

Precisión diagnóstica práctica de las pruebas con hisopado nasofaríngeo para la enfermedad del nuevo coronavirus 2019 (COVID-19)

Ravindra Gopaul, MD, MBA, MPH, Joshua Davis, MD, Linda Gangai, MSN, RN, CPHQ, Lianna Goetz, MD

Western Journal of Emergency Medicine, DOI [10.5811/westjem.2020.8.48420](https://doi.org/10.5811/westjem.2020.8.48420), noviembre, 2020.

Introducción: El nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) es la causa del COVID-19, el que ha tenido un impacto internacional devastador. Los informes anteriores de las pruebas han reportado sensibilidades bajas de las PCR de hisopados nasofaríngeos, y los informes de coinfecciones virales han variado desde 0-20%. Por lo tanto, buscamos determinar la precisión de la PCR nasofaríngea para COVID-19 y las tasas de coinfección viral.

Métodos: Realizamos una revisión retrospectiva de la historia de todos los pacientes que se realizaron pruebas virales entre el 1 de marzo de 2020 al 28 de abril de 2020. Se resumieron los resultados completos de las pruebas de un panel completo de patógenos virales y de las pruebas de COVID-19. Comparamos a los pacientes con más de una prueba de COVID-19 en precisión diagnóstica contra el estándar de oro de la revisión de gráficos.

Resultados: Identificamos 1950 pacientes, de los cuales 1024 fueron evaluados para COVID-19. Hubo 221 pruebas repetidas de COVID-19. Entre los pacientes con una prueba repetida, los hisopados de COVID-19 tuvieron una sensibilidad del 84,6% (Intervalo de confianza (IC) del 95%, 69,5-94,4%) y una especificidad del 99,5% (IC del 95%, 97-100%) en comparación con una referencia de criterios clínicos y radiográficos, mediante la revisión de los archivos. Encontramos tasas de coinfección viral del 2,3% en pacientes sin COVID-19 y 6,1% en pacientes con COVID-19. Las tasas de coinfección parecieron estar relacionado con las tasas básicas de infección en la comunidad, y no una propiedad específica de COVID-19.

Conclusión: las muestras de PCR nasofaríngeas de COVID-19 son precisas, pero tienen una sensibilidad imperfecta. Debe considerarse la repetición de la prueba en los pacientes de alto riesgo, y que la presencia de un virus alternativo, no debe usarse para limitar las pruebas de COVID-19, en pacientes en los que esto puede afectar el tratamiento o el aislamiento.

INTRODUCCIÓN

Muchos pacientes con enfermedad del nuevo coronavirus 2019 (COVID-19) serán asintomáticos¹; sin embargo, un pequeño porcentaje de los pacientes se enfermarán gravemente y requerirán hospitalización. Las estimaciones de mortalidad general del COVID-19 varían debido al acceso variable a pruebas sistemáticas, pero los más graves, que requieren intubación, tienen un alto riesgo de muerte.^{2,3} La prueba inicial más utilizada es la PCR de un hisopado nasofaríngeo, aunque las pruebas de anticuerpos se han vuelto disponibles. La PCR se usa también ampliamente para detectar otras enfermedades virales. Las limitaciones de la prueba de PCR para COVID-19 incluyen el riesgo desconocido de transmisión de pacientes con

PCR positiva, e informes anecdóticos de falta de sensibilidad.⁴ Los informes iniciales de China cuestionaron la sensibilidad de la PCR para COVID-19 y la informaron tan baja como 71%, especialmente en las primeras etapas de la enfermedad.⁵ Además, las pruebas de PCR buscan la presencia de ARN viral, que puede o no transmitir una infección.

La falta de disponibilidad de pruebas generalizadas para COVID-19 ha sido un tema controvertido. Un método propuesto para asignar inicialmente los escasos recursos de prueba fue cancelar las pruebas para COVID-19 en un paciente si se detectaba otro virus. Esto era debido a informes iniciales de una tasa de coinfección de 0 a 4% con influenza y COVID-19.^{6,7} Sin embargo, desde entonces los reportes de coinfección han informado tasas de hasta el 20%.⁸ Por lo tanto, buscamos examinar nuestros datos de las pruebas virales para la precisión diagnóstica, en pacientes sometidos a prueba más de una vez para COVID-19, así como la tasa de coinfecciones virales en los pacientes sometidos a una prueba de COVID-19.

