



DOI: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v7i3.1994>

Ciencias de la salud
Artículo de investigación

***COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en
pruebas de diagnóstico molecular y serológicas***

***COVID-19 Implications and interpretation of seropositivity / negativity in
molecular and serological diagnostic tests***

***COVID-19 Implicações e interpretação da soropositividade / negatividade em
testes de diagnóstico molecular e sorológico***

Johana Magali Enríquez-Ipial ^I

jhoannae525@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-2151-9632>

Melany Joely Reyes-Tumbaco ^{II}

jmelanyr21@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-6453-6363>

Edison Gastón Pincay-Parrales ^{III}

edison.pincay@unesum.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0001-6161-3327>

Correspondencia: jhoannae525@gmail.com

***Recibido:** 28 de mayo del 2021 ***Aceptado:** 25 de junio del 2021 *** Publicado:** 02 de julio del 2021

- I. Egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal del Sur de Manabí, Jipijapa, Ecuador.
- II. Egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal del Sur de Manabí, Jipijapa, Ecuador.
- III. Licenciado en Laboratorio Clínico, Magister en Gerencia Hospitalaria, Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal del Sur de Manabí, Jipijapa, Ecuador.

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

Resumen

COVID-19 causado por el Síndrome Respiratorio Agudo Grave, representa para el mundo la enfermedad de mayor crecimiento en la actualidad, el desafío fundamental lo representan las infraestructuras de diagnósticos como el mecanismo principal de contención por lo cual detectar su presencia constituye una actividad importante. Diversos han sido los métodos de diagnósticos empleados, existiendo diferencia entre los test utilizados en cuanto a especificidad y sensibilidad es por ello que el objetivo de esta investigación se enfoca en determinar implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas para la COVID-19”, este estudio es de tipo descriptivo, observacional, de corte transversal, método bibliográfico, para obtener la información se recurrió a los buscadores y plataformas como SciELO, MEDLINE, Google Scholar, medRxiv y PubMed, se empleó el uso de boleano “AND”, descartando el uso de “or”, como resultado de la investigación se logró documentar que RT-PCR (Reacción de Cadena de polimerasa con transcriptasa inversa) detecta y amplifica una o varias regiones específicas del virus, cuenta con estudios que han demostrado alta sensibilidad para el diagnóstico con una tasa de aciertos del 95% y sin reactividad cruzada con otros virus y coronavirus, sin embargo, los ensayos serológicos, son aquellos que permiten detectar los anticuerpos (IgM, IgG o IgA) generados como parte de la respuesta inmune del individuo contra el virus SARS-CoV-2. Se concluye que la combinación de ambas técnicas, permite conocer la presencia del virus y la etapa en la que se encuentra la infección.

Palabras claves: SARS-CoV-2; RT-PCR; anticuerpos; antígenos; virus.

Abstract

COVID-19, caused by severe acute respiratory syndrome, represents the fastest growing disease in the world today, the fundamental challenge is represented by the diagnostic infrastructures as the main containment mechanism for which detecting its presence constitutes an important activity. The diagnostic methods used have been diverse, and there is a difference between the tests used in terms of specificity and sensitivity, which is why the objective of this research focuses on determining the implications and interpretation of seropositivity / negativity in molecular and serological diagnostic tests for COVID-19 ”, this study is of a descriptive, observational, cross-sectional, bibliographic method, to obtain the information, search engines and platforms such as SciELO, MEDLINE, Google Scholar, medRxiv and PubMed were used. boolean "AND", discarding the use of "or", as a result of

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

the research it was possible to document that RT-PCR (Polymerase Chain Reaction with reverse transcriptase) detects and amplifies one or several specific regions of the virus, has studies that have shown high sensitivity for diagnosis with a 95% success rate and no cross-reactivity with other viruses and coronaviruses, however, serological tests are those that make it possible to detect the antibodies (IgM, IgG or IgA) generated as part of the individual's immune response against the SARS-CoV-2 virus. It is concluded that the combination of both techniques allows knowing the presence of the virus and the stage of the infection.

Keywords: SARS-CoV-2; RT-PCR; antibodies; antigens; viruses.

