



## LA PANDEMIA POR SARS COV-2 UN RETO DESDE MÚLTIPLES FRENTES

Marcela Ferrés Garrido

Infectólogo Pediatra  
Jefe Laboratorio Infectología y Virología Molecular  
Red de Salud UC CHRISTUS  
Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile

En estos días hemos cumplido el día 100 de circulación del SARS CoV-2 en nuestro país, una infección por un nuevo agente, sin tratamiento eficaz y aún sin vacuna disponible.

Coronavirus y COVID-19 han sido los términos mas usados en la conversación diaria como también en los medios de difusión siendo percibidos como una amenaza y preocupación para la población general, el personal de salud y las autoridades del país.

El informe epidemiológico N 17 del 18 de junio del 2020, comunicó que un total de 250.919 casos de COVID 19 han sido diagnosticados, la gran mayoría de ellos han evolucionado en forma ambulatorio y, solo 7,4% han requerido de hospitalización para asistencia y soporte de complicaciones pulmonares y/o compromiso general de distintos órganos, en centros hospitalario a lo largo de todo el país. La cifra de letalidad global es de alrededor de 1,8%.

Como país nos hemos enfrentado a un evento infeccioso de carácter súbito y global, es así como al cabo de pocas semanas, mientras presenciábamos los estragos sanitarios que ocurrían en Asia y Europa, se decretó Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional el 30 de enero 2020 y, luego el 11 de marzo 2020 pandemia global. El continente americano, a esa fecha, ya estaba empezando a tener recuentos ascendentes de casos, especialmente en EE. UU y los primeros pacientes empezaban a ser diagnosticados como casos importados en Chile.

Durante todas las semanas que antecedieron al primer caso en Chile se empezó a trabajar en diferentes estrategias sanitarias, entre ellas, las que reforzaran la disponibilidad de las herramientas necesarias para entregar un diagnóstico virológico oportuno del SARS CoV-2 a nuestra población.

La velocidad del conocimiento y difusión de éste ha sido una de las características más notables durante esta pandemia, es destacable la colaboración que han prestado

los grandes centros de investigación para hacer disponible al resto de la comunidad científica el producto de su investigación casi en tiempo real, en beneficio de nuestros pacientes. No hay que desconocer, sin embargo, que mucha de esta información no ha tenido tiempo para ser analizada por pares lo que debe ser tomado en cuenta para dar el valor más adecuado a lo que leemos.

En nuestra realidad, una de las líneas de preparación activa fue a nivel de los laboratorios clínicos con la implementación de las técnicas de diagnóstico molecular como el rRT-PCR de SARS CoV-2, recurso que hasta ahora ha permitido la confirmación de los casos sospechosos detectados en los centros de salud asociados a hospitales, clínicas y centros de atención primaria. El Instituto de Salud Pública y su departamento de virología han liderado hasta la fecha la validación de los laboratorios clínicos de los servicios públicos y privados, sumándose a esta certificación los laboratorios de investigación universitarios que se han convertido a laboratorios de diagnóstico de COVID 19 durante esta situación de emergencia sanitaria. A la fecha, existen 83 centros que tienen la responsabilidad de procesar muestras y entregar resultados diariamente al Ministerio de Salud para pensar en forma dinámica la carga de sujetos infectados en la población.

Desde el punto de vista de los laboratorios que hoy enfrentan esta importante responsabilidad, me parece importante destacar algunas realidades que se han hecho patentes asociadas a: la infraestructura o planta física disponible, los equipos a utilizar, la disponibilidad de personal entrenado tanto en técnicas moleculares como prácticas de bioseguridad, y un elemento crítico como es el suministro de reactivos para el RT-PCR y los insumos asociados a su realización, los primeros prácticamente todos dependientes de importación. Sumado a esto la necesidad de

validación repetida de la técnica ante el cambio de reactivos de cualquiera de las fases del PCR.

En infraestructura es probable que ningún laboratorio haya imaginado que todo metraje podía llegar a ser insuficiente para equipos, personal y material de reserva, que los equipos básicos como refrigeradores y freezers se llenaron a poco andar y que los equipos como termocicladores y extractores automáticos, cuando los había, se hicieron rápidamente insuficientes para la magnitud de la cantidad de muestras que llegan hasta hoy a los laboratorios.

