

Madrid, 28 de abril de 2020

Sr/a. Presidente/a del Colegio Oficial de Farmacéuticos

C/C: Sr/a. Presidente/a del Consejo Autonómico de Farmacéuticos

Sr/a. Consejero/a del Pleno

Estimado/a Presidente/a:

Como complemento de las informaciones técnicas preparadas por nuestros servicios técnicos, así como por las propias Vocalías Nacionales sobre la infección producida por el SARS-CoV-2, te hacemos llegar el informe elaborado por la Vocalía Nacional de Farmacéuticos Analistas Clínicos sobre "DIAGNÓSTICO POR EL LABORATORIO DEL VIRUS SARS-CoV-2 AGENTE DE LA INFECCIÓN COVID-19".

Este informe contiene una revisión realizada por un grupo de trabajo de dicha Vocalía Nacional, con el fin de facilitar la interpretación de las pruebas analíticas utilizadas en el diagnóstico de esta infección.

Por todo lo anterior, rogamos la difusión de esta información, en colaboración con la Vocalía de Analistas Clínicos de tu Colegio.

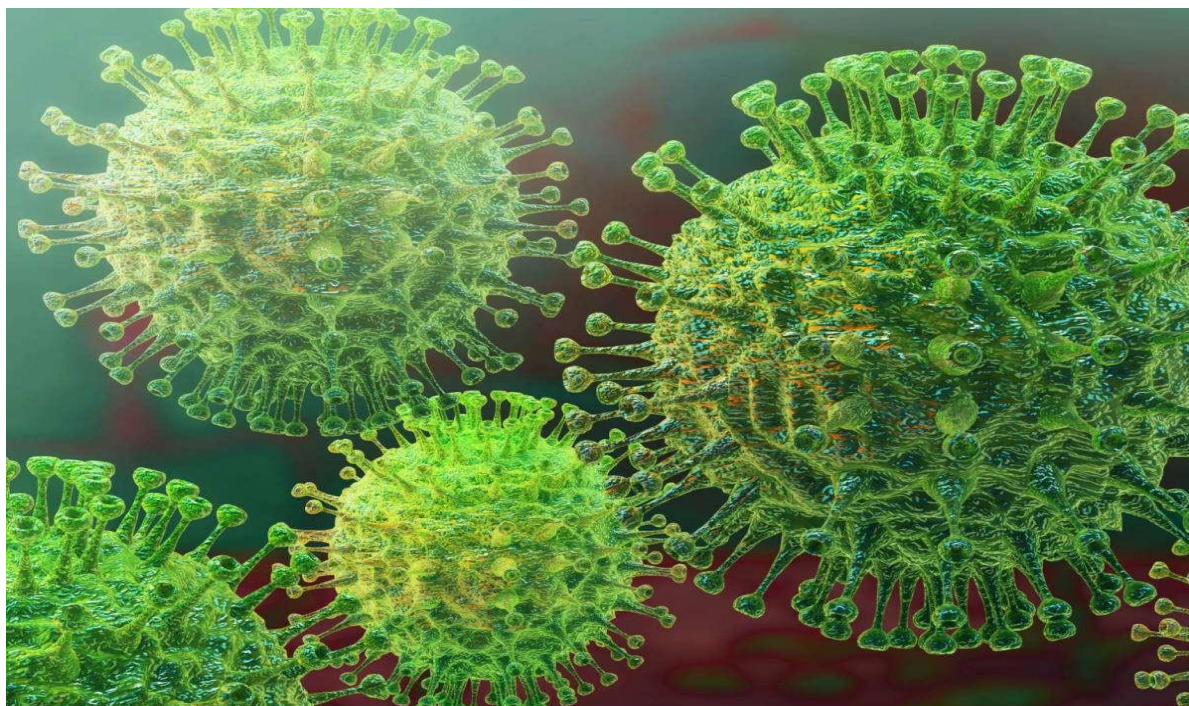
Un saludo,



Raquel Martínez García

eh/DGP

# DIAGNÓSTICO POR EL LABORATORIO DEL VIRUS SARS-CoV-2 AGENTE DE LA INFECCIÓN COVID-19



24 Abril 2020

# DIAGNÓSTICO POR EL LABORATORIO DEL VIRUS SARS-CoV-2 AGENTE DE LA INFECCIÓN COVID-19

## Autores:

Marta GARCÍA COLLÍA (1,2)

Diego GARCÍA MARTÍNEZ DE ARTOLA (3)

José Antonio CARBAJAL DE LARA (3,4)

Miriam ALBERT HERNANDEZ (3)

Daniel AL KASSAM MARTÍNEZ(1)

María SALINAS (1)

Especialistas en Análisis Clínicos (1), Bioquímica Clínica (2), Microbiología y Parasitología (3) F. Hospitalaria (4)

## ÍNDICE

1. ¿Qué tipo de virus causa la infección COVID-19? ¿Cómo se transmite?
    - a. Epidemiología
    - b.Cuál es el agente
    - c. Cómo se transmite
  2. ¿Cuáles son los periodos de la infección?
  3. ¿En qué se basa el diagnóstico?
    - a. Síntomas clínicos más frecuentes
    - b. Pruebas de laboratorio:
      - I.- Bioseguridad
      - II.-Pruebas microbiológicas, detección del agente y anticuerpos
      - PCR, Ag, IgG/IgM
      - III.-Pruebas bioquímicas, inmunológicas y hematológicas alteradas
      - IV.- Como se conservan las muestras
  4. ¿Cómo se interpretan los resultados? Correlación síntomas/pruebas con fases de la infección
- Bibliografía

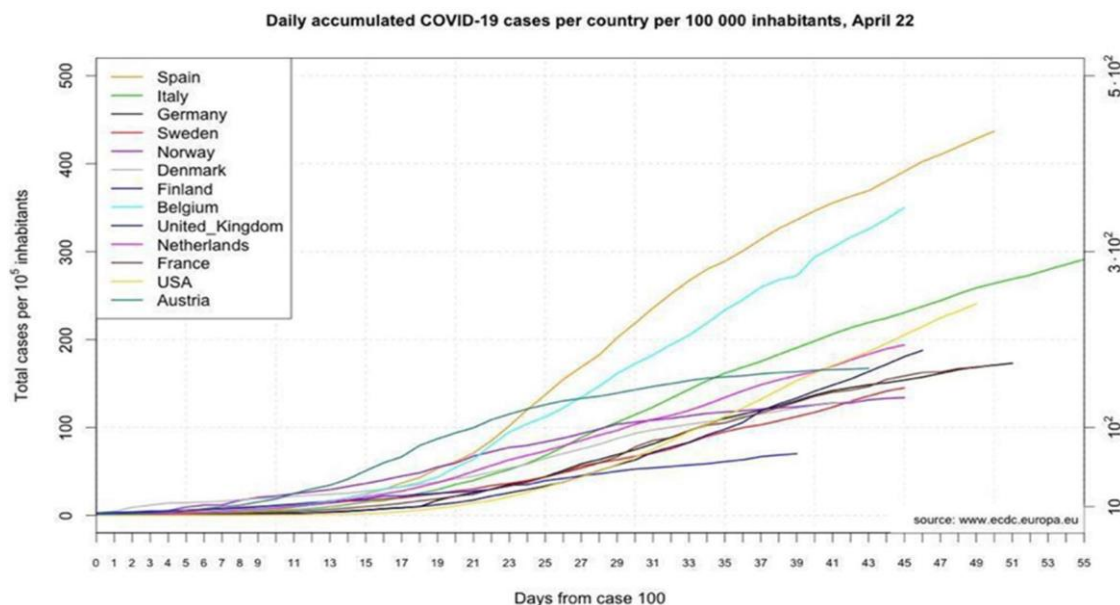
## 1. ¿Qué tipo de virus produce la infección COVID-19? ¿Cómo se transmite?

