Evaluación de los resultados de la prueba de ARN del SARS-CoV-2 entre los pacientes que se recuperaron del COVID-19, con resultados negativos previos

Flora Marzia Liotti, PhD, Giulia Menchinelli, PhD, Simona Marchetti, BSc, Brunella Posteraro, PhD, Francesco Landi, MD, Maurizio Sanguinetti, MD, Paola Cattani, MD.

Dipartimento di Scienze Biotecnologiche di Base, Cliniche Intensivologiche e Perioperatorie, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy (Liotti, Menchinelli, Posteraro, Sanguinetti, Cattani), Dipartimento di Scienze di Laboratorioe Infettivologiche, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Rome, Italy (Liotti, Menchinelli, Sanguinetti, Cattani), Dipartimento di Scienze Medichee Chirurgiche, Fondazione Policlinico Universitario, A. Gemelli IRCCS,Rome, Italy (Posteraro), Dipartimento di Scienze dell'Invecchiamento, Neurologiche, OrtopedicheedellaTesta-Collo,Fondazione Policlinico Universitario A.Gemelli IRCCS, Rome, Italy (Landi).

JAMA, doi:10.1001/jamainternmed.2020.7570, 12 de noviembre, 2020.

Algunos pacientes que se han recuperado del COVID-19 con RT-PCR negativa documentada en el momento de la recuperación, han dado resultados positivos posteriores en la prueba de RT-PCR para el SARS-CoV-2,[1,2] en ausencia de cualquier síntoma que sugiera una nueva infección.[3] Se desconoce si estos pacientes son infecciosos, o si estos deben estar en cuarentena. La RT-PCR no es un cultivo viral y no permite determinar si el virus es viable y transmisible. Investigamos las RT-PCR nuevamente positivas de hisopados nasales y orofaríngeos de pacientes recuperados de COVID-19, con resultados negativos para la presencia de ARN SARS-CoV-2 replicativo.[4]

Métodos | Estudiamos 176 pacientes recuperados con COVID-19 que ingresaron en el servicio ambulatorio de post-agudos de nuestra institución (Roma, Italia), del 21 de abril al 18 de junio de 2020, para seguimiento de COVID-19.[5,6] Antes de eso, los pacientes habían interrumpido el aislamiento según los criterios actuales,[5] que requieren no tener fiebre durante 3 días, mejoría en otros síntomas y resultados de negativos RT-PCR para ARN del SARS-CoV-2, con 24 horas de diferencia.

Se analizaron muestras de hisopados nasales y orofaríngeos de pacientes en seguimiento para ARN total (genómico) y replicativo (subgenómico) del SARS-CoV-2, mediante pruebas de RT-PCR (**Métodos electrónicos** en el Suplemento). Para pacientes con resultados positivos para el ARN total, las muestras obtenidas previamente en el momento del diagnóstico de COVID-19, y mantenidas a −112 ° F, también fueron testeadas para ARN replicativo. Se realizaron pruebas serológicas para detección de IgG / IgA de SARS-CoV-2 (en el Suplemento de Métodos). El Comité de Ética de la Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS (Roma, Italia) aprobó el estudio y redactó el consentimiento informado que se obtuvo de cada paciente.

Resultados | Como se muestra en la tabla,[4] 32 de 176 muestras de hisopados nasales y orofaríngeos (18,2%) dieron positivo para ARN de SARS-CoV-2 total, con cargas virales que oscilan entre $1,6 \times 10^1$ a $1,3 \times 10^4$ copias por mL, de ARN de SARS-CoV-2. Una de las 32 muestras (3,1%), tenía ARN del SARS-CoV-2 replicativo. Las muestras de los 32 pacientes, en el momento del diagnóstico de COVID-19, también se testearon y, como era de esperar, tenían ARN de SARS-CoV-2 replicativo. Todos menos uno de los 32 pacientes, tuvieron un resultado positivo de serología de SARS-CoV-2 (**tabla**),

así como 139 de los 144 pacientes restantes (datos mostrados), en el seguimiento de COVID-19. El paciente que fue serológicamente negativo no fue el que tuvo un resultado positivo para el ARN replicativo del SARS-CoV-2. El tiempo medio (DE) desde el diagnóstico de COVID-19 al seguimiento fue de 48,6 (13,1) días en 32 pacientes (**Tabla**) y 57,7 (16,9) días en 144 pacientes (datos no mostrados).