MÉTODOS

Realizamos una revisión retrospectiva de todos los pacientes que tenían pruebas virales desde del 1 de marzo de 2020 hasta el 28 de abril de 2020, en nuestro centro médico académico terciario en el centro de Pensilvania. Este estudio fue aprobado por la junta de revisión institucional de Centro médico Milton S. Hershey, de Penn State. Identificamos gráficos usando el orden específico para las pruebas del panel de patógenos virales respiratorios, y este se utilizó uniformemente para obtener pruebas para todos los pacientes hasta abril 25 de 2020. Se incluyeron adultos y niños.

La disponibilidad y políticas con respecto a las pruebas de COVID-19 en nuestro hospital han cambiado a menudo durante el período de estudio. Las pruebas que estaban disponibles fueron de cuatro fuentes diferentes: ARUP Laboratories (Salt Lake City, UT), Quest Diagnostics (Secaucus, Nueva Jersey), Departamento de Salud de Pensilvania (Harrisburg, PA) y pruebas de nuestro laboratorio clínico (Hershey, PA). Durante todo el período de tiempo, las recomendaciones del hospital fueron que todos los pacientes tengan una prueba de PCR viral tradicional con una prueba de COVID-19. Hacia 14 de marzo, los resultados del panel viral se utilizaron para determinar si o no se enviaba una prueba de COVID-19. Todos los pacientes de este análisis tenían ambas pruebas enviadas.

Las pruebas de PCR para COVID-19, aprobadas bajo la autorización de uso de emergencia de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), fueron dirigidas contra dos regiones diferentes del genoma del SARS-CoV-2, los genes ORF1ab y S (Simplexa, Focus Diagnostics, DiaSorin Group, LLC, Cypress, CA). Un control interno de ARN se utiliza para detectar fallas o inhibiciones de la PCR. Se realizaron pruebas de PCR múltiples para patógenos virales respiratorios: influenza A y B, virus respiratorio sincitial, parainfluenza (tipos 1, 2, 3 y 4), adenovirus, coronavirus, metaneumovirus humano, rinovirus/enterovirus y patógenos causantes de neumonías bacterianas atípicas (*Bordetella pertussis* y *parapertussis*, neumonía por *Chlamydia* y *Mycoplasma pneumoniae*).

Los datos que se tuvieron en cuenta incluyeron edad y sexo de los pacientes, los resultados del panel viral respiratorio (RVP), y fecha de la prueba. Un solo autor resumió los con preguntas verificadas por otros dos autores.

La fecha de la prueba fue la fecha de la prueba de RVP inicial y la positividad fue determinada por el informe de laboratorio. Todos los pacientes que tuvieron pruebas que se repitieron durante el período de estudio se incluyeron en este análisis. Registramos los días entre cada prueba. Los resultados concordantes fueron considerado exactos. Usando el historial documentado y todos los resultados de las pruebas, incluidos laboratorios e imágenes, dos médicos independientes miembros del equipo de estudio, no cegados, llevaron a cabo revisiones en profundidad de las de historias clínicas de los pacientes con resultados discordantes, para determinar el verdadero diagnóstico en el momento de cada prueba. Utilizamos la definición de caso clínico para determinar la positividad para COVID-19, cuando una prueba negativa era negativa, utilizada por nuestro hospital en ese momento, que incluía cualquiera de los siguientes:

1. Cualquier nueva dificultad para respirar o hipoxemia sin otra causa convincente;
2. Tomografía computarizada (TC) o hallazgos radiográficos informados como consistente con COVID-19;
3. fiebre, tos o diarrea con cualquier infiltrado nuevo en la TC o radiografía que no tenga otra causa;
4. fiebre, tos o diarrea con una exposición conocida a un paciente con COVID-19 positivo o viajes de alto riesgo.

El período de tiempo entre las pruebas también se consideró para determinar la positividad. Por lo tanto, las pruebas discordantes podrían haberse determinado como precisas en el momento de la prueba si había una demora de más de un día entre las pruebas y el paciente el curso clínico o los síntomas habían cambiado. Habíamos planeado utilizar un tercer miembro del equipo para resolver cualquier discrepancia durante la revisión del gráfico, pero no se encontró ninguna. Los pacientes que tenían los resultados discordantes también registraron síntomas. Analizamos a los pacientes que tenían otras infecciones virales, con y sin COVID-19. Dada una disponibilidad más rápida de las pruebas de RVP, los resultados de aquellos con pruebas conjuntas de COVID-19 solo se analizaron si la prueba de RVP era positiva.

