



Artículo Especial

Utilidad y manejo de las pruebas de detección de infección activa (PDIA)

Usefulness and management of active infection diagnostic tests (AIDTs)

Daniel Pineda Tenor¹, María S. Pacheco Delgado², Santiago Prieto Menchero³, Laura Criado Gómez⁴, Enrique Prada de Medio⁵, Enrique Rodríguez Borja⁶, Verónica Cámara Hernández⁷

¹Unidad de Gestión Clínica de Laboratorio. Hospital de Antequera. Antequera, Málaga. Área de Gestión Sanitaria Norte de Málaga (AGSNM). Junta Directiva de la Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML). Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia (CCGSE) de la AEBM-ML. Madrid. ²Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid. Junta Directiva de la Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML). Comité de Informe de Laboratorio de la AEBM-ML. Madrid. ³Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid. Junta Directiva de la Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML). Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia (CCGSE) de la AEBM-ML. Comité de Informe de Laboratorio de la AEBM-ML. Madrid. ⁴Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Móstoles. Móstoles, Madrid. Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia (CCGSE) de la AEBM-ML. Madrid. ⁵Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Virgen de la Luz. Cuenca. Junta Directiva de la Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML). Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia (CCGSE) de la AEBM-ML. Madrid. ⁶Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia. Junta Directiva de la Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML). Comité de Informe de Laboratorio de la AEBM-ML. Madrid. ⁷Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Getafe. Getafe, Madrid. Junta Directiva de la Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio AEBM-ML. Madrid

Recibido: 15/02/2022
Aceptado: 15/02/2022

Correspondencia: Daniel Pineda Tenor. Unidad de Gestión Clínica de Laboratorio. Hospital de Antequera. Avenida Poeta Muñoz Rojas, s/n. 29200 Antequera, Málaga
e-mail: daniel.pineda.sspa@juntadeandalucia.es

Se envía artículo solicitado en el seno de la junta directiva de la Sociedad Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio (AEBM-ML) para dar respuesta a las múltiples dudas planteadas por socios y profesionales ante el uso correcto de las pruebas de detección de infección activa COVID-19. El artículo ha sido realizado por el Comité de Calidad, Gestión, Segu-

ridad y Evidencia, el Comité de Informe de Laboratorio y miembros de la propia Junta.

Con el objetivo de facilitar su lectura, el trabajo se presenta en formato de infografía.

Palabras clave: COVID-19. SARS-CoV-2. RT-PCR. Prueba rápida de detección de antígeno. Diagnóstico. Cribado.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00120

Pineda Tenor D, Pacheco Delgado MS, Prieto Menchero S, Criado Gómez L, Prada de Medio E, Rodríguez Borja E, Cámara Hernández V. Utilidad y manejo de las pruebas de detección de infección activa (PDIA). Rev Med Lab 2022;3(1):21-24

¿Qué tipos de test permiten detectar infección activa de SARS-CoV-2?

La estrategia diagnóstica de la COVID-19 (CoronaVirus Disease 2019) se realiza actualmente en base a pruebas para la detección de infección activa (PDIA) del virus SARS-CoV-2, las cuales incluyen test moleculares y test rápidos de detección de antígenos:

1 Técnicas moleculares. Amplificación de ácidos nucleicos

Detección de ARN viral mediante técnicas de amplificación de ácido nucleico (*Nucleic acid amplification test - NAAT*), que incluyen la TMA (*Transcription mediated amplification*), la RT-LAMP (*Reverse Transcriptase Loop-Mediated Isothermal Amplification*) y la RT-PCR (*Reverse Transcripción Polymerase Chain Reaction*). Esta última constituye la prueba de referencia, dada su elevada sensibilidad y especificidad. Las dianas de amplificación más frecuentes incluyen en los genes E (envuelta), S (espícula), N (nucleocápside) y marco abierto de lectura (ORF) 1ab.

