para...

1. Determinar la inmunidad frente a SARS CoV-2.
2. Riesgo de reinfección.
3. Modificar el uso de EPIs.
4. Modificar medidas de distanciamiento social.
5. Retorno al trabajo.
6. Eficacia de la vacuna.
7. Resolución de la infección (¿infección persistente?).

NO ESTÁ CLARO si la serología sirve para...

Poblaciones especiales: inmunodeprimidos, niños, y enfermedades autoinmunes.

Una serología negativa puede significar...

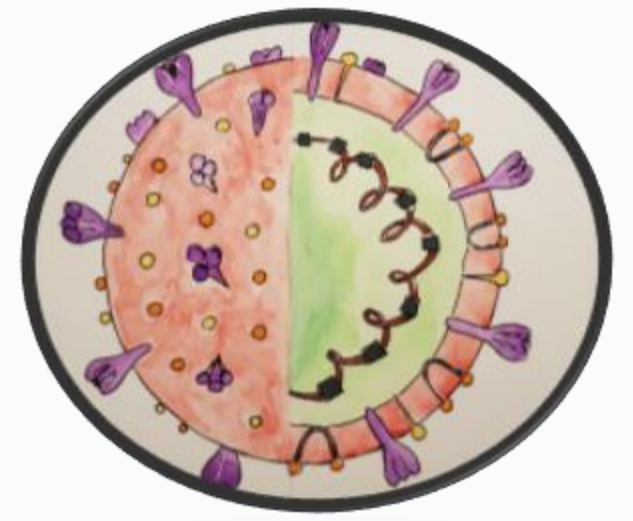
1. La persona no ha sido infectada.
2. La persona ha sido infectada recientemente.
3. La persona ha sido infectada pero eliminado el virus sin inmunidad humoral.
4. La persona ha sido infectada pero con niveles de Acs por debajo umbral detección.
5. Y además, **NO SABEMOS SI LA PERSONA ES SUSCEPTIBLE A LA INFECCIÓN.**

1. SARS-CoV 2: generalidades.

2. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas moleculares.

3. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas serológicas.

**4. Diagnóstico microbiológico:
Técnicas rápidas de detección
de antígenos virales.**



¿Cuál es el papel de los test rápidos de detección antigénica?



CONSIDERACIONES SEIMC SOBRE LA DETECCIÓN DE ANTIGENOS FRENTE A SARS-CoV-2: ¿Cuáles?

¿Cómo? ¿A quién? ¿Dónde? ¿Quién? ¿Cuándo?

27 de septiembre 2020

- Tests deben tener una $S > 80\%$ y una $E > 97\%$ (OMS).
- Toma de muestra en condiciones de bioseguridad.
- Muestra: FN/FNF/FOF.
- **Debería quedar registrada en los SIL.**
- Indicaciones:
- Pacientes **sintomáticos** en los primeros **7 días /** (protocolo Ministerio **5 días**).
- **No está claro su papel en contactos asintomáticos.**
- Quien? Si disponible, laboratorio de Microbiología Clínica.
- **La iniciativa debería ser liderada por microbiólogos**

Panbio antigen rapid test is reliable to diagnose SARS-CoV-2 infection in the first 7 days after the onset of symptoms

Table 2. Agreement between antigenic test and PCR.

≤ 5 days				< 7 days				≥ 7 days			
		PCR				PCR				PCR	
		+	-			+	-			+	-
Antigen	+	29	0	Antigen	+	32	0	Antigen	+	7	0
	-	5	100		-	5	103		-	6	29

Estudio Preprint.

España: 257 pacientes; sint. + asint.;
origen: UH + AP;

La **S** en pacs sínt.< 7d: **86%**

La **S** en pacs sínt.> 7d: **53%**

La **E** total es del **100%**.

Una reflexión en voz alta para el facultativo solicitante...

1. La prueba de laboratorio que he solicitado, ¿qué información me aporta?. ¿qué pregunta me va a responder?.
2. ¿Va a cambiar mi actitud terapéutica / pronóstico según el resultado obtenido?.
3. ¿Alguna vez hemos pensado en el VPP / VPN de un test diagnóstico?.
4. **¿He pensado previamente que voy a hacer si el resultado es...NEGATIVO O POSITIVO?.**

¡¡GRACIAS !!