Tabla. Resultados de las pruebas para las muestras de hisopados nasales y orofaríngeos obtenidas en el diagnóstico de COVID-19 o después de la recuperación de COVID-19 en 32 pacientes del estudio[a]

Sample	COVID-19 samples tested											Days of recovery sampling since diagnosis
	Diagnosis				Recovery							
	Genomic RNA (C_T value)			Subgenomic RNA (C_T value)	Genomic RNA (C_T value)			Subgenomic (C_T value)	RNA load, copies/mL	Serology (positive or negative result)		
Sample No.	*E* gene	*RdRP* gene	*N* gene	*E* gene	*E* gene	*RdRP* gene	*N* gene	*E* gene	*N* gene	IgG	IgA	
1	31.6	31.3	31.2	34.5	29.3	30.7	31.2	39.1	1.2×10^4	Positive	Positive	39
2	27.0	26.9	30.0	36.0	30.0	30.5	31.2		8.9×10^3	Positive	Positive	31
3	19.3	20.8	22.1	35.2	31.5	34.7	32.8		3.3×10^3	Positive	Negative	44
4	21.6	22.0	22.9	36.4	31.8	31.4	32.3		5.5×10^3	Positive	Positive	34
5	30.0	32.8	38.1	30.2	31.8	34.3	34.5		3.2×10^3	Positive	Positive	62
6	20.8	20.9	22.3	37.3	32.2	32.8	34.1		5.3×10^3	Positive	Positive	37
7	27.3	29.9	31.3	36.9	32.3	30.9	32.7		6.4×10^3	Positive	Positive	39
8	26.9	27.0	31.2	38.1	35.0	34.4	36.1		4.0×10^2	Positive	Positive	71
9	22.5	23.7	24.9	31.0	38.8	33.6	33.9		2.6×10^3	Negative	Negative	42
10	21.3	21.4	28.9	38.9		32.2	33.4		1.2×10^4	Positive	Positive	56
11	26.6	26.9	28.1	33.0		32.8	33.2		1.3×10^4	Positive	Positive	54
12	22.8	24.2	25.3	31.0		34.2	33.7		6.9×10^3	Positive	Positive	55
13	25.8	25.8	26.1	39.8	NA	34.8	39.1		3.0×10^2	Positive	Positive	36
14	20.8	20.4	21.1	32.0		35.0	35.1		1.9×10^3	Positive	Positive	56
15	29.4	30.1	32.2	37.0		36.5	39.2		3.2×10^3	Positive	Positive	36
16	27.9	29.1	31.1	32.0		38.1	39.3		1.6×10^1	Positive	Positive	77
17	30.6	29.9	31.8	32.1			35.7	NA	5.4×10^3	Positive	Positive	53
18	28.5	29.1	30.8	36.8			36.8		2.9×10^3	Positive	Positive	43
19	26.9	22.2	26.1	30.1			37.5		1.1×10^3	Positive	Positive	36
20	25.7	25.2	28.9	38.0			37.9		2.6×10^3	Positive	Positive	48
21	27.0	29.0	30.2	32.3			38.1		1.9×10^3	Positive	Positive	41
22	28.5	29.4	30.0	32.3			38.4		4.9×10^1	Positive	Negative	76
23	27.1	28.6	29.3	36.1			38.9		4.5×10^2	Positive	Positive	29
24	25.4	22.9	24.1	34.8			39.0		5.6×10^1	Positive	Positive	70
25	28.7	29.5	31.4	37.3	NA		39.1		5.4×10^3	Negative	Positive	46
26	27.1	27.7	29.2	37.1			39.1		1.9×10^3	Positive	Positive	34
27	26.7	27.7	29.6	39.2			39.2		2.0×10^3	Positive	Positive	45
28	17.1	19.1	19.9	33.0			39.2		8.5×10^2	Positive	Positive	40
29	27.0	28.9	30.0	32.1			39.3		5.0×10^1	Positive	Positive	56
30	22.9	23.8	25.8	37.1			39.4		1.6×10^2	Positive	Positive	55
31	28.6	30.4	30.9	33.0			39.6		5.3×10^2	Positive	Positive	61
32	29.1	28.0	30.9	36.2			39.8		3.4×10^2	Positive	Positive	53

Abbreviations: COVID-19, coronavirus disease 2019; C_T, cycle threshold; *E* gene, envelope gene; NA, not applicable; *N* gene, nucleocapsid gene; *RdRP*, RNA-dependent RNA polymerase; RT-PCR, real-time polymerase chain reaction.

