



Puerto Rico
Public Health Trust

Desenredando los conceptos de las pruebas COVID-19

Marcos López-Casillas, Ph.D.
Research Program Manager
Puerto Rico Public Health Trust

Assistant Professor
Department of Chemistry
University of Puerto Rico - Humacao



@marco4357



mlopez@prsciencetrust.org
marcos.lopez11@upr.edu

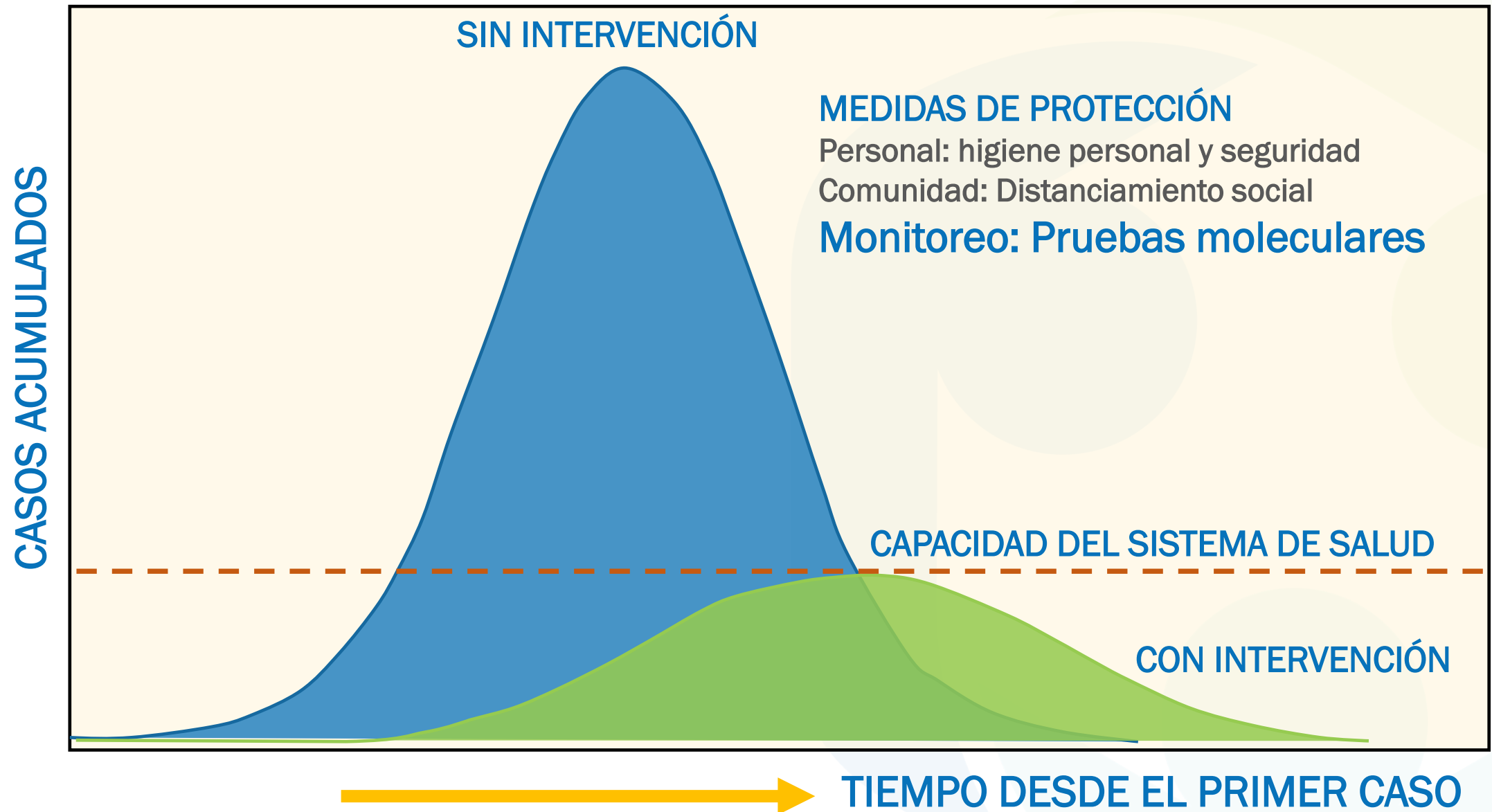


Puerto Rico
Public Health Trust

Estatus de la Pandemia en la Isla

- **COVID-19 es una enfermedad mortal altamente contagiosa** con un ritmo reproductivo básico (R_0) estimado de **~5.7**.
- Puerto Rico ha sido **proactivo en establecer estrategias de contención** para la pandemia.
- **No hemos sido eficaces en realizar pruebas moleculares** con la rapidez necesaria para tener una idea clara de como el SARS-CoV-2 se está propagando en la isla.
- **Escasez mundial** de reactivos para diagnóstico molecular
- Para responder efectivamente a la emergencia dependemos totalmente de nuestra capacidad para **diagnosticar eficazmente** los casos y el rastreo de contactos.