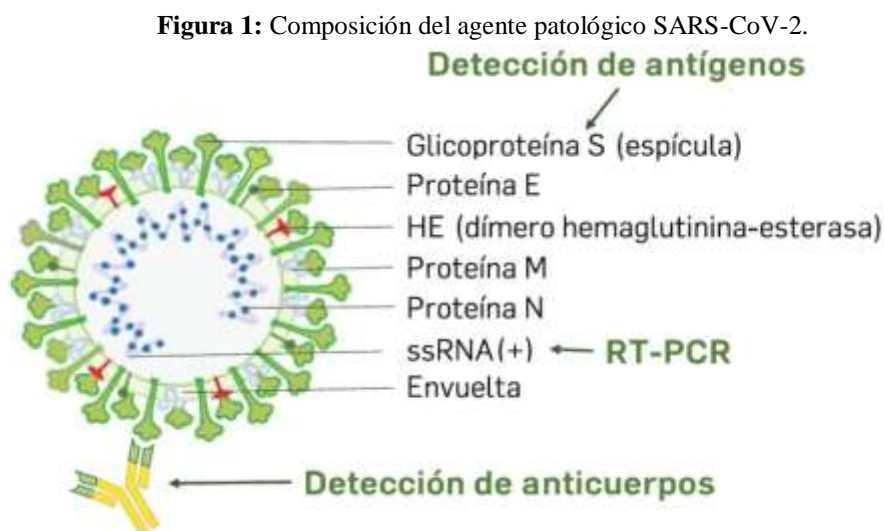
Resumo

A COVID-19, causada pela Síndrome Respiratória Aguda Grave, representa a doença de crescimento mais rápido no mundo hoje, o desafio fundamental é representado pelas infra-estruturas de diagnóstico como o principal mecanismo de contenção para o qual a detecção da sua presença constitui uma atividade importante. Os métodos diagnósticos utilizados têm sido diversos, existindo uma diferença entre os testes utilizados em termos de especificidade e sensibilidade, razão pela qual o objetivo desta pesquisa se concentra em determinar as implicações e interpretação da soropositividade / negatividade em testes diagnósticos moleculares e sorológicos para COVID-19 ", este estudo é de um método descritivo, observacional, transversal, bibliográfico, para obtenção das informações, foram utilizados buscadores e plataformas como SciELO, MEDLINE, Google Scholar, medRxiv e PubMed. Booleano " AND ", descartando o uso de "ou", como resultado da pesquisa foi possível documentar que a RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase com Transcriptase Reversa) detecta e amplifica uma ou várias regiões específicas do vírus, possui estudos que têm demonstrado alta sensibilidade para diagnóstico com uma taxa de sucesso de 95% e nenhuma reatividade cruzada com outros vírus e coronavírus. Porém, os testes sorológicos são aqueles que permitem detectar os anticorpos (IgM, IgG ou IgA) gerados na resposta imunológica do indivíduo contra o vírus SARS-CoV-2. Conclui-se que a combinação das duas técnicas permite conhecer a presença do vírus e o estágio da infecção.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; RT-PCR; anticorpos; antígenos; vírus.

Introducción

El Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS - CoV-2), agente del COVID-19, al igual que otros coronavirus, su envoltura presenta una glicoproteína en forma de espícula (proteína S), adosada a la cápside que le da aspecto de corona. La proteína S garantiza la interacción entre el virus y la célula diana del paciente para su transmisión (1) La figura 1 muestra un esquema con la estructura del agente patológico.



COVID-19 es responsable de una importante morbilidad y mortalidad a nivel mundial, la cual ha sido abordada por la ciencia desde diferentes perspectivas, tales como aspectos sanitarios, sociales y económicos, provocando una gran expansión global y un gran número de personas contagiadas debido a la alta tasa de transmisibilidad del virus que, si bien, en la mayoría de estas personas los síntomas son leves, no es menor la cantidad de personas que pueden agravarse, y así, poner en jaque los sistemas de salud.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la pandemia generada por COVID-19 afecta casi al 90% de la población del mundo (2).

La elevada letalidad del virus ha enfatizado la importancia del diagnóstico de laboratorio de las infecciones por coronavirus humano para limitar la propagación y tratar adecuadamente a los pacientes que tienen una infección grave, por ende, existen métodos para la detección de SARS-CoV-2: PCR o prueba de la reacción en cadena de la polimerasa, se basa en tecnología molecular

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

de detección y amplificación de ácidos nucleicos. Utiliza el material genético ARN del SARS-CoV-2 en distintas muestras biológicas clínicas para la identificación (3) El PCR representa la técnica de referencia para el diagnóstico de COVID-19 (4)

Para la implementación del PCR se sigue un flujo de trabajo compuesto por las siguientes siete actividades: diagnóstico clínico; recogida de la muestra; recepción y manipulación de la muestra; extracción de ácido ribonucleico; reacción en cadena de la polimerasa; amplificación y detección; y por último la formulación y expresión de los resultados.

PCR es útil en las tres primeras semanas de infección y es el estándar de referencia recomendado por la OMS.

El segundo criterio de diagnóstico es mediante la detección de los anticuerpos producidos por el sistema inmunitario de los pacientes, Con el objetivo de identificar anticuerpos IgM e IgG, se aplican diferentes técnicas como: ELISA, CLIA, inmunocromatográfica, entre otras. La prueba serológicas consiste en detectar la presencia de anticuerpos IgM e IgG frente SARS-CoV-2 en una muestra de sangre, suero o plasma. Hay test que detectan los anticuerpos totales y otros que diferencian entre las IgM e IgG y pueden detectar aisladamente IgG o IgM o ambas.

Para la implementación de la prueba serológicas al igual que el PCR se sigue un flujo de trabajo que parte del diagnóstico clínico; recogida de la muestra; recepción y manipulación de la muestra; procesamiento; formulación y expresión de los resultados.

El test antígeno Inmunocromatográfico se realiza para la obtención de un diagnóstico rápido, aunque estudios realizados confieren baja sensibilidad. Por su parte el test de anticuerpos inmunocromatográfico busca la identificación en el sistema inmunológico de los anticuerpos IgG-IgM.

No obstante, estas técnicas de diagnóstico poseen funcionamiento y características que lo singularizan. Sin embargo, cada prueba desarrollada posee disimilitud. Entonces, ¿Qué prueba diagnóstica es más eficaz para la detección de SARS-CoV-2? teniendo en cuenta que se impone un reto para la comunidad científica en función de hacer frente a la gran necesidad de tecnologías de diagnóstico con sensibilidad, precisión y rapidez.