Para las pruebas de RT-PCR, se utilizaron los ensayos Seegene Allplex 2019-nCoV y Clonit Quanty COVID-19 para la detección y cuantificación de ARN total, respectivamente, mientras que se detectó ARN replicativo (gen E) mediante un ensayo interno de RT-PCR.[4] Los resultados se expresaron como valores de C_t (<40 para detección positiva) o se cuantificaron como copias de ARN (gen N) por mL. NA indica la ausencia de detección positiva para el gen indicado. Para las pruebas serológicas, se realizaron inmunoensayos enzimáticos de SARS-CoV-2 IgG/ IgA Euroimmun, y los resultados positivos y negativos se evaluaron utilizando 1,1 o más o menos de 1,1 veces los límites del fabricante, como valores de referencia de IgG/ IgA, respectivamente.

Discusión | Similar a lo reportado en otra parte,[2] el 18% de los pacientes con COVID-19 en nuestra institución tuvieron una RT-PCR positiva para ARN de SARS-CoV-2 después de la recuperación clínica, con un resultado negativo previo.[5] Como una positividad en los pacientes es sugestiva, pero no necesariamente un reflejo, del transporte viral, utilizamos la detección de ARN de SARS-CoV-2 replicativo como una representación de de la replicación del virus en cultivo.[4]

Solo 1 de 32 pacientes que volvieron a dar positivo, tenían virus en replicación en la muestra de hisopado nasal o de orofaringe, lo que sugiere una infección recurrente o reinfección, lo que es imposible de separar, porque no se realizaron análisis de secuenciación genómica completa ni análisis filogenético.[3]

El paciente que volvió a dar positivo 16 días después de la recuperación de COVID-19 (es decir, 39 días desde el diagnóstico de COVID-19) fue sintomático. El paciente era un adulto mayor con hipertensión, diabetes, y enfermedades cardiovasculares, pero sin evidencia de contactos cercanos con personas con infección por SARS-CoV-2 o personas que con RT-PCR positiva. En los 31 pacientes restantes (que eran asintomáticos), su resultado positivo probablemente represente ya sea infección recurrente o en resolución, pero en cualquier caso, era poco probable que sea infeccioso. Las limitaciones de nuestro estudio son la falta de datos a partir de cultivos virales o análisis de secuenciación del genoma completo y el pequeño tamaño de la muestra.

Conclusiones | Este estudio destaca que muchos pacientes que se recuperaron de COVID-19 pueden seguir siendo positivos (aunque en un nivel más bajo) para el ARN del SARS-CoV-2, pero solo una minoría de los pacientes pueden portar un SARS-CoV-2 replicante en las vías respiratorias. Se necesitan más estudios para verificar si estos pacientes pueden transmitir el virus.

REFERENCIAS

1. Lan L, Xu D, Ye G, et al. Positive RT-PCR test results in patients recovered from COVID-19. *JAMA*. 2020;323(15):1502-1503. doi:10.1001/jama.2020.2783

2. Kang H, Wang Y, Tong Z, Liu X. Retest positive for SARS-CoV-2 RNA of "recovered" patients with COVID-19: Persistence, sampling issues, or re-infection? *J Med Virol*. 2020;1-3doi:10.1002/jmv.26114

3. Alvarez-Moreno CA, Rodríguez-Morales AJ. Testing dilemmas: post negative, positive SARS-CoV-2 RT-PCR—is it a reinfection? *Travel Med Infect Dis*. 2020;35: 101743. doi:10.1016/j.tmaid.2020.101743

4. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581(7809):465-469. doi:10.1038/s41586-020-2196-x

5. Carfì A, Bernabei R, Landi F; for the Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19. *JAMA*. 2020;324(6):603-605. doi:10.1001/jama.2020.12603

6. Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Post-COVID-19 global health strategies: the need for an interdisciplinary approach. *Aging Clin Exp Res*. 2020;32(8): 1613-1620.

Traducción: *Ramiro Heredia (ramiroherediamd@gmail.com)*