Sus resultados se proporcionan como umbral de ciclo de positividad (*cycle threshold - Ct*). La amplificación del material genético de la muestra tiene lugar de forma exponencial a lo largo de un número de ciclos que se repiten de forma secuencial. El Ct indica el número de ciclos en los que la señal fluorescente sobrepasa el umbral de detección. Este valor constituye una medida semicuantitativa que está inversamente relacionada con las copias de ARN presente en la muestra, por lo que permite estimar de forma indirecta la carga viral del paciente.

Sensibilidad y especificidad de la RT-PCR en relación al Ct

RT-PCR Ct	Estudios Bibliografía	Muestras	casos	Sensibilidad media % (IC 95%)	Especificidad media RT-PCR % (IC 95%)
Global	32	4.537	1.973	95,5 (91,5-97,7)	98,8 (98,3-99,2)
Ct ≤ 30	6	204	204	100 (98,2-100)	-
Ct > 30	6	149	149	95,6 (55,7-99,7)	-

Dinnes et al. Cochrane Library. 2021; 3(3)

La RT-PCR puede ser considerada la técnica de elección para determinar infección activa, debido a que presenta la mayor sensibilidad y especificidad. Resultados positivos pueden ser observados días antes del establecimiento de los síntomas, y están presentes durante todo el curso de la enfermedad. Su elevada complejidad metodológica requiere laboratorios especializados y personal cualificado, suponiendo además tiempos de procesamiento largos y emisión de resultados 12-72 horas tras su solicitud. Cabe destacar que la detección de ARN viral no supone necesariamente la presencia de virus infectivo en las muestras clínicas. De la misma forma, debido a la amplia distribución de la variante Omicron y a la actual pauta de vacunación es posible encontrar individuos portadores de SARS-CoV-2 que no padecen la enfermedad.

2 Test Rápidos de Detección de Antígenos

Sensibilidad de los test de antígenos en relación a la Ct de la RT-PCR

RT-PCR Ct	Estudios bibliografía	Muestras	Casos	Sensibilidad media test de antígeno % (IC 95%)
Ct ≤ 25	36	2.613	2.632	94,5 (91,0-96,7)
Ct > 25	36	2.632	2.632	40,7 (31,8-50,3)
Ct > 33/32	15	346	346	8,9 (3,3-21,7)

Test rápidos de detección de Antígenos (*Rapid Antigen Diagnostic Test, RADT*). Detección mediante técnicas inmunocromatográficas de flujo lateral de antígeno viral, siendo los más frecuentes la proteína N (nucleocápside) o S (espícula). Sus resultados son cualitativos (presencia o ausencia de antígeno), con una ventana de detección, una sensibilidad y una especificidad inferior a la aportada por la RT-PCR. Su principal ventaja es la rapidez de la prueba, que puede ser realizada en 15-30 minutos.



La OMS recomienda que los test de antígenos presenten una sensibilidad ≥ 80 % y una especificidad ≥ 97 %.

Dinnes et al. Cochrane Library. 2021; 3(3)

Los datos de sensibilidad y especificidad proporcionados por los fabricantes suelen ser obtenidos en condiciones de detección ideales, no ajustadas a la realidad clínica. El empleo de test de antígenos posee una capacidad de detección adecuada en pacientes con elevada carga viral. La positividad en función del valor Ct de RT-PCR es variable dependiendo de los estudios y test empleados, considerándose adecuado en pacientes con Ct ≤ 25. La especificidad suele ser muy elevada con independencia de la carga viral. Dada su facilidad de análisis y su rápido tiempo de respuesta, es especialmente útil en cribados iniciales (siendo recomendable la realización de RT-PCR en pacientes negativos con alta sospecha) y en aquellos casos en los que no se encuentre disponible la posibilidad de realización de RT-PCR o su tiempo de respuesta sea superior a 36 horas.

¿Cómo se relacionan los resultados de estos test?