Análisis

Gestionamos los datos en Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA). Reportamos precisión diagnóstica utilizando la definición estándar, y las tasas informadas de coinfección como porcentajes.

RESULTADOS

Nuestra revisión de expedientes identificó 1950 pacientes, de los cuales 1024 (52,5%) fueron testeados para COVID-19. El resto fueron testeados para otros patógenos virales, pero para no COVID-19. Nuestros datos van desde principios de marzo, cuando los testeos de rutina para COVID-19 no habían comenzado a identificar todos los casos. En la muestra, 53,3% (n = 1039) eran mujeres y la edad media era de 43,7 años (desviación estándar \pm 26,2 años, rango de 1 mes a 98 años). 168 pacientes fueron evaluados para COVID-19 más de una vez, con un total de 221 pruebas. 148 pacientes con RVP positivos se testearon también para COVID-19. De los 1024 pacientes evaluados para COVID-19, el 10,9% (n = 111) dieron positivo.

De las 221 pruebas repetidas para COVID-19, 181 (81,9%) fueron verdaderos negativos, 33 (14,9%) fueron verdaderos positivos, seis (2,7%) fueron falsos negativos y uno (0,5%) fue un falso positivo (**tabla**). En esto se incluyeron dos pruebas no concluyentes, que se resultaron ser positivas. Esto incluye el único resultado falso positivo, que se informó inicialmente como positivo en un paciente ventilado, varón de 12 meses hospitalizado desde su nacimiento. Encima los siguientes tres días, se enviaron cuatro pruebas repetidas, y todas se resultaron ser negativas. De los pacientes con falsos negativos, los síntomas estuvieron presentes un día, dos días, cuatro días, siete días y dos semanas, respectivamente. Ningún paciente que tuvo más de dos pruebas, tuvo un cambio en los resultados de negativo a positivo. Un paciente tuvo un máximo de seis pruebas, todas negativas.

La tasa de paneles virales positivos y pruebas COVID-19 en el tiempo se presenta en la **Figura**. De los 1950 pacientes, 44 (2,3%) tenía una infección no COVID-19, más comúnmente rinovirus o enterovirus. De los 148 pacientes evaluados conjuntamente para COVID-19 y otros patógenos virales / atípicos, el 6,1% (n = 9) tuvo una coinfección con COVID-19 (**Figura**), incluidos dos pacientes con ambos coronavirus COVID-19 y no COVID-19 y dos pacientes con tres infecciones simultáneas.

Tabla. Precisión diagnóstica de la PCR de hisopado nasofaríngeo para COVID-19 (n = 221), en comparación con los criterios clínicos y radiográficos de referencia. Prevalencia de la enfermedad en la población de 17,6%.

Test	Value	95% confidence interval
Sensitivity	84.6%	69.5% to 94.4%
Specificity	99.5%	97.0% to 100%
Positive predictive value	97.1%	82.3% to 99.6%
Negative predictive value	96.8%	93.5% to 98.4%
Positive likelihood ratio	154.0	21.7 to 1092.4
Negative likelihood ratio	0.15	0.07 to 0.32
Diagnostic accuracy	96.8%	93.6% to 98.7%

COVID-19, novel coronavirus disease 2019; PCR, polymerase chain reaction.