### a.-Epidemiología

En diciembre del año 2019 se empezaron a detectar casos en Wuhan (China) de pacientes que desarrollaban una neumonía e insuficiencia respiratoria que recordaba a la del SARS de 2003. A principio de enero de 2020, a partir de muestras de líquido de lavado broncoalveolar, se cultivó un virus que posteriormente fue tipificado dentro del grupo de los betacoronavirus.

Desde entonces hasta ahora la epidemia, que ha adquirido la forma de pandemia, se ha transmitido por casi todo el mundo. Desde China se ha propagado por los países vecinos, (Corea del Sur, Singapur, Japón) y de aquí a Irán, Europa y América<sup>1</sup>.

La situación actual en Europa queda reflejada con la siguiente tabla, que expresa los casos acumulados por 100.000 habitantes; en España se detectaron los primeros casos el 28 de enero 2020 y el 22 de abril ocupa tristemente el primer puesto<sup>2</sup> (**Gráfico 1**).



**Gráfico 1.** Casos acumulados de COVID-19 por 100.000 habitantes en países europeos.

## b.-¿Cuál es el agente?

Los coronavirus son una familia de virus ARN (alphacoronavirus, betacoronavirus,...)<sup>3</sup> que causan infección en humanos y en muchas especies animales, incluyendo aves y mamíferos como camellos, gatos, murciélagos, serpientes y otros animales salvajes. Su envoltura, presenta una glicoproteína en forma de espina adosada a la cápside que, vista al microscopio electrónico, le da aspecto de corona, de ahí el nombre de coronavirus y que a través de las espigas se unen al receptor. (Gráfico 4)

Anterior a diciembre 2019 se conocían seis especies de Coronavirus, cuatro del resfriado común, el SARS-CoV-1 que empezó en China y que más tarde desapareció, y el MERS-CoV, que empezó en Medio Oriente que originó más mortalidad. Esta pandemia se asocia a un nuevo coronavirus, similar genéticamente al SARS de 2002 (SARS-CoV-1) y por ello se ha denominado SARS-CoV-2. Ambos son betacoronavirus.

La infección producida por el SARS-CoV-2 se denomina **COVID-19** (*CoronaVirus Infectious Disease*).

El 3 de febrero de 2020 el Dr Zhou y colaboradores<sup>23</sup> comunicaron la secuencia genómica de este nuevo coronavirus que causaba un síndrome respiratorio agudo en humanos y que era bastante similar a la del murciélago.

## c.-¿Cómo se transmite?

Son virus zoonóticos (pueden transmitirse entre animales y humanos). En este momento parece claro que el reservorio del SARS-CoV-2 es el murciélago, mientras que se sigue investigando acerca del animal hospedador intermediario en la transmisión, habiendo controversia entre el pangolín y otros<sup>4,5</sup>.

### Transmisión animal-humano

El modo de transmisión actualmente es desconocido. Todo apunta al contacto directo con los animales infectados o sus secreciones. En base a la sintomatología clínica observada en humanos pudiera ser mediante secreciones respiratorias y/o material procedente del aparato digestivo animal.

### ¿Y qué ocurre con los animales de compañía?

Hasta la fecha, se ha demostrado que es posible la transmisión humano-gato, gato-gato y entre hurones; en todos los casos convivían con personas enfermas de COVID-19. Los perros también son susceptibles a la infección pero en mucha menor medida. En este momento no hay evidencia de transmisión animal de compañía-humano.

### **Transmisión humano-humano**

A través de las secreciones de personas infectadas, principalmente por contacto directo con gotas respiratorias de más de 5 micras (capaces de transmitirse a distancias de hasta 2 metros) así como las manos ó los fómites contaminados con estas secreciones seguido del contacto con la mucosa de la boca, nariz u ojos. El SARS-CoV-2 se ha detectado en secreciones nasofaríngeas, incluyendo la saliva.

### **Transmisión madre-hijo**

En los casos descritos, se produce por el contacto estrecho entre ellos tras el nacimiento. La transmisión vertical del SARS-CoV-2, en principio sería poco probable (no se ha encontrado el virus en muestras de líquido amniótico, cordón umbilical o leche materna), aunque recientemente se han observado algunos casos, por lo que se considera que sería posible<sup>6</sup>.

## **2. ¿Cuáles son los periodos de la infección?**

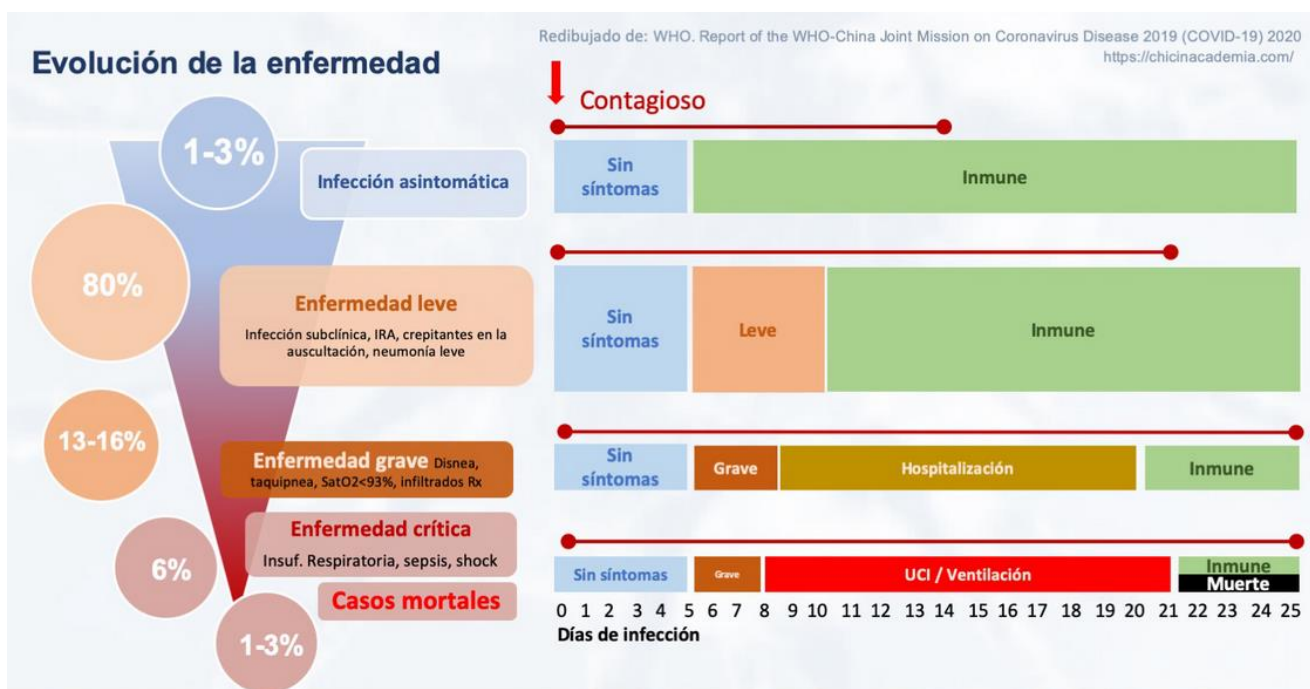
El periodo de incubación mediano es de 5-6 días, con un rango de 1 a 14 días.