Relación entre valor de Ct de la RT-PCR, la carga viral, la positividad del RADT y crecimiento en cultivo celular



El valor de Ct obtenido en una RT-PCR no debe ser utilizado como cuantificación de la carga viral. Sin embargo, se ha descrito que existe una relación inversa entre el Ct y la carga viral, así como la probabilidad de recuperación de virus infectivo en cultivo celular.

La detección de ARN viral no supone necesariamente la presencia de virus infectivo en una muestra clínica.

El valor de Ct obtenidos en una RT-PCR se encuentra relacionado con la capacidad de crecimiento viral en cultivo celular, que se considera indicador de su capacidad infectiva. La presencia o no de sintomatología no afecta a esta capacidad de crecimiento. Si bien existe variabilidad en la bibliografía, se considera que un valor Ct de 34 equivale a unas 10⁶ partículas virales en 10 mL de una muestra nasofaríngea o de saliva. En este punto, no se observa crecimiento en cultivo celular. Se requieren cargas virales elevadas, de 10⁵-10⁶ para positividad en detección de test de antígeno.



Info-COVID-19 | Utilidad y manejo de las Pruebas de Detección de Infección Activa (PDIA)

2/3

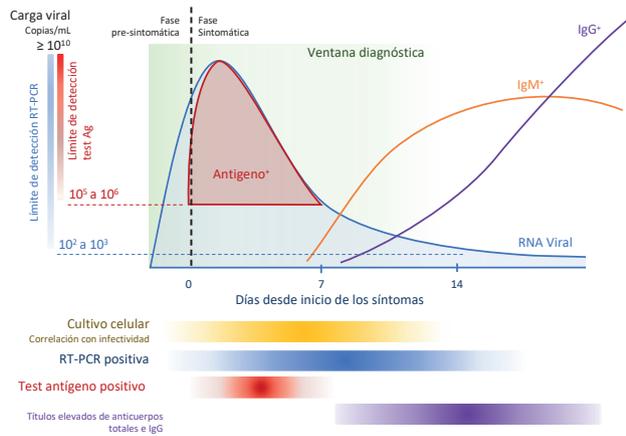
D Pineda Tenor^{1,2}, M Pacheco Delgado^{1,3}, S Prieto Menchero^{1,3}, L Criado Gómez², E Prada de Medio^{1,2}, E Rodríguez Borja^{1,3}, V Cámara Hernández¹.

1. Junta directiva AEBM-ML; 2. Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia; 3. Comité de Informe de Laboratorio

Documento de la AEBM-ML
Asociación Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio
Versión 1
Fecha: 23 de Enero de 2022

¿Cuándo es útil aplicar los test que permiten detectar infección activa de SARS-CoV-2?

Línea temporal para el adecuado uso de diferentes test diagnósticos y respuesta del paciente



Drain et al. N Eng J Med 2022;386(3) y Peeling et al. Lancet December 20 2021

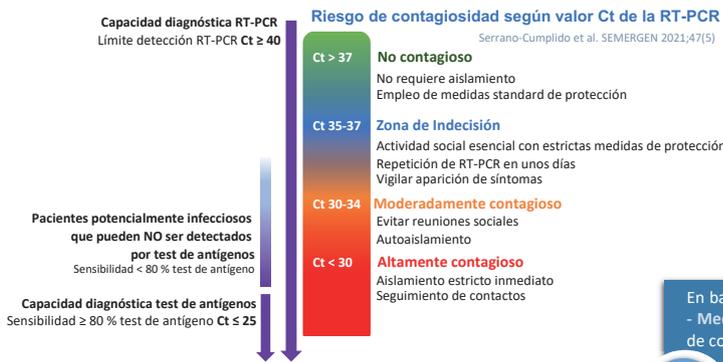
Los tiempos de positividad de los diferentes test presentados en la presente gráfica corresponden a situaciones generales, pero están sujetos a variación. Es posible encontrar pacientes persistentes con Ct de RT-PCR detectables durante varias semanas tras resolución de los síntomas, así como test de antígenos positivos más allá de la primera semana tras el establecimiento de los síntomas.