Se necesita evidencia científica adicional para evaluar la precisión y confiabilidad de las pruebas diagnósticas disponibles (pruebas moleculares y serológicas). Aunque estas pruebas podrían resultar útiles, su precisión necesita validación dado el potencial de propagación de la enfermedad,

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

se debe conocer muy bien su desempeño analítico y clínico, así como también considerar los posibles falsos positivos, falsos negativos a la hora de la interpretación (5).

La revisión bibliográfica, se basa en literatura científica disponible que responda fundamentalmente al objetivo: Determinar implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas para la COVID-19". Puesto que, hace más efectivo el diagnóstico, tratamiento y permite priorizar recursos sanitarios que en la actualidad no cubren todas las demandas.

Metodología

Tipo y diseño de estudio

Estudio de tipo descriptivo, observacional, de corte transversal, método bibliográfico.

Para obtener la información se recurrió a los buscadores y plataformas como SciELO, MEDLINE, Google Scholar, medRxiv y PubMed, se utilizaron los términos Mesh "Diagnostic SARS-CoV-2", "Seropositividad SARS-CoV-2", "Implicaciones SARS-CoV-2", "Serologic SARS-CoV-2", "Pruebas moleculares SARS-CoV-2", se empleó el uso de boleano "AND", descartando el uso de "or".

Se identificaron artículos de revistas adicionales a partir de las bibliografías de los estudios incluidos.

Criterios de inclusión

Los criterios de inclusión fueron artículos provenientes de todos los países, publicados durante los últimos meses después de la aparición del SARS-CoV-2. En idiomas español e inglés, se incluyeron el análisis todos los estudios originales que informaban sobre Implicaciones e interpretación de SARS-CoV-2 como estudios de casos, estudios comparativos.

Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión fueron artículos relacionados con otra metodología de diagnóstico como estudios complementarios (Tomografías, rayos X, entre otros).

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

Resultados

Hasta el momento existe una amplia diversidad de métodos para el diagnóstico de SARS-CoV-2, sin embargo, los sistemas de salud del mundo toman como referencia a Reacción de Cadena de polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) que es una prueba de biología molecular en la que se detecta y amplifica una o varias regiones específicas del virus y cuenta con estudios que han demostrado alta sensibilidad para el diagnóstico con una tasa de aciertos del 95% y sin reactividad cruzada con otros virus y coronavirus. En este método la recolección de muestras es de las vías respiratorias superiores a través de hisopados nasofaríngeos u orofaríngeos, ya que proveen mayor carga viral. Sin embargo, en las muestras orofaríngeas hay mayor probabilidad de presentar falsos positivos/negativos. Hasta el momento se ha podido determinar que el virus puede ser detectado desde al menos 48 horas antes del inicio de síntomas (presintomáticos) y hasta 12-14 días (al menos 6-7 días) en muestras del tracto respiratorio superior (hisopado naso/orofaríngeo) y hasta por 20 días (o más) en muestras del tracto respiratorio inferior incluyendo esputo, aspirado traqueal, lavado bronquioalveolar, etc.

Por otro lado, los ensayos serológicos, son aquellos que permiten detectar los anticuerpos (IgM, IgG o IgA) generados como parte de la respuesta inmune del individuo contra el virus SARS-CoV-2. La presencia de los anticuerpos está relacionada con el momento en que se realiza la prueba. La IgA es el primer anticuerpo frente a la infección aparece a los 4-5 días del inicio de la infección, la IgM aparece a los 6-7 días del inicio de la infección y se detecta mayor positividad a los 15 días, relativizándose alrededor del día 20 desde el inicio de los síntomas, la IgG confiere probable inmunidad, aparece aproximadamente a los 15 días del inicio de la infección.

Las técnicas recomendadas son Enzimoinmunoensayo (ELISA) y Quimioluminiscencia (CLIA) por sus altos niveles de sensibilidad y especificidad. Otra técnica que se usa es la Inmunocromatografía que por ende son muy fáciles de realizar ya que detectan, en un solo paso, los anticuerpos contra el virus, sin embargo, tienen un rendimiento diagnóstico bajo en comparación con los ensayos ELISA, por lo cual pueden contribuir aún más a los resultados falsos negativos observados en las pruebas rápidas. Estos ensayos nos permiten estudiar al SARS-CoV-2 en individuos que han sido huésped del virus, inclusive cuando estos han sido asintomáticos durante la infección. Para estas pruebas se puede utilizar muestras de suero, plasma o sangre total, son complementarias y no sustituyen la detección del material genético viral por RT-PCR, por lo

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

general se debe tomar la muestra a pacientes con síntomas leves (nunca antes de 10 días de inicio de los síntomas).

La detección de antígenos es un diagnóstico alternativo el cual busca proteínas del virus, el mejor desempeño de estas pruebas se observa en pacientes con elevada carga viral (≤ 25 o copias de genoma viral $>10^6$ /mL), que generalmente aparece en pacientes pre-sintomáticos (1-3 días) o en las fases sintomáticas tempranas de la enfermedad (primeros 5-7 días), su detección puede ser usada como criterio de confirmación, por lo cual un resultado negativo no debe ser usado como criterio para descartar un caso, ya que no se ha establecido la dinámica de producción, excreción de antígenos, se indican muestras de secreción respiratorias(nasofaríngeas) para este método.

A continuación, se evalúa los criterios de seropositividad/ negatividad e implicaciones en la interpretación de las pruebas de diagnóstico para SARS-CoV-2

Tabla 1: Criterios de positividad y negatividad de Reacción de Cadena Polimerasa con Transcriptasa Inversa (RT-PCR).