El 97,5% de los casos sintomáticos se desarrollan en los 11,5 días tras la exposición. Actualmente se considera que la transmisión de la infección comienza 1-2 días antes del inicio de síntomas. Se desconoce si la intensidad de la transmisión a partir de personas asintomáticas será igual que a partir de personas con síntomas, aunque se ha detectado carga viral en un caso asintomático similar a la de otros casos sintomáticos.

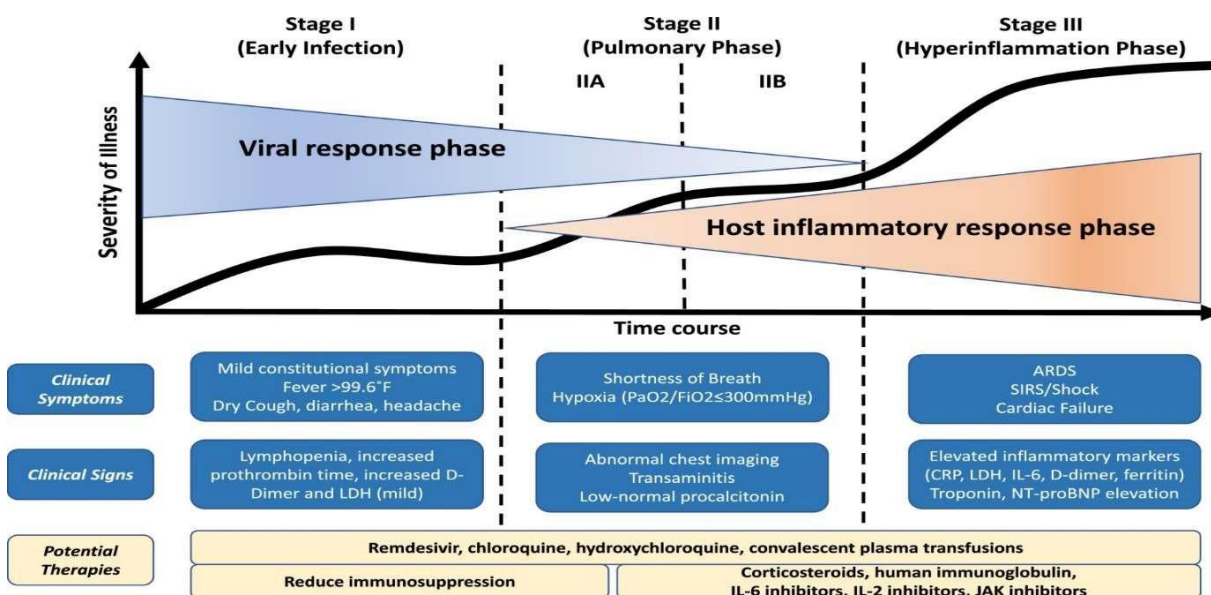
El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la recuperación es de 2 semanas cuando la enfermedad ha sido leve y 3-6 semanas cuando ha sido grave o crítica. El tiempo entre el inicio de síntomas hasta la instauración de síntomas graves como la hipoxemia es de 1 semana, y de 2-8 semanas hasta que se produjera, en el peor de los casos, el fallecimiento<sup>4</sup> (**Gráficos 2 y 3**).

Un estudio recién publicado sobre el análisis post-mortem de los pulmones de pacientes fallecidos con COVID-19 fallecidos en Italia, objetiva la aparición de trombos de fibrina en pequeñas arterias, en el contexto de las coagulopatías detectadas en pacientes graves y que podría explicar la hipoxemia que sufren estos pacientes. En estos casos, además, detectaron niveles de Dímero D elevado ( $>1\mu\text{g/ml}$ ). Estos hallazgos justificarían el uso de anticoagulantes para mejorar el pronóstico de la enfermedad<sup>7</sup>.





**Gráfico 2.** Periodo infeccioso según la evolución y gravedad de la enfermedad.



**Gráfico 3.** Clasificación de los estadios de la enfermedad y potenciales dianas terapéuticas para COVID-19. Modificada de Siddiqui et al, 2020.



### 3.- ¿En qué se basa el diagnóstico?

El diagnóstico de la infección se basa en la observación de los síntomas clínicos, detección del virus o sus anticuerpos mediante PCR o pruebas serológicas (IgG/IgM) a la que acompañan la alteración de determinadas pruebas bioquímicas, inmunológicas y hematológicas realizadas en los laboratorios.

#### **A.-Síntomas clínicos más frecuentes**

En España, los síntomas clínicos más frecuentes son<sup>8</sup>:

1. Tos (74,1%)
2. Fiebre (73,3%). Más en hombres que en mujeres
3. Neumonía (59,5%) Más en hombres que en mujeres
4. Disnea (47,7%) Más en hombres que en mujeres
5. Escalofríos (33,9%)
6. Diarrea (30,1%) Más en mujeres que en hombres
7. Dolor de garganta (26,0%) Más en mujeres que en hombres

Otros síntomas que han sido referidos son<sup>9-13</sup>:

1. Problemas neurológicos: anosmia/hiposmia (falta de olfato), ageusia (pérdida de gusto) mareo, alteración de nivel de conciencia, neuralgia y accidente cerebrovascular (menos frecuentemente).
2. Afectación ocular: conjuntivitis, ojo seco, visión borrosa, sensación de cuerpo extraño, congestión conjuntival.
3. Problemas dermatológicos: rash, erupciones tipo urticaria, vesiculosas, lesiones parcheadas en dedos de manos y pies.
4. Síntomas otorrinolaringológicos: dolor facial, obstrucción nasal...
5. Problemas hematológicos: fenómenos trombóticos que pueden manifestarse como infarto cerebral, isquemia cardiaca, muerte súbita, embolismos y trombosis venosa profunda.
6. Estudios post-mortem indican la presencia de trombos de fibrina y plaquetas en arterias pequeñas, lo que encajaría en un contexto clínico de coagulopatía.