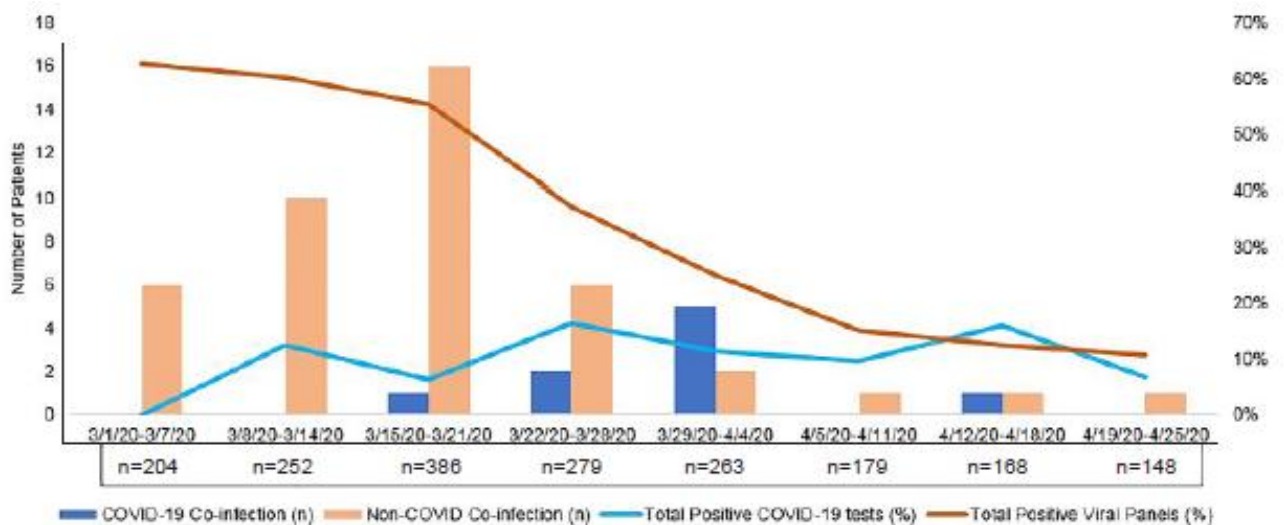


Figure. Number of viral co-infections versus viral positivity rates. COVID-19, novel coronavirus disease 2019.

DISCUSIÓN

Este estudio confirma que la prueba de PCR para COVID-19 es altamente confiable cuando es positiva; sin embargo, hay algunos resultados negativos, en su mayoría agrupados al principio del curso de la enfermedad.

Esto es importante porque las pruebas se utilizan para aliviar las restricciones de los pacientes y el público. En pacientes altamente sospechosos, la repetición de la prueba en 24- 48 horas pueden ser útiles. Sin embargo, según nuestra muestra, repetir una prueba más allá de 2 veces, es de utilidad limitada (2 pruebas en total). Esto será relevante para pacientes que trabajan con el público, viven con pacientes en riesgo, y trabajadores de la salud.

Hay varios mecanismos potenciales para imperfecciones en la sensibilidad. La primera es una propiedad inherente de la prueba, ya que ejemplo, el primer utilizado. Chan y colegas informan que el ensayo de COVID-19- RdRp / HeI fue positivo en el 44% de los pacientes, mientras que el ensayo RdRp-P2 solo fue positivo en el 28% de los pacientes. La segunda posibilidad es que se haya obtenido una muestra inadecuada. Los hisopos nasofaríngeos deben insertarse profundamente y sostenerse 10-30 segundos, para recolectar una cantidad adecuada de ARN viral.

Nuestro personal de enfermería está altamente capacitado en la recolección de hisopados, y tener un "equipo de hisopados", para mejorar aún más la toma de muestras. Es imperativo que los pacientes no obtengan sus propias muestras (por ejemplo, en pruebas a conductores), ya que esto aumenta la probabilidad de tener una muestra inadecuada. Es sabido que los coronavirus mutan rápidamente, y se propone que estas mutaciones genéticas pueden alterar las características de la prueba de la PCR.¹⁰ También puede deberse al hecho de que un hisopado nasofaríngeo no es el tipo de muestra adecuado. Por ejemplo, un lavado broncoalveolar fue la única muestra positiva en un paciente críticamente enfermo que inicialmente dio positivo para influenza y negativo para COVID-19 vía PCR nasofaríngea.¹¹ En un análisis más amplio, las muestras de lavado broncoalveolar y esputo superan a las muestras de nasofaringe y oral.¹² Además, una prueba de PCR salival también fue aprobada por la FDA y ha demostrado una mayor sensibilidad que las muestras nasofaríngeas.¹³ La explicación final potencial, que nuestros datos apoyan, es que una carga viral lo suficientemente significativa no está presente para ser identificada en los pacientes al principio del curso de la enfermedad.