TIPO DE PRUEBA	CRITERIOS DE POSITIVIDAD/ NEGATIVIDAD	FALSO POSITIVOS	FALSOS NEGATIVOS	Nº DE REFERENCIA
PRUEBA DE BIOLOGIA MOLECULAR Reacción de Cadena Polimerasa con Transcriptasa Inversa (RT-PCR)	<ul style="list-style-type: none"> Se detecta desde al menos 48 horas antes del inicio de síntomas. Hasta 12-14 días (al menos 6-7 días) en muestras del tracto respiratorio superior (hisopado naso/orofaríngeo). Hasta por 20 días (o más) en muestras del tracto respiratorio inferior incluyendo esputo, aspirado traqueal, lavado bronquio alveolar, etc. La calidad de la muestra puede provocar casos de falsos negativos al no contener virus o poseer una cantidad importante de inhibidores de las reacciones enzimáticas. 	<ul style="list-style-type: none"> Error preanalítico en el etiquetado de la muestra a lo largo del proceso. Contaminación cruzada entre muestras durante el procesamiento. Virus inactivos y los fragmentos virales. 	<ul style="list-style-type: none"> La recogida de la muestra es inadecuada (cantidad escasa). Reinfecciones con COVID-19 (probablemente las personas que logren generar anticuerpos contra este coronavirus en particular les van a generar protección por largo tiempo). El medio y la temperatura de transporte de la muestra (asociados al tiempo que transcurre entre la toma y el análisis presencia de inhibidores se asocia en mayor medida con los materiales). Presencia de inhibidores (deben ser de materiales compatibles para el trabajo con PCR, pues pueden contener sustancias inhibitoras de la reacción de PCR, hisopos de algodón pueden causar falsos negativos debido a que absorben células y viriones, que son de difícil liberación para la extracción del material, por lo que se recomiendan hisopos de dacrón y rayón). 	(6), (7), (8), (10), (9), (10), (11), (12).

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

Tabla 2: Criterios de positividad y negatividad en detección de antígenos.

TIPO DE PRUEBA	CRITERIOS DE POSITIVIDAD/ NEGATIVIDAD	FALSO POSITIVOS	FALSOS NEGATIVOS	N° DE REFERENCIA
PRUEBAS SEROLOGICA (Detección de los antígenos)	<ul style="list-style-type: none"> • Fase presintomática: 1-3 días antes de la de aparición de síntomas. • Fase sintomática: dentro de los primeros 5 a 7 días • Tiempos superiores a 5-7 días tras la aparición de los síntomas suponen menores cargas virales y aumento de probabilidad de falsos negativos. • Puede producirse un resultado negativo de la prueba si la muestra se recogió, extrajo o transportó incorrectamente. • Un resultado negativo de la prueba no elimina la posibilidad de infección por SARS-CoV-2 y debe confirmarse mediante cultivo viral o un ensayo molecular o ELISA. • La lectura de resultados de la prueba antes de 15 minutos o después de 20 minutos puede dar resultados incorrectos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Condiciones derivadas del paciente y la técnica (antígenos y principio técnico empleado). • Contaminación de la muestra o prueba mal realizada. • Enfermedades neoplásicas (sobre todo del sistema hematopoyético) y autoinmunes aumentan (el riesgo de obtener un resultado falso positivo como consecuencia de dichas reacciones cruzadas). 	<ul style="list-style-type: none"> • Tiempos superiores a 5-7 días después del inicio de los síntomas significan cargas virales más bajas y una mayor probabilidad de resultados falsos negativos • Reacción cruzada con otros coronavirus humanos y otros virus. • Bajas concentraciones de anticuerpos. • La calidad de la muestra puede provocar casos de falsos negativos al no contener virus o poseer una cantidad importante de inhibidores de las reacciones enzimáticas. 	(13), (14), (15), (16).

Tabla 3: Criterios de positividad y negatividad en detección de anticuerpos IgM-IgG, método de ELISA.

TIPO DE PRUEBA	CRITERIOS DE POSITIVIDAD/ NEGATIVIDAD	FALSO POSITIVOS	FALSOS NEGATIVOS	N° DE REFERENCIA
ELISA (Detección de anticuerpos IgM y IgG)	<ul style="list-style-type: none"> • Esta prueba solo es adecuada para la detección cualitativa. • Durante la primera semana desde el inicio de la infección por el nuevo coronavirus (COVID-19), es posible que los resultados de los pacientes sean negativos para IgM-IgG. Además, los pacientes con una baja inmunidad u otras enfermedades que afecten a la función inmune, fallo de órganos sistémicos importantes y uso de fármacos inhibidores de la función inmune también pueden obtener resultados negativos para IgM del nuevo coronavirus. 	<ul style="list-style-type: none"> • Condiciones derivadas del paciente y la técnica (antígenos y principio técnico empleado). • Contaminación de la muestra o prueba mal realizada. • Enfermedades neoplásicas (sobre todo del sistema hematopoyético) y autoinmunes aumentan (el riesgo de obtener un resultado falso positivo como consecuencia de dichas reacciones cruzadas). 	<ul style="list-style-type: none"> • Reacción cruzada con otros coronavirus humanos y otros virus. • Bajas concentraciones de anticuerpos. • Los falsos negativos están principalmente asociados al curso natural de la enfermedad dependiendo de la respuesta inmune individual. • Si la prueba se realiza antes de los primeros 11 días luego del inicio de los síntomas es probable que arroje falsos negativos por que las concentraciones de anticuerpos en sangre no son detectadas, dependiendo de la gravedad de la enfermedad 	(17), (18), (19) (20), (21), (22).