Pacientes con factores de riesgo en España (mayor porcentaje en hombres que en mujeres)<sup>8</sup>:

- Enfermedad cardiovascular (32,3%)
- Diabetes (16,1%)
- Enfermedad respiratoria (9,6%)

Otros factores (mayor porcentaje en mujeres que en hombres)<sup>8</sup>:

- Contacto con paciente con infección respiratoria aguda (72,5%)
- Contacto estrecho con paciente COVID probable o confirmado (56,3%)

## **B.-Pruebas de laboratorio**

### **I.-Bioseguridad en la toma y manipulación de las muestras clínicas**

Las muestras biológicas procedentes de pacientes infectados o con sospecha de infección por el SARS-CoV-2 son clasificadas como sustancias infecciosas de categoría B y por tanto es primordial cumplir rigurosamente las normas de Bioseguridad. Estas incluyen utilizar Equipos de Protección Individual (EPI) como mascarilla FFP2 ó superior sin válvula, bata, guantes y protección ocular anti salpicaduras. Todo esto sin olvidar la estricta higiene de manos antes y después del contacto con el paciente y/o la muestra y de la retirada de la EPI<sup>14</sup>.

Adicionalmente, el manejo de las muestras para realizar las pruebas diagnósticas debe realizarse en laboratorios de nivel de bioseguridad 2 (NBS-2) y en el interior de cabinas de seguridad biológica de clase 2 (CSB-2), que contienen un flujo de aire laminar y filtros HEPA capaces de atrapar las partículas infecciosas<sup>15</sup>.

Para el transporte de estas muestras, es obligatorio seguir la instrucción de embalaje P650 de acuerdo a ADR que se aplica a la Norma UN 3373 para el embalaje de sustancias peligrosas, triple envase robusto ya a prueba de fugas con recipiente primario estanco, embalaje secundario estanco y embalaje exterior rígido.

Los residuos generados se consideran residuos de Clase III o como residuos Biosanitarios Especiales y por tanto, deben desecharse de forma apropiada<sup>14</sup>.

## **II.- Pruebas microbiológicas, detección del agente y anticuerpos**

- PCR
- Detección de Antígeno
- Detección de Anticuerpos totales, Anticuerpos IgM/IgG

### **PCR:**

La detección del SARS-Coronavirus-2, se realiza mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real), en su variante a partir de un virus ARN como es el caso. Brevemente, se realiza una retrotranscripción de ARN a ADN, formando la cadena de ADN complementario, luego se amplifica y se detectan niveles de fluorescencia asociados a fragmentos amplificados específicos de este virus.

Las dianas habitualmente empleadas se encuentran en las regiones (**Gráfico 4**):

- ✓ Orf1a (open reading frame),
- ✓ N (del gen que forma la nucleocápside del virus),
- ✓ RdRp (RNA polimerasa dependiente de RNA),
- ✓ E (del gen que forma la envuelta).

En la reacción se recomienda utilizar asociada una diana, que nos hable de la calidad de la muestra y del proceso de extracción del material genético, usándose habitualmente alguna proteína humana para tal fin.

Esta técnica se considera la idónea (“Gold Standard”) para confirmar el diagnóstico en el inicio de los síntomas de la enfermedad, especialmente a partir de los días 6 u 8 desde el inicio de los síntomas, en caso positivo indica infección activa por el virus SARS-CoV-2.

### **Tipo de muestra**

La muestra más rentable para el diagnóstico es de tipo respiratorio. Dependiendo de la fase de la infección, durante los 6 primeros días de los síntomas pueden utilizarse:

- ✓ Exudado nasofaríngeo
- ✓ Exudado nasal
- ✓ Exudado orofaríngeo

Para muestras obtenidas en días posteriores, o con una clínica respiratoria asociada de tipo grave, se recomienda una muestra de vías respiratorias bajas:

- ✓ Esputo de buena calidad
- ✓ Aspirado traqueal o
- ✓ Muestra obtenida a través de fibrobroncoscopia<sup>16</sup>.

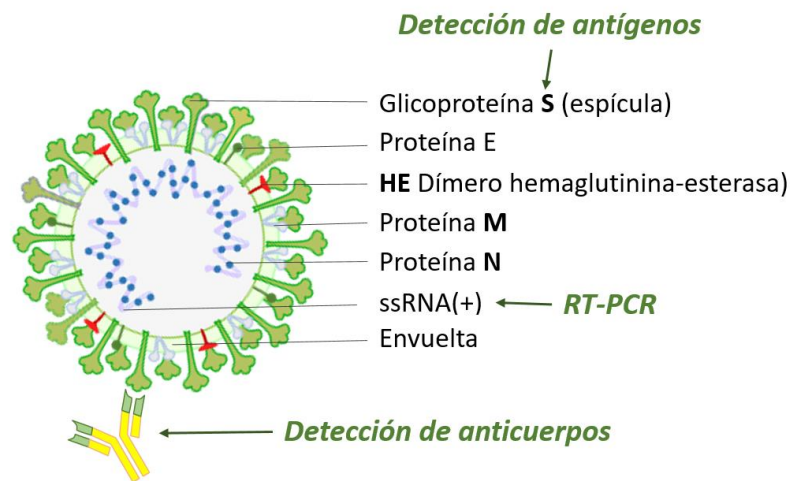
### **Sensibilidad de la prueba**

Las sensibilidades obtenidas mediante PCR<sup>17</sup> (Tabla1), dependerá de la carga viral y de manera esencial:

- De la correcta toma de la muestra<sup>18</sup>, del día de toma de muestra, tipo de muestra (muestras respiratorias vías altas o bajas) y de la gravedad de la infección.
- La conservación y el transporte al laboratorio a la temperatura adecuada (<4 grados, hasta 24 horas) (Gráfico 5)
- El estadio clínico en el que se encuentre el paciente.

Esto hace que, por un lado, ante un primer resultado de PCR negativo, y sospecha clínica, se deba solicitar un segundo test de PCR pasadas más de 24 horas, consiguiendo un aumento de la sensibilidad diagnóstica (hasta un 29% en esta revisión sistemática)<sup>19</sup>.

Por otra parte, ante un cuadro clínico evolucionado, de tipo neumonía, se recomienda una muestra de tracto respiratorio inferior, donde las concentraciones de virus son mayores. Eso incluye: esputo de buena calidad, aspirado traqueal y, sobre todo, muestra obtenida a través de fibrobroncoscopio.



**Gráfico 4.** Estructura del coronavirus y objetivos a determinar con las diferentes técnicas

## Técnicas de detección de antígenos

Esta técnica está basada en la detección de antígenos del virus, mediante técnica inmunocromatográfica (reacción antígeno anticuerpos, con producción de banda visible). El antígeno diana para esta técnica es de la espícula del virus, relacionado con la respuesta inmune.