La interpretación del Ct de la RT-PCR presenta limitaciones, tales como el no expresarse con valores lineales, la dependencia de su valor en función del tipo y calidad de la toma (condiciones preanalíticas incorrectas pueden derivar en falsos negativos) y la existencia de variabilidad intra e inter-prueba. Además, la RT-PCR detecta presencia de ARN viral, pero no su viabilidad. Por tanto, su interpretación debe ser realizada en el contexto clínico/epidemiológico del paciente.

La interpretación del resultado de los test rápidos de antígenos debe ser realizada con cautela. Resultados falsos negativos pueden tener lugar si la toma de muestra es inadecuada, así como si se evalúan fuera de su ventana de detección. Resultados falsos positivos son frecuentes si la realización analítica del test es incorrecta, empleando otras sustancias diluyentes (agua, zumo...) en lugar del buffer destinado a tamponar el pH durante la unión del antígeno.

Tal y como ha sido descrito anteriormente, la capacidad de contagiosidad de un paciente depende de su carga viral, que es proporcional a la capacidad de recuperación de virus infeccioso e inversamente proporcional a los Ct de la RT-PCR. En cualquier caso, la transmisibilidad es un fenómeno complejo sin técnicas validadas para su medición.

La **Sociedad Española de Médicos de Atención Primaria (SEMERGEN)** ha publicado una revisión según la cual un valor de Ct ≥ 37 se asocia a cargas virales lo suficientemente bajas como para considerar al paciente como no contagioso, mientras que pacientes con Ct inferiores a 30 presentan un riesgo elevado de contagiosidad por hallarse asociados a alta carga viral.



1 Los síntomas de la COVID-19 aparecen de 2 a 14 días tras la exposición, con una media de 3 a 5 días tras la infección. Se ha descrito que en el 1% de los pacientes los síntomas pueden aparecer a partir del día 14, existiendo adicionalmente pacientes asintomáticos.

2 La RT-PCR es capaz de detectar presencia del virus **unos 3 días antes del establecimiento de la sintomatología**, una vez que se alcanza un nivel de carga viral superior a los 10^2 - 10^3 copias/mL, **y se mantiene positiva durante todo el curso de la infección**. La carga viral es máxima antes de la manifestación de los síntomas y durante los primeros 3-5 días, decayendo hasta hacerse indetectable (la duración media de replicación es de unos 17 días, pudiendo prolongarse en el tiempo).

3 Los **test rápidos de antígenos** pueden ser positivos uno o dos días antes del establecimiento de los síntomas, aunque se ha descrito que estos presentan una adecuada sensibilidad diagnóstica dentro de la **primera semana tras la instauración de la sintomatología**. Se requieren cargas virales superiores de 10^5 - 10^6 para su detección.

Relación entre sintomatología y positividad de test de antígenos

Días desde inicio de los síntomas	Estudios bibliografía	Muestras	casos	Sensibilidad media test de antígeno % (IC 95 %)
Semana 1	26	5.769	2.320	78,3 (71,1-84,1)
Semana 2	22	1.581	692	51,0 (40,8-61,0)
Asintomáticos	12	1.581	295	58,1 (40,2-74,1)

Dinnes et al. Cochrane Library. 2021; 3(3)

4 Los **test serológicos de anticuerpos** pueden ser positivos durante la infección aguda y tras la resolución de la misma, asociándose a presencia única de IgG a infección pasada o vacunación. En cualquier caso, **no se consideran útiles para determinar infección activa**, sino herramientas para evaluar el estado epidemiológico del paciente.

¿Es posible estratificar el riesgo de contagiosidad en base a estos test?

La **Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)** indica sin embargo que **la utilización del Ct para inferir contagiosidad del paciente puede ser inadecuada**, debido a que este valor es dependiente tanto de las condiciones preanalíticas (tipo de muestra y medio de transporte, calidad de la muestra, condiciones de almacenamiento, tiempo de vortexado) como de las características analíticas del proceso (método y condiciones de extracción, plataforma empleada para amplificación y detección de ARN viral, dianas, técnicas de amplificación, fluoróforos que marcan las sondas, líneas base de los canales y ciclos del experimento).