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

Tabla 4: Criterios de positividad y negatividad en detección de anticuerpos IgG- IgM, método Quimioluminiscencia.

TIPO DE PRUEBA	CRITERIOS DE POSITIVIDAD/ NEGATIVIDAD	FALSO POSITIVOS	FALSOS NEGATIVOS	N° DE REFERENCIA
QUMIOLUMINISCENCIA (Detección de anticuerpos IgM y IgG)	<ul style="list-style-type: none"> • Puede producirse un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos para el virus SARS-CoV-2 presentes en la muestra está por debajo del límite de detección del ensayo, o el virus ha sufrido mutaciones menores de aminoácidos en el epítipo reconocido por el anticuerpo detectado por la prueba. • Los anticuerpos IgM e IgG del SARS-CoV-2 pueden estar por debajo de los niveles detectables en pacientes que han presentado síntomas durante menos de 8 días • Los anticuerpos heterofilos presentes en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas del reactivo e interferir en los inmunoanálisis <i>in vitro</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> • Condiciones derivadas del paciente y la técnica (antígenos y principio técnico empleado). • Contaminación de la muestra o prueba mal realizada. • Enfermedades neoplásicas (sobre todo del sistema hematopoyético) y autoinmunes aumentan (el riesgo de obtener un resultado falso positivo como consecuencia de dichas reacciones cruzadas). 	<ul style="list-style-type: none"> • Reacción cruzada con otros coronavirus humanos y otros virus. • Bajas concentraciones de anticuerpos. • Los falsos negativos están principalmente asociados al curso natural de la enfermedad dependiendo de la respuesta inmune individual. • Si la prueba se realiza antes de los primeros 11 días luego del inicio de los síntomas es probable que arroje falsos negativos por que las concentraciones de anticuerpos en sangre no son detectadas, dependiendo de la gravedad de la enfermedad. 	(8), (15), (18), (23), (22), (24), (25).

Tabla 5: Criterios de positividad y negatividad en detección de anticuerpos IgG-IgM, método de flujo lateral inmunocromatográfico.

TIPO DE PRUEBA	CRITERIOS DE POSITIVIDAD/ NEGATIVIDAD	FALSO POSITIVOS	FALSOS NEGATIVOS	N° DE REFERENCIA
ENSAYOS DE FLUJO LATERAL INMUNOCROMATOGRAFICO (Detección de anticuerpos IgM y IgG)	<ul style="list-style-type: none"> • Anticuerpos IgM: aparece generalmente 1 semana después de la infección, con los títulos hasta 1-3 meses y a partir de los 9 meses puede tener títulos persistentes hasta por 2 o más años. • Anticuerpos IgG: aparece a partir de las 2 semanas de infección llegando a los 3 meses, se mantiene por 6 meses y luego de 1 año inicia un lento descenso hasta llegar a su nivel más bajo, la avidéz de estos anticuerpos IgG aumenta progresivamente durante los primeros 4 meses post infección 	<ul style="list-style-type: none"> • Condiciones derivadas del paciente y la técnica (antígenos y principio técnico empleado). • Contaminación de la muestra o prueba mal realizada. • Enfermedades neoplásicas (sobre todo del sistema hematopoyético) y autoinmunes aumentan (el riesgo de obtener un resultado falso positivo como consecuencia de dichas reacciones cruzadas). 	<ul style="list-style-type: none"> • Reacción cruzada con otros coronavirus humanos y otros virus. • Bajas concentraciones de anticuerpos. • Sangre capilar, si bien en este caso la sensibilidad es menor y la posibilidad de encontrar falsos negativos mayor. • Los falsos negativos están principalmente asociados al curso natural de la enfermedad dependiendo de la respuesta inmune individual. • Si la prueba se realiza antes de los primeros 11 días luego del inicio de los síntomas es probable que arroje falsos negativos por que las concentraciones de anticuerpos en sangre no son detectadas, dependiendo de la gravedad de la enfermedad. 	(5), (26), (27), (8), (28) (29), (30).

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

Tabla 6: Interpretación de Reacción de Cadena Polimerasa con Transcriptasa Inversa.

TIPO DE PRUEBA	LIMITACION DE LA PRUEBA	INTERPRETACION	N° DE REFERENCIA
PRUEBA DE BIOLOGIA MOLECULAR Reacción de Cadena Polimerasa con Transcriptasa Inversa (RT-PCR)	<ul style="list-style-type: none"> Alta carga viral (entre 104 y 108 copias de genoma/ml por muestra nasofaríngea) En algunos pacientes se detecta virus más allá del día 10, la carga viral es del orden de 100-1.000 veces menor. 	<ul style="list-style-type: none"> RT-PCR se hace negativa a partir del día 8 desde el inicio de los síntomas en muestras nasofaríngeas y a partir de ahí y hasta máximo el día 22 sólo sería positiva en muestras de esputo (vías respiratorias bajas). En casos positivo se debe: <ul style="list-style-type: none"> Tomar segunda muestra a los 14 días (positivo) Tercera muestra: 21 días(positivo) Cuarta muestra:28 días posterior a la fecha de inicio de síntomas. 	(31), (13), (14), (32).

Tabla 7: Interpretación de detección de antígenos.