### Tipo de muestra.-

La muestra debe ser respiratoria también, con la ventaja de su rapidez de resultados.

Las condiciones de conservación están en el Gráfico 5.

En la actualidad no existen test rápidos de autodiagnóstico.

### **Sensibilidad de la prueba**

La desventaja es la menor sensibilidad, por lo cual podemos encontrar muchos casos de falsos negativos. (**Tabla 1**)

## Técnicas de detección de anticuerpos.-

Los test de anticuerpos totales miden la totalidad de anticuerpos en respuesta a este virus, y deben positivizarse un par de días antes que el resto de inmunoglobulinas.

Estas técnicas, tratan de detectar la respuesta inmune de nuestro organismo al virus, por lo que no son adecuadas para detectar el periodo agudo de la enfermedad. Fundamentalmente se miden 3 tipos de inmunoglobulinas, las IgA, IgM e IgG.

Las primeras (IgA) suelen tener mayor sensibilidad y detectan un poco antes la respuesta inmune al virus, sin embargo, no hay muchos ensayos ni muchas técnicas realizadas al respecto.

La detección de IgM puede darse a partir del día 7 de la sintomatología, si bien a partir

del día 12-14 es más fiable.

Las IgG se detectan más tardíamente, a partir del día 10, si bien a partir del día 15-20 encontraremos más resultados positivos.

Estas técnicas permiten distinguir en qué fase de la enfermedad está el paciente según la presencia de IgM (infección aguda) o de IgG (Infección pasada); la detección de ambas inmunoglobulinas se interpretaría como infección subaguda en curso; también pueden complementar los estudios de PCR cuando estos son negativos en pacientes con clínica de COVID-19 con baja carga viral en las muestras de vías respiratorias superiores y en los que resulta un riesgo obtener muestras de tracto respiratorio inferior.

Son de utilidad para determinar si se ha desarrollado inmunidad frente a la infección.

#### **Tipo de muestra.-**

Estas técnicas se pueden realizar en:

- ✓ Suero
- ✓ Plasma
- ✓ Sangre completa
- ✓ Sangre capilar, si bien en este caso la sensibilidad es menor y la posibilidad de encontrar falsos negativos mayor.

Las técnicas de detección de anticuerpos son fundamentalmente Enzimoimmunoanálisis (ELISA), Quimioluminiscencia y también inmunocromatográficas.

Es necesario resaltar, que NO HAY EVIDENCIA todavía, de la relación de anticuerpos IgG detectables mediante alguna de estas técnicas y la producción en cantidad suficiente de anticuerpos neutralizantes frente al virus. Desconocemos todavía la correlación en este caso, los títulos de anticuerpos necesarios y su detectabilidad por los distintos sistemas<sup>17</sup>.

#### **Sensibilidad de la pruebas**

Las técnicas serológicas de detección de anticuerpos realizadas en ensayos de Enzimoimmunoanálisis (ELISA) y Quimioluminiscencia tienen diferentes sensibilidades dependiendo del día en que se haya realizado la muestra desde el inicio de los síntomas. (Tabla 1)

	Días tras el inicio de los síntomas		
Tipo de test	1-7	8-14	15-39
Detección de RNA por RT-PCR	67%	54%	45%
Anticuerpos totales	38%	90%	100%
IgM	29%	73%	94%
IgG	19%	54%	80%

**Tabla 1.** Sensibilidad de los test diagnósticos de SARS-CoV—2 en los días tras el inicio de los síntomas. Modificada de Zhao et al. 2020

En cuanto a las técnicas serológicas mediante inmunocromatografías, hay que valorar y conseguir validaciones externas porque las sensibilidades y especificidades varían mucho de una técnica a otra. Por lo tanto, todavía debemos tener precaución ante los resultados de técnicas todavía poco instauradas, que deben valorarse en el contexto clínico de cada paciente, asumiendo también la posibilidad de falsos positivos y falsos negativos en los resultados<sup>13</sup>.

Fundamental también, entender que la mayoría de datos que hay hasta el momento, son en poblaciones que han padecido cuadros de gravedad intermedia o alta, por lo que desconocemos su utilidad en poblaciones asintomáticas/paucisintomáticas.

Los resultados deben ser interpretados con prudencia en relación con el curso de la infección, sobre todo por la tasa de falsos negativos en la detección de la IgM, ya que la respuesta de IgM en un enfermo COVID19 puede tardar en aparecer desde varios días a dos semanas. - Asimismo, la detección de anticuerpos IgG solo indica contacto previo con el virus, pero no es útil para confirmar la presencia y excreción del virus, ni descarta enfermedad COVID-19 activa mientras persisten IgM. Aunque son test rápidos, es difícil procesar muchas muestras en un corto periodo de tiempo.

En la actualidad no existen test rápidos de autodiagnóstico.

### III.-Pruebas bioquímicas, inmunológicas y hematológicas alteradas

Las 13 principales alteraciones analíticas en pacientes con Covid-19 son<sup>13,20,21</sup>:

1.- Gasometrías, como en todas las neumonías. Estado ácido base arterial: los pacientes infectados pueden desarrollar de manera súbita insuficiencia respiratoria aguda, por lo que es importante tener presente las alteraciones en la gasometría arterial para poder realizar un correcto diagnóstico y tratamiento.

El score SOFA o Sequential Organ Failure Assesment, es utilizado frecuentemente en las unidades de cuidados críticos y se calcula en base a parámetros analíticos y clínicos.

Los principales cambios que veremos en la gasometría arterial son:



- PaO<sub>2</sub> disminuida (menor o igual a 60 mmHg).
- Aumento de la PaCO<sub>2</sub>
- Acidosis respiratoria, que puede presentarse junto a acidosis metabólica por presencia de ácido láctico.

#### Evaluación del síndrome distrés respiratorio agudo (SDRA)

pO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> 200-300 SDRA leve. 100-199 SDRA moderado. <100 SDRA severo

satO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> 236-315 SDRA leve. <236 SDRA de moderado a severo

2.- Linfopenia: Un recuento linfocitario bajo (<0.4\* 10<sup>9</sup>/L) se asoció de una manera importante al desarrollo de neumonía grave.

Nº Neutrófilos/nº linfocitos >3,13

3.- Neutrofilia: El 87% de los pacientes con una cifra de neutrófilos por encima de 7\*10<sup>9</sup>/L desarrollaron un peor curso clínico.

4.- Leucocitosis: El 96% de los pacientes con recuento leucocitario superior a 10\*10<sup>9</sup>/L presentaron un cuadro severo

5.- Dímero D: El 81 % de los pacientes con niveles de Dímero D superiores a 1 mg/L presentaron un cuadro grave de neumonía, valores de mal pronóstico en el momento del ingreso. También se asoció a la aparición de complicaciones trombóticas.

6.- Proteína C reactiva: Mayores niveles de proteína C reactiva (>150 mg/L) se relacionan con desarrollo de neumonía severa.