En este aspecto es importante señalar que la centralización de nuestro quehacer en diagnóstico virológico se hizo sentir fuertemente en regiones, donde pese a haber vivido la experiencia e implementación de laboratorios de biología molecular durante la pandemia de influenza A H1N1 en el 2009, no dieron a vasto o no se encontraban completamente provistos para responder a la demanda. Magallanes y Antofagasta en ambos extremos del país son dos ejemplos que han salido adelante con apoyo estatal y de las universidades locales.

Sin duda la mejor inversión para nuestro quehacer de diagnóstico virológico es la educación y capacitación continua de nuestros profesionales y técnicos, todos ellos se han visto enfrentados a la necesidad de reentrenamiento para extremar las medidas de bioseguridad, tanto para la toma de muestras como para el manejo de ellas en el laboratorio. Asimismo, han tenido que ser flexibles y competentes en la validación de reactivos, muestras y medios de transporte que puedan incidir en un resultado correcto.

## **Aporte de la virología molecular al diagnóstico**

El rol de los laboratorios de diagnóstico es, sin duda, fundamental en la confirmación del eslabón inicial de la cadena epidemiológica, este paso permite el aislamiento y cuidado del caso y la pesquisa de sus contactos con el fin de interrumpir la diseminación del virus. El recurso técnico hasta ahora utilizado es la técnica de rRT-PCR para SARS CoV-2 que tiene más de un blanco de amplificación, ARN polimerasa (RdRp), genes de la nucleoproteínas (N1, N2), y envoltura (E), todos incluidos en los diversos ensayos disponibles en el mercado.

Las muestras hasta ahora aceptadas para su procesamiento son las células de la nasofaringe donde ocurre una activa replicación en la etapa inicial de la infección, o del tracto respiratorio inferior, como el lavado bronco alveolar o aspirado traqueo bronquial tomado en pacientes intubados durante la segunda semana de evolución cuando ocurren las complicaciones respiratorias y sistémicas. Otras muestras como el esputo y el hisopado orofaríngeo también son válidas. La muestra de saliva, con la ventaja de una fácil obtención, incluso a través de una auto toma, no ha sido aún introducida en nuestra rutina diagnóstica, si bien hay estudios que apoyan su uso en la detección de casos

con una buena sensibilidad y especificidad. Hasta ahora, se encuentra aún pendiente una validación local que refuerce su uso primario o alternativo en ausencia de materiales para la toma de muestra por hisopado nasofaríngeo.

Hoy, le damos mucho valor a los resultados de la PCR en forma individual y colectiva ya que en base a estos se han tomado decisiones clínicas y epidemiológicas y, sus variaciones han permitido monitorear el efecto de estas decisiones sobre el comportamiento de la pandemia a lo largo de nuestro país. Es destacable que, si bien los valores de sensibilidad analítica de los ensayos son muy buenos, en la rutina diagnóstica su rendimiento (sensibilidad y especificidad) varía fundamentalmente en función de la calidad de la muestra y la temporalidad en que se obtiene ésta.

Esta información es importante de considerar para obtener los mejores resultados, por ejemplo, entrenando y reforzando al personal que toma las muestras y, al momento de interpretar los resultados considerar el número de días de síntomas caso a caso. Se estima que los primeros 7 días de evolución post inicio de síntomas se alcanza la carga viral más alta en la región posterior de la nasofaringe y saliva. Desde ese momento la carga tiende a caer y, su negatividad no descarta el diagnóstico si la definición de caso sospechoso se cumple o es un contacto de caso positivo o el paciente tiene un scanner compatible con Covid-19.

Los ensayos moleculares no tienen hoy una modalidad cuantitativa sino, en forma indirecta semi-cuantitativa, expresada en el valor numérico del ciclo umbral de detección de amplificación (CT), los rangos más frecuentemente detectados van desde el 14 al 38, de tal manera que un CT bajo expresa una alta carga viral mientras que un CT alto una carga viral menor. Esta información no se entrega de rutina en el informe, sin embargo, podría ser de utilidad para establecer el nivel de contagiosidad del sujeto junto con los días de evolución de la sintomatología. En una publicación reciente se logró correlacionar falta de infectividad con CT  $\geq 24$  y más de 8 días de síntomas.