TIPO DE PRUEBA	LIMITACION DE LA PRUEBA	INTERPRETACION	N° DE REFERENCIA
PRUEBAS SEROLOGICA (Detección de los antígenos)	<ul style="list-style-type: none"> Elevada carga viral (>106 copias del genoma vírico/ml) 	<ul style="list-style-type: none"> Resultado negativo: presencia de control (C) y ninguna línea de prueba (T) indica un resultado negativo) Resultado positivo: presencia de la línea de prueba(T) y línea de control (C) indica un resultado positivo. 	(14), (15), (16), (22).

Tabla 8: Interpretación de detección de anticuerpos método de ELISA.

TIPO DE PRUEBA	INTERPRETACION	N° DE REFERENCIA
ELISA (Detección de anticuerpos IgM y IgG)	<p style="text-align: center;">IgM</p> <ul style="list-style-type: none"> Negativo: La muestra no contiene anticuerpos IgM Positivo La muestra contiene nuevos anticuerpos IgM <p style="text-align: center;">IgG</p> <ul style="list-style-type: none"> Negativo: La muestra no contiene anticuerpos IgG Positivo La muestra contiene nuevos anticuerpos IgG 	(8), (30), (33)

Tabla 9: Interpretación de detección de anticuerpos método de Quimioluminiscencia.

TIPO DE PRUEBA	INTERPRETACION	N° DE REFERENCIA
QUIMIO LUMINISENCIA (Detección de anticuerpos IgM y IgG)	<ul style="list-style-type: none"> Negativo: resultado inferior a 1,00 AU / mL (<1,00 AU / mL). Positivo: un resultado mayor o igual a 1,00 AU / mL ($\geq 1,00$ AU / mL) se considera reactivo. 	(13), (34), (35).

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

Tabla 10: Interpretación de detección de anticuerpos método de Ensayos de flujo lateral inmunocromatográfico.

TIPO DE PRUEBA	INTERPRETACION	N° DE REFERENCIA
ENSAYOS DE FLUJO LATERAL INMUNOCROMATOGRÁFICO (Detección de anticuerpos IgM y IgG)	<ul style="list-style-type: none">• IgG positivo: línea de color en la región de la línea de control (C) y otra línea debe estar en la región de la línea IgG.• IgM positivo: línea de color en la región de la línea de control (C) y otra línea debe estar en la región de la línea de IgM.• IgG e IgM positivas: línea de control (C) y dos líneas de prueba debe estar en la región de la línea IgG y en la región de la línea IgM.• Negativo: línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de IgG y en la región de IgM.• Inválido: La línea de control no aparece.	(14), (36), (37), (21).

Discusión

De acuerdo artículos provenientes de países como Wuhan, China, Cuba, España, Peru, Arabia Saudita, España, se emplean diversos métodos de diagnóstico, tales como: pruebas de antígeno que buscan las proteínas del virus, pruebas moleculares que detectan ácido nucleico del virus y las pruebas serológicas que indican la exposición y la probable infección, pero en si cumpliendo un papel importante a la hora del diagnóstico.

RT-PCR presentan una elevada especificidad y sensibilidad, sin embargo, estudios realizados en Wuhan: (6), (7), (11), (24), Estados Unidos: (12), (38), China: (10), Cuba: (35), demuestran que dicha prueba no debe considerarse como el único indicador de diagnóstico para pacientes con SARS-CoV-2, ya que se ha descrito que la cantidad de partículas virales (carga viral) detectables mediante esta técnica es máxima dentro de los primeros 7 días de la infección, si bien los ácidos nucleicos virales pueden ser detectados también en fases posteriores. Un porcentaje variable de pacientes puede dar resultados negativos aun estando infectados, debido a distintos factores asociados con la dinámica de la carga viral y con la obtención y procesamiento de la muestra.

Estudios realizados en Estados Unidos: (18), (22), Madrid-España: (39) Perú: (5), (28), Hong Kong: (17), Venezuela: (20), India: (23), demuestran que las pruebas serológicas son concluyentes por dos razones: primero porque complementan la eficacia diagnóstica de la PCR en segundo lugar, porque da a conocer el momento de la infección o la convalecencia en que se encuentra el sujeto infectado. La combinación de ambas técnicas, detección de ácidos nucleicos y anticuerpos permite conocer la presencia del virus y si la infección está en etapas iniciales o bien ya ha transcurrido un

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

cierto tiempo. Por otro lado, la cuantificación e identificación de los tipos de anticuerpos producidos permiten caracterizar la respuesta generada por el paciente frente a la enfermedad.

Por otra parte, los resultados del presente estudio en comparación a los resultados de la investigación se determinan que RT-PCR demuestra una elevada especificidad y sensibilidad a la hora de detectar la presencia directa del virus, mas no indicando el momento de la infección en la que se encuentra. Sin embargo, la generación de distintos tipos de anticuerpos (IgM, IgG) por parte del sistema inmunitario ayuda a identificar el momento del proceso infeccioso en que se encuentra el paciente. De tal manera que se han desarrollado pruebas serológicas para la detección de anticuerpos anti-SARS-CoV-2.

Las técnicas recomendadas son Enzimoimmunoensayo (ELISA) o Quimioluminiscencia (CLIA), por sus altos niveles de sensibilidad y especificidad. Las pruebas serológicas son cruciales por tres motivos:

1. Complementan la eficacia diagnóstica de RT-PCR.
2. Proporcionan información valiosa para aproximar temporalmente el momento de la enfermedad en la que se encuentra el sujeto (IgM e IgA: detectados fundamentalmente en etapas tempranas de la infección; IgG: detectados a partir de la segunda semana de infección).
3. Permiten la realización de estudios de prevalencia de la enfermedad en la población o en colectivos de interés.