7.- Lactato deshidrogenasa (LDH): El 100% de los pacientes con neumonía grave presentaron niveles por encima de 720U/L.

8.- Ferritina: Niveles elevados de ferritina (> 2000 ng/mL) se relacionaron con el desarrollo de síndrome hemofagocítico (SHF Alanina amino transferasa (ALT):

9.- Procalcitonina (PCT): La procalcitonina es un marcador de utilidad para vigilar la aparición de sobre infección bacteriana. Niveles superiores a 0,5 µg/L corresponden a un riesgo 5 veces mayor de infección severa.

10.- Troponina T: Durante la hospitalización los pacientes con niveles elevados de TnT tuvieron más frecuencia de arritmias malignas que los que presentaban niveles de TnT normales.

11.- Interleucina -6: Niveles elevados de IL-6 (>80pg/mL), se asocian al desarrollo de SHF y a fallo respiratorio severo.

12.- Péptidos natriuréticos (BNP, NT-prBNP): La elevación de péptidos natriuréticos son un factor de riesgo de muerte independiente en pacientes con Covid-19.

13.- El aumento de la actividad de la ALT se relacionó con peor evolución, especialmente con niveles superiores a 40 U/L.

## IV.- Cómo se conservan las muestras.

En la **Tabla 2** se expone el tipo de contenedor, condiciones de temperatura para el transporte y conservación.

TIPO DE MUESTRA	CONTENEDOR	CONDICIONES DE TRANSPORTE	CONSERVACIÓN
EXUDADO NASOFARÍNGEO/OROFARÍNGEO	Torunda dacrón y medio de transporte virus	4 °C	5 días: 4°C >5 días: -70 °C
ASPIRADO/LAVADO NASOFARÍNGEO	Sin medio de transporte	4 °C	48 h: 4°C >48h: -70 °C
LAVADO BRONCOALVEOLAR	Contenedor estéril, sin medio de transporte	4 °C	48 h: 4°C >48h: -70 °C
ASPIRADO ENDOTRAQUEAL	Contenedor estéril, sin medio de transporte	4 °C	48 h: 4°C >48h: -70 °C
ESPUTO	Contenedor estéril, sin medio de transporte	4 °C	48 h: 4°C >48h: -70 °C
BIOPSIA PULMÓN	Contenedor estéril con medio salino	4 °C	48 h: 4°C >48h: -70 °C
SUERO (2 muestras: una en fase aguda y otra en fase convaleciente)	3-5 ml adultos 1 ml niños	4 °C	5 días: 4°C >5 días: -70 °C
SANGRE COMPLETA	EDTA	4 °C	5 días: 4°C >5 días: -70 °C
ORINA	Contenedor estéril, sin medio de transporte	4 °C	5 días: 4°C >5 días: -70 °C
HECES	Contenedor estéril, sin medio de transporte	4 °C	5 días: 4°C >5 días: -70 °C

**Tabla 2.** Conservación de muestras

En el apartado I de Bioseguridad, se han expuesto las condiciones para el transporte y el tratamiento de los residuos.

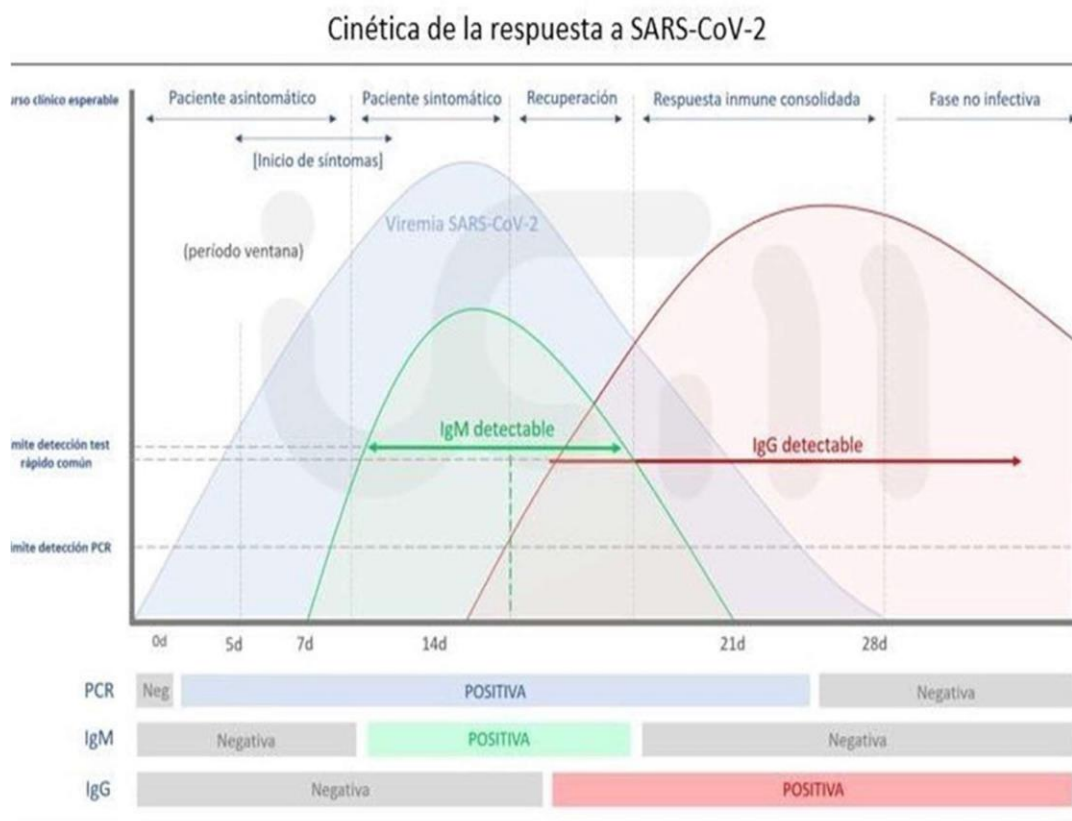
## 4.- ¿Cómo se interpretan los resultados? Correlación síntomas/pruebas con fases de la infección

De acuerdo con la evidencia existente, en los casos leves, la transmisión de la infección ocurriría fundamentalmente en la primera semana de la presentación de los síntomas, desde 1-2 días antes hasta 5-6 días después. En los casos más graves esta transmisión sería más intensa y más duradera (**Gráfico 2**)

Diversas técnicas serológicas que utilizan como antígenos virales la nucleoproteína, la proteína S, o el dominio de unión al receptor de la proteína, han demostrado su utilidad en series de casos, en las que detectan anticuerpos totales, IgM e IgG, con una sensibilidad creciente en el curso de la infección, que es mayor del 90% a la segunda semana tras el inicio de los síntomas. Además se ha observado que durante los primeros 7 días tras inicio de síntomas, la PCR es positiva en el 100% de los pacientes y se va