En base a la evidencia disponible, la Sociedad Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio (AEBM-ML) recomienda que la evaluación del riesgo de contagiosidad en base a los PDIA debe considerar que:

1 Los pacientes con resultados RT-PCR Ct < 30 o resultado positivo en test rápido de antígeno presentan riesgo de contagiosidad. La asignación de nivel de riesgo presenta sin embargo limitaciones.

2 Resultados RT-PCR Ct ≥ 30 o resultados negativos en test rápido de antígeno no permiten descartar la contagiosidad y debe valorarse en el contexto clínico/epidemiológico del paciente.

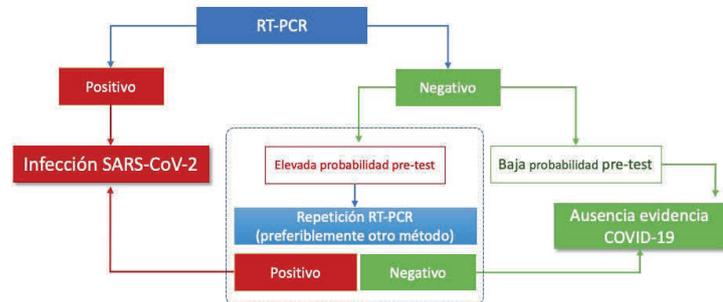
La correcta interpretación de este esquema de riesgo requiere considerar la situación clínica/epidemiológica del paciente, ya que valores elevados de Ct pueden ser observados en pacientes con infección en vías de resolución, pero también en los momentos iniciales de la misma.

Los valores de Ct son además variables, pues son dependientes de las condiciones preanalíticas (pueden dar lugar a Ct erróneamente elevados) y de las características de las plataformas analíticas y los métodos empleados para su detección (diferencias de varios ciclos entre distintos sistemas de evaluación).

¿Cómo se aplican los test que permiten detectar infección activa de SARS-CoV-2?

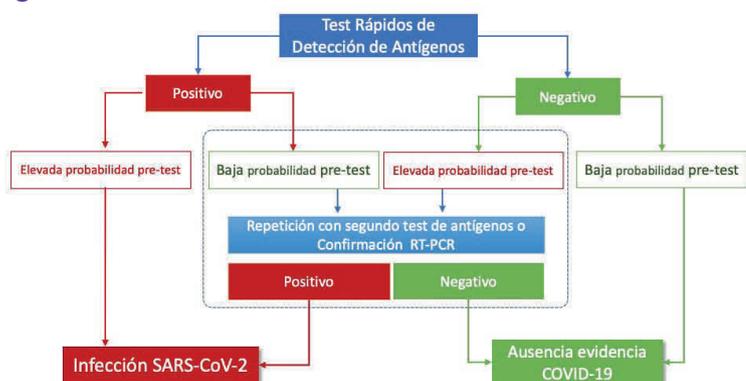
1 RT-PCR

- Se considera la **técnica de referencia** debido a su elevada sensibilidad y especificidad.
- Un **resultado positivo puede ser evaluado en base a su Ct**, pues este valor orienta sobre el momento de la infección y el riesgo de contagiosidad.
- Un **resultado negativo**, en presencia de elevada probabilidad pre-test, no descarta la infección, pues puede ser consecuencia de una inadecuada toma, transporte o conservación de la muestra, así como de errores puntuales en la fase analítica. De la misma forma, la evaluación puede haber sido realizada en momentos iniciales de la infección, con carga viral aún indetectable. En ambos casos, se recomienda su repetición mediante una segunda RT-PCR, a ser posible, mediante método diferente.