Cada vez se conoce más al respecto, pero faltan estudios que detallen toda esta información, ya que existe una gran variabilidad en diferentes poblaciones de asintomáticos y sintomáticos, entre los cuales varía de acuerdo con la severidad, comorbilidades, edad, historial de infección, entre otros factores.

Conclusión

Se disponen pruebas para la determinación de SARS-CoV-2: pruebas directas (Reacción en Cadena Polimerasa con transcriptasa inversa) RT-PCR las cuales están diseñadas para detectar el virus y, por lo tanto, reflejan la infección actual; y las pruebas indirectas que detectan los anticuerpos y determinan la seroconversión establecida a una infección previa, teniendo en cuenta

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

los criterios que se deben cumplir a la hora de realizar dichas determinaciones como recolección de muestra, tipo de muestra, tiempo de recolección en relación al curso de la enfermedad.

Comparando la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), prueba de detección de antígenos y prueba de detección de anticuerpos combinados IgG e IgM mostró buena especificidad (entre 99-100%), sin embargo, en sensibilidad dichas pruebas presentan variabilidad, dependerá de la carga viral y de manera esencial de la correcta toma de la muestra, del día de toma de muestra, tipo de muestra, conservación, transporte al laboratorio a la temperatura adecuada y el estadio clínico en el que se encuentre el paciente.

Referencias

1. Cruza MP, Santos E, Cervantes MAV, Juárez ML. COVID-19, una emergencia de salud pública mundial. *Revista Española Clínica*. 2021 Enero; CCXXI(1): p. 55-61.
2. OMS. Organización Mundial de la Salud (OMS). [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 5]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/detail/31-08-2020-in-who-global-pulse-survey-90-of-countries-report-disruptions-to-essential-health-services-since-covid-19-pandemic>.
3. Ramírez PA, Valencia YE, Carrillo CQ, Ayala EV, Delgado JdL, Cruz AP. Pruebas diagnósticas para la COVID-19: la importancia del antes y el después.. *Horizonte Médico (Lima)*. 2020 Abril ; XX(II).
4. Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y, et al. Positive RT-PCR Test Results in Patients Recovered From COVID-19. *JAMA Network Home*. 2020 Febrero; CCCXXIII(15).
5. Anzardo MV, Solis G, Solari L, Minaya G, Quintanilla BA, Cornejo JA, et al. Evaluación en condiciones de campo de una prueba serológica rápida para detección de anticuerpos IgM e IgG contra SARS-CoV-2. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2020 Abril-Junio; XXXVII(2).
6. Li Y, Li J, Chen L, Yiyan C, Cai Z, Yang C. Stability issues of RT - PCR testing of SARS - CoV - 2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID - 19. *Medical Virology*. 2020 Marzo; XCII(7): p. 903-908.

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

7. Liu R, Liu X, Han H, Shereen MA, Niu Z, Li D, et al. The comparative superiority of IgM-IgG antibody test to real-time reverse transcriptase PCR detection for SARS-CoV-2 infection diagnosis. medRxiv. 2020 Marzo; V(2).
8. Serrano MM, Rodríguez DN, Palop NT, Arenas RO, Córdoba MM, Mochón MDO, et al. Comparison of commercial lateral flow immunoassays and ELISA for SARS-CoV-2 antibody detection. Journal of Clinical Virology. 2020 Junio; CXXIX(13).
9. Liu Y, Yang Y, Zhang C, Huang F, Wang F, Yuan J, et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. Springer. 2020 Febrero 9; LXIII(3): p. 364–374.
10. Krishnan RA, Thomas RE, Sukumaran A, Paul JK, Vasudevan D. COVID-19: Tendencias actuales en el diagnóstico In vitro. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2020 Julio; XXXV(3): p. 286.
11. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. Carga viral del SARS-CoV-2 en muestras respiratorias superiores de pacientes infectados. The New England Journal of Medicine. 2020 Marzo; CCCLXXXII(12): p. 1177-1179.
12. Ravi N, LCortade D, ElaineNg , Wang SX. Diagnostics for SARS-CoV-2 detection: A comprehensive review of the FDA-EUA COVID-19 testing landscape. Biosensores y bioelectrónica. 2020 Octubre; CXLV(1).
13. Truque MR, Morice MH. Rol del laboratorio clínico ante la epidemia del COVID-19 revisión de los métodos diagnósticos. Revista Medica de Costa Rica. 2020 Enero-Junio; 85(DCXXIX).
14. Labclinics. Labclinics. [Online].; 2020 [cited 2020 Octubre 23. Available from: <https://www.labclinics.com/tipos-de-tests-para-detectar-el-covid-19/>.
15. PAHO. Organización Panamericana de la Salud (PAHO). [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 10. Available from: <https://www.paho.org/es/file/68103/download?token=ZuCV3Zph>.
16. OMS. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre 26. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336028/WHO-2019-nCoV-Antigen_Detection-2020.1-spa.pdf.