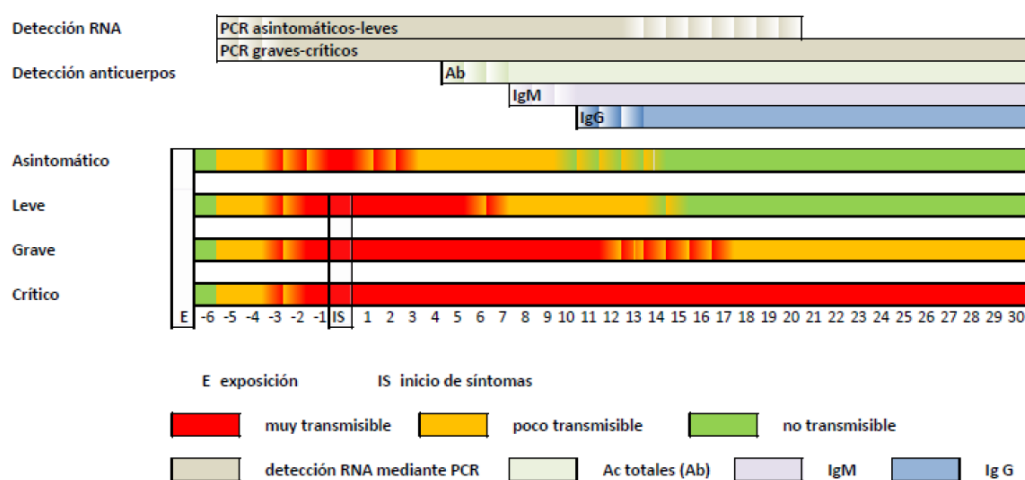
negativizando según pasan los días, de manera que el porcentaje de positivos era del 90% entre los días 8-14 y del 70% entre los días 15 y 29 tras inicio de síntomas.

En el **Gráfico 6** se indica la secuencia de aparición y resolución de la PCR y anticuerpos IgG e IgM.



**Gráfico 6.** Variación de la viremia y los niveles de inmunoglobulinas a lo largo de la enfermedad y su relación con los resultados de los test de diagnóstico.

El **Gráfico 7** nos muestra los periodos medios de transmisibilidad según la gravedad de los casos de COVID-19 y periodos de detección de RNA de SARS- CoV-2 mediante PCR y anticuerpos mediante técnicas serológicas.



**Gráfico 7.** Periodos medios de transmisibilidad según la gravedad de los casos de COVID-19 y periodos de detección de RNA de SARS- CoV-2 mediante PCR y anticuerpos mediante técnicas serológicas.

A continuación, se muestra en las **Tablas 3, 4, 5, 6, y 7** la ayuda a la interpretación de estas pruebas, considerando que las técnicas de ELISA existentes en el mercado tienen una especificidad mayor del 95%, la interpretación de los resultados de estas pruebas según el momento del transcurso de la infección en el que se encuentre el paciente<sup>22</sup>.

**Tabla 3.** Resumen general de interpretación

PCR	Ag	IgM	IgG	Interpretación
+	-	-	-	Fase presintomática
+	+/-	+/-	+/-	Fase inicial (aprox. 1-7 días)
+/-	-	+	+/-	2ª Fase (8-14 días)
+/-	-	++	++	3ª Fase > 15 días
-	-	+/-	++	Infección pasada (inmune)

**Tabla 4.** Interpretación del resultado positivo de la prueba de PCR y/o antígeno (en ausencia de otras pruebas):

Sintomáticos días tras inicio de síntomas	Leves	Graves	Críticos	Asintomáticos días tras la exposición	Asintomáticos exposición desconocida*
<7	IA	IA	IA	<12 IA	IA
7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IA
15-50	IP	IA	IA	20-55 IP	IA
>50	IP	IR	IA	>55 IP	IA

Leves: sin criterios de ingreso; Graves: criterios de ingreso hospitalario; Críticos: criterios de ingreso en UCI; IA: Infección aguda en curso con alta probabilidad de transmisión; IR: infección aguda resuelta o en resolución con baja probabilidad de transmisión; IP: infección pasada (siempre y cuando se haya resuelto la clínica) con muy baja probabilidad de transmisión. \*La consideración de IA en este grupo se mantendrá durante un plazo de 7 días, luego se considerará IR otros 7 días y después IP.

**Tabla 5.** Interpretación del resultado positivo de la prueba anticuerpos totales (en ausencia de otras pruebas):

Sintomáticos días tras inicio de síntomas	Leves	Graves	Críticos	Asintomáticos días tras la exposición	Asintomáticos exposición desconocida*
<7	IA	IA	IA	<12 IA	IA
7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IA
15-50	IP	IA	IA	20-55 IP	IA
>50	IP	IR	IA	>55 IP	IA

Leves: sin criterios de ingreso; Graves: criterios de ingreso hospitalario; Críticos: criterios de ingreso en UCI; IA: Infección aguda en curso con alta probabilidad de transmisión; IR: infección aguda resuelta o en resolución con baja probabilidad de transmisión; IP: infección pasada (siempre y cuando se haya resuelto la clínica) con muy baja probabilidad de transmisión. \*La consideración de IA en este grupo se mantendrá durante un plazo de 7 días, luego se considerará IR otros 7 días y después IP.

**Tabla 6.** Interpretación del resultado positivo de la PCR o Ag y anticuerpos totales si se hacen conjuntamente:

PCR o Ag	Ab	Sintomáticos días tras inicio de síntomas	Leves	Graves	Críticos	Asintomáticos días tras la exposición	Asintomáticos exposición desconocida*
+	-	<7	IA	IA	IA	<12 IA	IA
+	+	<7	IA	IA	IA	<12 IA	IA
-	+	<7	IA	IA	IA	<12 IA	IA
+	-	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IA
+	+	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IA
-	+	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IA
+	-	15-50	IP	IA	IA	>55 IP	IA
+	+	15-50	IP	IA	IA	20-55 IP	IA
-	+	15-50	IP	IR	IA	20-55 IP	IA
+	-	> 50	IP	IP	IA	>55 IP	IA
+	+	> 50	IP	IP	IR	>55 IP	IA
-	+	> 50	IP	IP	IR	>55 IP	IA

Leves: sin criterios de ingreso; Graves: criterios de ingreso hospitalario; Críticos: criterios de ingreso en UCI; IA: Infección aguda en curso con alta probabilidad de transmisión; IR: infección aguda resuelta o en resolución con baja probabilidad de transmisión; IP: infección pasada (siempre y cuando se haya resuelto la clínica) con muy baja probabilidad de transmisión. \*La consideración de IA en este grupo se mantendrá durante un plazo de 7 días, luego se considerará IR otros 7 días y después IP.