Encontramos un mayor número de coinfecciones virales con COVID-19 que las reportados temprano en China,^{6,7} pero mucho menos que los reportados de Stanford.⁸ El análisis de nuestros datos en el tiempo (**Figura**) muestra que la coinfección viral es más un producto de probabilidad estadística que de fisiología, y que una infección viral alternativa no parece ser protectora contra COVID-19.

LIMITACIONES

Nuestro estudio fue limitado por su diseño retrospectivo y por el tamaño de la muestra. Además, las pruebas sistemáticas habrían sido más científicamente riguroso, pero no eran práctico debido a las limitaciones de los recursos de pruebas clínicas. Los pacientes de alto riesgo fueron en su mayoría reexaminados cuando fueron negativo, lo que podría haber llevado a subestimar nuestra tasa de falsos negativos. La repetición de la prueba se realizó con menos frecuencia para las muestras positivas, lo que también podría haber introducido sesgos.

La especificidad podría haber sido menor si se hubieran vuelto a analizar a más pacientes positivos.

No obstante, biológicamente, los primers de PCR utilizados para COVID-19, se creen que son muy específicos.¹⁴ Finalmente, debido a que no existe actualmente un estándar de oro para el diagnóstico de COVID-19, se optó por incorporar pruebas de PCR y revisión de gráficos. Esta decisión introdujo un sesgo de incorporación para usar la prueba en cuestión como parte del patrón de referencia, aunque era esencialmente inevitable para esta situación.

CONCLUSIÓN

Las muestras de PCR de hisopados nasofaríngeos para COVID-19 parecen ser altamente precisas, pero a partir de nuestros datos, tienen una sensibilidad de sólo el 84,6%. Se debe considerar repetir la prueba para pacientes de alto riesgo, o se debe suponer que son positivos sin realizar una nueva prueba. No se debe utilizar la presencia de un virus alternativo para limitar las pruebas de COVID-19 para pacientes en los que esto afectaría tratamiento o aislamiento.

REFERENCIAS

1. National Institute of Infectious Diseases. Field Briefing: Diamond Princess COVID-19 Cases, 20 Feb Update. 2020. Available at: <https://www.niid.go.jp/niid/en/2019-ncov-e/9417-covid-dp-fe-02.html>. Accessed May 15, 2020.
2. Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, et al. Covid-19 in critically ill patients in the Seattle region: case series. *New Engl J Med*. 2020;382:2012-22.
3. Namendys-Silva SA. Respiratory support for patients with COVID-19 infection. *Lancet Respir Med*. 2020;8(4):E18.
4. Wikramaratna P, Paton RS, Ghafari M, Lourenco J. Estimating false -negative detection rate of SARS-CoV-2 by RT-PCR *medRxiv*. 2020. In Press.
5. Fang Y, Zhang H, Xie J, et al. Sensitivity of chest CT for COVID-19: comparison to RT-PCR. *Radiology*. 2020;296(2):E115-7.
6. Chen N, Zhou M, Dong X , et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507-13.
7. Ding Q, Lu P, Fan Y, et al. The clinical characteristics of pneumonia patients coinfecting with 2019 novel coronavirus and influenza virus in Wuhan, China. *J Med Virol*. 2020;92(9):1549-55.
8. Kim D, Quinn J, Pinsky B, et al. Rates of co-infection between SARS-CoV-2 and other respiratory pathogens. *JAMA*. 2020;323(20):2085-6.
9. Chan JF-W, Yip CC-Y, To KK-W, et al. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19- RdRp/He1 real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay validated in vitro and with clinical specimens. *J Clin Microbiol*. 2020; 58(5):e00310-20.
10. Li C, Debruyne DN, Spencer J, et al. High sensitivity detection of coronavirus SARS-CoV-2 using multiplex PCR and a multiplex-PCR-based metagenomic method. *medRxiv*. 2020. In Press.

11. Wu X, Cai Y, Huang X, et al. Co-infection with SARS-CoV-2 and influenza A virus in patient with pneumonia, China *Emerg Infect Dis*. 2020;26(6):1324-6.
12. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA*. 2020;323(18):1843-4.
13. Wylie AL, Fournier J, Casanovas-Massana A, et al. Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs. *medRxiv*. 2020. In Press.
14. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, et al. Diagnostic testing for severe acute respiratory syndrome–related coronavirus-2: a narrative review. *Ann Intern Med*. 2020;172(11):726-73.