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico
molecular y serológicas

17. Lv H, Wu NC, Tsang OTY, Yuan M, Perera RAPM, Leung WS, et al. Cross-reactive antibody response between SARS-CoV-2 and SARS-CoV infections. *bioRxiv: Preimpresion*. 2020 Mayo; XXXI(9).
18. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, Nguyen THO, Chromikova V, McMahon M, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nature Medicine*. 2020 Mayo; XXVI.
19. Gallegos SE, Madera JAM, Cárdenas MPM, Cárdenas MPM, Álvarez VH, Quiroga M, et al. Repositorio del Ministerio de Salud y Protección Social. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 15]. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/Ministerio/Institucional/Procesos%20y%20procedimientos/GIPS21.pdf>.
20. Rincón MG, Bracho A, Kader DAE, Sindas M. Papel del laboratorio clínico en el diagnóstico de COVID-19. *Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas*. 2020; XXIII(1).
21. Instituto Nacional de Salud. Repositorio del Instituto Nacional de Salud. [Online].; 2020 [cited 2020 Octubre 4]. Available from: https://www.ins.gov.co/Pruebas_Rapidas/2.%20Protocolo%20Est%C3%A1ndar%20para%20validaci%C3%B3n%20de%20PR%20en%20Colombia.pdf.
22. Kweon OJ, Lim YK, Kim HR, Kim MC, Choi SH, Chung JW, et al. Antibody kinetics and serologic profiles of SARS-CoV-2 infection using two serologic assays. *Plos One*. 2020 Octubre; XV(10).
23. Krishnan RA, Thomas RE, Sukumaran A, Paul JK, Vasydevan D. COVID-19: Current Trends in In Vitro Diagnostics. *Indian J Clin Biochem*. 2020 Junio; XXXV(3).
24. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *THE LANCET*. 2020 Febrero; CCCXCV(10223): p. 497-505.
25. OMS. Organización Mundial de la Salud (OMS). [Online].; 2020 [cited 2020 Enero 2]. Available from: ho.maps.arcgis.com/apps/webappviewer/index.html?id=2203b04c3a5f486685a15482a

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

- 0d97a87&extent=-17277700.8881%2C-1043174.5225%2C-1770156.5897%2C6979655.9663%2C102100.
26. Ma H, Zeng W, He H, Zhao D, Yang Y, Jiang D. COVID-19 diagnosis and study of serum SARS-CoV-2 specific IgA, IgM and IgG. medRxiv. 2020 Abril; X(2): p. 773–775.
 27. Liu L, Liu W, Zheng Y, Jiang X, Kou G, Ding J, et al. A preliminary serological trial study for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in 238 hospitalized patients. *Microbes and Infection*. 2020 Mayo- Junio; XXII(4- 5): p. 206-211.
 28. Pérez García F, Tanoira RP, Romanyk J, Arroyo T, Gómez-Herruz P, CuadrosGonzález J. Alltest rapid lateral flow immunoassays is reliable in diagnosing SARS-CoV-2 infection from 14 days after symptom onset: A prospective single-center study. *Revista de Virología Clínica*. 2020 Agosto; CXXIX(12).
 29. Algaissi A, Alfaleh MA, Hala S, Abujamel TS, Alamri SS, Almahboub SA, et al. SARS-CoV-2 S1 and N-based serological assays reveal rapid seroconversion and induction of specific antibody response in COVID-19 patients. *Nature Microbiologic*. 2020 Octubre; X(16561).
 30. Maine GN, Lao KM, Krishnan SM, Afolayan-Oloye O, Fatemi S, Kumar S, et al. Longitudinal characterization of the IgM and IgG humoral response in symptomatic COVID-19 patients using the Abbott Architect. *Journal of Clinical Virology*. 2020 Octubre; CXXXIII(14).
 31. Aramburu A. Uso complementario de las pruebas moleculares y pruebas de detección de anticuerpos para el diagnóstico de COVID-19. *Portal Regional de la BVS*. 2020 Abril; 4(20): p. 1-17.
 32. Sinc A. Ojo público. [Online].; 2020 [cited 2020 Octubre 23]. Available from: <https://ojo-publico.com/1701/eficacia-y-limitaciones-de-las-pruebas-para-detectar-el-coronavirus>.
 33. OMS. Organización Mundial de la Salud (OMS). [Online].; 2021 [cited 2021 Enero 1]. Available from: <https://www.who.int/es/emergencias/diseases/novel-coronavirus->

COVID-19 Implicaciones e interpretación de la seropositividad/negatividad en pruebas de diagnóstico molecular y serológicas

- 2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it.
34. Gobierno de España Ministerio de Sanidad. Repositorio del Gobierno de España- Ministerio de Sanidad. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 28. Available from: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/202005018_Toma_muestras.pdf.
 35. Rymer W. Empendium. [Online].; 2020 [cited 2020 Octubre 24. Available from: empendium.com/manualmibe/covid19/233393,pueden-ser-utiles-pruebas-serologicas-en-el-diagnostico-de-la-infeccion-por-sars-cov-2.
 36. Diasource. Diasource. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 20. Available from: https://www.diasource-diagnostics.com/var/ftp_diasource/IFO/RAPU08COVID19.pdf.
 37. Gallegos SE, Mojica JA, Meza MP, Segura CMC. Scare. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 28. Available from: <https://scare.org.co/wp-content/uploads/lineamientos-pruebas-rapidas-eps.pdf>.
 38. Touma M. COVID-19: molecular diagnostics overview. *Journal of molecular medicine*. 2020 Junio; XCVIII(7): p. 947–954.
 39. Cruz MP, Santos E, Cervantes MAV, Juárez ML. COVID-19, una emergencia de salud pública mundial. *Revista Clinica Española*. 2020 Marzo; CCXXI(1): p. 55-61.

©2020 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).