2 Test Rápidos de Detección de Antígenos

- Menos sensibles y específicos que la RT-PCR. Sin embargo, dada su **facilidad de manejo y rapidez de resultados** son útiles en aquellas circunstancias en las que las técnicas moleculares no estén disponibles, sus tiempos de respuesta sean superiores a 36 horas o se requiere realizar de forma inmediata un cribado en grupo de riesgo.
- Un **resultado positivo indica infección activa de SARS-CoV-2 con elevada especificidad**. Es necesario considerar sin embargo que la actuación preanalítica ha de ser adecuada, pues el empleo de sustancias que alteren el pH o el uso de buffers incorrectos o en mal estado pueden generar falsos positivos. Si la probabilidad pre-test es baja, es posible repetir un segundo test de antígeno o confirmar mediante técnica molecular.
- Un **resultado negativo ha de ser interpretado en el contexto clínico/epidemiológico del paciente**. Es posible que pacientes COVID-19, contagiosos o no, ofrezcan resultados negativos debido a concentraciones por debajo del límite de detección del test (asociado a cargas virales bajas). De la misma forma, la correcta toma de muestra es esencial para asegurar la fiabilidad de los resultados. En casos de probabilidad pre-test elevada, se recomienda confirmación del resultado mediante repetición de test de antígeno o preferiblemente mediante técnica molecular.



Se considera que la **probabilidad pre-test es elevada** cuando:

- Existen evidencias clínicas de infección, ya sean sintomatológicas o por resultados de pruebas de laboratorio o imagen
- El paciente ha tenido un contacto estrecho con alta probabilidad de contagio

Se considera que la **probabilidad pre-test es baja** cuando:

- El paciente es asintomático o carece de clínica sugestiva
- El paciente no presenta contacto estrecho o sus contactos son de bajo riesgo (baja exposición, medidas de prevención adecuadas, espacios abiertos, individuos vacunados)

Bibliografía

- Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, Taylor M, Adriano A, Davenport C, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based test for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane database Syst Rev [Internet] 2021;3(3).
- Greub G, Caruana G, Schweitzer M, Imperiali M, Muigg V, Risch M, et al. Multicenter Technical Validation of 30 Rapid Antigen test for the Detection of SARS-CoV-2 (VALIDATE). Microorganisms [Internet] 2021;9(12):2589.
- Serrano-Cumplido A, Ruiz Garcia A, Segura-Fragoso A, Olmo-Quintana V, Micó Pérez RM, Barquilla-García A, et al. Application of the PCR number of cycle threshold value (Ct) in COVID-19. Semergen [Internet] 2021;47(5):337-41.
- Drain PK. Rapid Diagnostic Testing for SARS-CoV-2. Solomon CG, editor. N Engl J Med [Internet] 2022;386(3):264-72.
- Oba J, Taniguchi H, Sato M, Takamatsu R, Morikawa S, Nakagawa T, et al. RT-PCR Screening test for SARS-CoV-2 with Saliva Samples in Asymptomatic People: Strategy to Maintain Social and Economic Activities while Reducing the Risk of Spreading the Virus. Keio J Med [Internet] 2021;70(2):35-43.
- Scheiblaue H, Filomena A, Nitsche A, Puyskens A, Corman VM, Drosten C, et al. Comparative sensitivity evaluation for 122 CE-marked rapid diagnostic tests for SARS-CoV-2 antigen, Germany, September 2020 to April 2021. Euro Surveill 2021;26(44):2100441.
- Peeling RW, Heymann DL, Teo Y-Y, Garcia PJ. Diagnostics for COVID-19: moving from pandemic response to control. Lancet 2021;20:S0140-6736(21)02346-1.
- Ministerio de Sanidad. Instituto de Salud Carlos III. Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19. Actualizado a 22 de Diciembre de 2021. Disponible en: <https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos.htm>
- Observaciones SEIMC en relación con la interpretación de la Ct-PCR de SARS-CoV-2. <https://www.seimc.org>
- Posicionamiento de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica (SEIMC) ante la situación actual (7 de febrero 2022) de la pandemia de COVID-19 en España. <https://www.seimc.org>