**Tabla 7.** Interpretación del resultado positivo de la PCR o Ag, anticuerpos totales, IgM e IgG si se hacen conjuntamente:

PCR o Ag	Ab	IgM	IgG	Sintomáticos días tras inicio de síntomas	Leves	Graves	Críticos	Asintomáticos días tras la exposición	Asintomáticos exposición desconocida*
+	-	-	-	<7	IA	IA	IA	<12 IA	IA
-	+	-	-	<7	IA	IA	IA	<12 IA	IA
+	+	-	-	<7	IA	IA	IA	<12 IA	IA
+	-	-	-	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IA
-	+	-	-	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IA
+	+	-	-	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IA
+	+	+	-	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IR
+	+	+	+	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IR
-	+	+	-	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IR
-	+	+	+	7-14	IR	IA	IA	12-19 IR	IR/IP
+	-	-	-	15-50	IP	IA	IA	20-55 IP	IA
-	+	-	-	15-50	IP	IR	IA	20-55 IP	IA
+	+	-	-	15-50	IP	IA	IA	20-55 IP	IA
+	+	+	-	15-50	IP	IA	IA	20-55 IP	IR
+	+	+	+	15-50	IP	IA	IA	20-55 IP	IR
-	+	+	-	15-50	IP	IR	IA	20-55 IP	IR
-	+	+	+	15-50	IP	IR	IA	20-55 IP	IR/IP
+	-	-	-	>50	IP	IR	IA	>55 IP	IA
+	+	-	-	>50	IP	IR	IA	>55 IP	IA
+	+	+	-	>50	IP	IR	IA	>55 IP	IR
+	+	+	+	>50	IP	IR	IA	>55 IP	IR
+	+	-	+	>50	IP	IR	IA	>55 IP	IR
-	+	-	-	>50	IP	IP	IR	>55 IP	IA
-	+	+	-	>50	IP	IP	IR	>55 IP	IR
-	+	+	+	>50	IP	IP	IR	>55 IP	IR/IP
-	+	-	+	>50	IP	IP	IR	>55 IP	IP

Leves: sin criterios de ingreso; Graves: criterios de ingreso hospitalario; Críticos: criterios de ingreso en UCI; IA: Infección aguda en curso con alta probabilidad de transmisión; IR: infección aguda resuelta o en resolución con baja probabilidad de transmisión; IP: infección pasada (siempre y cuando se haya resuelto la clínica) con muy baja probabilidad de transmisión. \*La consideración en este grupo de IA o IR se mantendrá durante un plazo de 7 días después del cual serán considerados respectivamente IR otros 7 días o IP de forma permanente.

## Fuentes bibliográficas

- 1.- Kamps BS, Hoffmann C. Covid Reference. Ed Steinhauser Verlag. 7 abr 2020.
- 2.- European Centre for Disease Prevention and Control. COVID-19.
- 3.- Mensa J y cols. Coronavirus. Guía Terapéutica Antimicrobiana 2020. [Actualizado 18 de abril de 2020, consultado 19 de abril de 2020].
- 4.- World health Organization. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. 2020. Disponible en: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>.
- 5.- Cyranoski D. Mystery deepens over animal source of coronavirus. Nature. Marzo de 2020; 579(7797):18-9.
- 6.- Informe actualizado del CCAES del 17 de abril de 2020.
- 7.- Carsana L et al. Pulmonary post-mortem findings in a large series of COVID-19 cases from Northern Italy. <https://doi.org/10.1101/2020.04.19.20054262>.
- 8.- Equipo COVID-19. RENAVE. CNE. CNM (ISCIII). Informe nº23. Situación de COVID-19 en España a 16 de abril de 2020..
- 9.- Sociedad Española de Neurología. Covid-19: Recomendaciones de la Sociedad Española de Neurología (SEN) en relación con la pérdida de olfato como posible síntoma precoz de infección por CoVID-19. Consulta electrónica.
- 10.- Ping Wu et al. Characteristics of Ocular Findings of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China. JAMA Ophthalmol. doi:10.1001/jamaophthalmol.2020.1291.
- 11.- Recalcati S. Cutaneous manifestations in COVID-19: a first perspective. JEADV <https://doi.org/10.1111/jdv.16387>.
- 12.- Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – seventh update [Internet]. European Center for Disease Control and Prevention; 2020 mar. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-seventh-update-Outbreak-of-coronavirus-disease-COVID-19.pdf>
- 13.- Gemin Zhang, Jie Zhang, Bowen Wang, Xionglin Zhu, Qiang Wang and Shiming Qiu. Analysis of clinical characteristics and laboratory findings of 95 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a retrospective analysis Respiratory Research (2020) 21:74.

- 14.- Procedimiento de actuación frente a casos de infección por el nuevo coronavirus (SARS-CoV-2). Actualizado a 11 de abril de 2020. Disponible en: [https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/Procedimiento\\_COVID\\_19.pdf](https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/Procedimiento_COVID_19.pdf)
- 15.- Alados Arboledas JC y cols. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Procedimientos en Microbiología Clínica.). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014.
- 16.- Corman Victor M, Landt Olfert, Kaiser Marco, Molenkamp Richard, Meijer Adam, Chu Daniel KW, Bleicker Tobias, Brünink Sebastian, Schneider Julia, Schmidt Marie Luisa, Mulders Daphne GJC, Haagmans Bart L, van der Veer Bas, van den Brink Sharon, Wijsman Lisa, Goderski Gabriel, Romette Jean-Louis, Ellis Joanna, Zambon Maria, Peiris Malik, Goossens Herman, Reusken Chantal, Koopmans Marion PG, Drosten Christian. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. EuroSurveill. 2020; 25 (3) :pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>.
- 17.- Zhao et al. Antibody responses to SARS-COV-2 of patients with novel coronavirus disease 2019. Clin Infect Dis. 2020 Mar 28.
- 18.- Francisco M. Marty, M.D., Kaiwen Chen, B.S., and Kelly A. Verrill, R.N. How to Obtain a Nasopharyngeal Swab Specimen. New England Journal of Medicine. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2010260>.
- 19.- Ingrid Arevalo-Rodriguez, Diana Buitrago-Garcia, Daniel Simancas-Racines, Paula Zambrano-Achig, Rosa del Campo, Agustin Ciapponi, Omar Sued, Laura Martinez-Garcia, Anne Rutjes, Nicola Low, Jose A Perez-Molina, Javier Zamoradói. False-negative results of initial rt-pcr assays for covid-19: a systematic review.: <https://doi.org/10.1101/2020.04.16.20066787>.
- 20.- Giuseppe Lippi and Mario Plebani. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks.. Clin Chem Lab Med 2020; aop.
- 21.- COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. Puja Mehta, Daniel F McAuley, Michael Brown, Emilie Sanchez, Rachel S Tattersall, Jessica J Manson, on behalf of the HLH Across Speciality Collaboration, UK. March 13, 2020 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0).
- 22.- Interpretación de pruebas diagnósticas. Informe actualizado del CCAES, del 22 y 24 de abril de 2020. Ministerio de Sanidad en colaboración con SEIMC. Disponible en: [https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/Procedimiento\\_COVID\\_19.pdf](https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/Procedimiento_COVID_19.pdf).
23. Siddiqui et al. COVID-19. Illness in Native and Immunosuppressed States: A Clinical-Therapeutic Staging Proposal. Heart Lung Transplant. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2020.03.012>