Aspectos que aún no quedan completamente resueltos en términos prácticos se asocian al uso de RT-PCR en forma ampliada hacia poblaciones asintomáticas, también es deseable tener tiempos más cortos de respuesta y descentralizar los laboratorios para asegurar un acceso mas universal de toda la población. En un futuro no muy lejano tendremos que vigilar de cerca las posibles mutaciones que puedan surgir en el virus y, que nos van a repercutir en un diagnóstico de laboratorio insuficiente, situación que recordamos en las primeras semanas de la pandemia de influenza A H1N1.

Finalmente, la comunicación hoy alcanzada entre los Ministerios de Ciencia y de Salud debe perdurar y sinergizar sus fortalezas, un objetivo común pudiera ser la producción nacional de reactivos e insumos esenciales para el trabajo en esta área de la virología molecular.

## Otras alternativas de diagnóstico virológico que nos ayuden a monitorear la pandemia y la post-pandemia

Hasta ahora hemos alcanzado un buen manejo de los ensayos virológicos moleculares en la interpretación de resultados e implementación de conductas, sin embargo, la mirada al futuro cercano implica plantearse como nos pueden ayudar otros recursos diagnósticos como las técnicas serológicas y las de detección de antígenos de SARS CoV-2. Necesitamos un recurso rápido, exacto, de costo razonable y de fácil realización, con ello se facilitará la pesquisa de casos y permitirá ampliar la evaluación de poblaciones infectadas y susceptibles al virus.

Hasta ahora ha existido reticencia a implementar su uso rutinario ya que, por un lado falta más información del comportamiento de la respuesta inmunológica de las distintas poblaciones que se han ido infectando y han surgido dudas, tales como, la duración de los anticuerpos, la interpretación de su hallazgo y el concepto de inmunidad protectora. Por otro lado la producción de mejores ensayos recién está empezando a llegar hasta nuestro país estando pendiente sus validaciones para que las usemos con confianza y seguridad.

Hasta ahora sabemos que es posible detectar IgG, IgM e IgA anti SARS Cov-2 y que la respuesta inmune es pequisable, por una técnica muy sensible, más allá de los 7 a 14 días post exposición, por lo tanto como herramienta de diagnóstico en infección aguda no son útiles. Donde hemos identificado fortalezas, tanto con los ensayos rápidos y en particular con los ensayos de ELISA, es en la identificación de sujetos IgG positivos convalescientes de COVID 19 y candidatos a ser donantes de plasma y, en la identificación de susceptibles por su IgG anti- SARS CoV-2 negativa. La duración de la respuesta inmune se encuentra en plena evaluación y la gran intriga es la interpretación de su calidad protectora, esta respuesta esperamos sea contestada cuando las poblaciones que ya cursaron por nuestro actual “primer ciclo de infección”, se enfrenten a una su “segunda ola de circulación viral” o a rebrotes localizados.

Los ensayos de detección de antígenos son altamente deseables ya que con ellos existe vasta práctica en el diagnóstico y manejo de las infecciones virales “tradicionales”.

Sin duda, todos quienes trabajamos en diagnóstico esperamos que a la brevedad podamos contar con recursos diagnósticos accesibles y útiles para el bienestar de nuestros pacientes.

Informe epidemiológico N 17 del 18 de junio del 2020. Epidemiología MINSAL, Chile

Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples [published online ahead of print, 2020 May 22]. *Clin Infect Dis.* 2020;ciaa638. doi:10.1093/cid/ciaa638

Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of Diagnostic Testing for SARS-CoV-2/COVID-19

Robin Patel, Esther Babady, Elitza S. Theel, Gregory A. Storch, Benjamin A. Pinsky, Kirsten St. George, Tara C. Smith, Stefano Bertuzzi

*mBio* Mar 2020, 11 (2) e00722-20; DOI: 10.1128/mBio.00722-20

Mitchell SL, St George K, Rhoads DD, et al. Understanding, verifying and implementing Emergency Use Authorization molecular diagnostics for the detection of SARS-CoV-2 RNA [published online ahead of print, 2020 May 7]. *J Clin Microbiol.* 2020;JCM.00796-20. doi:10.1128/JCM.00796-20

Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs

Anne Louise Wyllie, John Fournier, Arnau Casanovas-Massana, Melissa Campbell, Maria Tokuyama, Pavithra Vijayakumar, Bertie Geng, M. Catherine Muenker, Adam J. Moore, Nathan D. Grubaugh, Albert I. Ko

medRxiv 2020.04.16.20067835; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.16.20067835>