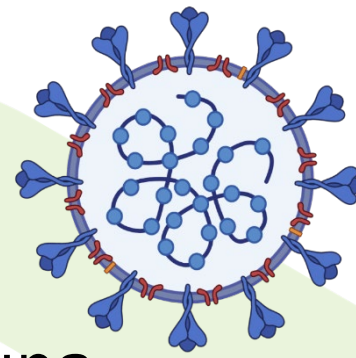
La epidemiología depende del diagnóstico



¿Qué significa diagnosticar COVID-19?

- Diagnostico es el **proceso de identificar** una enfermedad, condición o injuria por sus de sus signos y síntomas.
- El **diagnóstico de COVID-19**, se hace con una prueba que identifica la presencia del virus **SARS-CoV-2**.
- Es importante establecer que en el proceso del diagnóstico de la enfermedad de COVID-19, **la prueba para identificar el virus SARS-CoV-2**, es la clave para establecer una acción médica a tono con el historial médico que tiene una persona.

¿Con qué pruebas contamos?



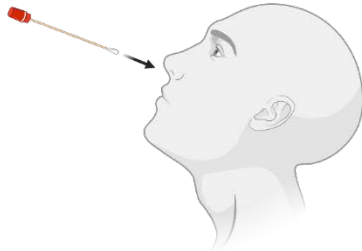
- La única forma confiable de detectar SARS-CoV-2 es mediante una **prueba diagnóstica molecular** que establece la presencia del virus en muestras del sistema respiratorio.
- La prueba molecular se hace mediante una técnica que se llama reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa o RT-PCR por sus siglas en inglés.

¿Cómo se hace esta prueba?

Diagnóstico de SARS-CoV-2 por RT-PCR

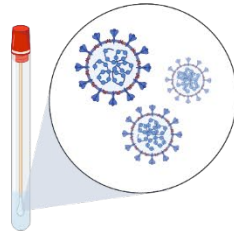
1 Hisopo nasofaringe

Se inserta un hisopo por la nariz para absorber secreciones..



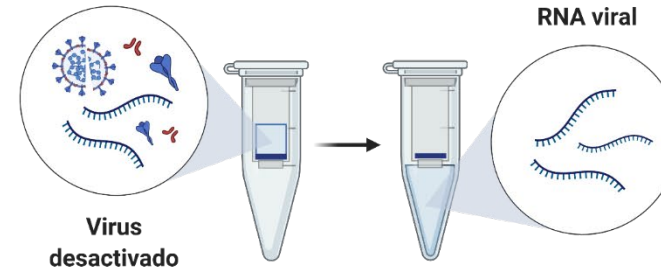
2 Colección de la muestra

La muestra se guarda en un líquido que la preserva hasta el momento del análisis



3 Extracción del material genético del virus - RNA viral

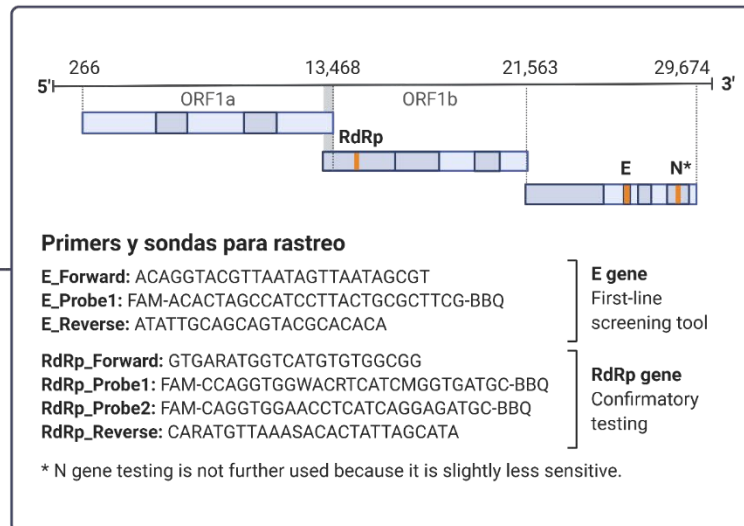
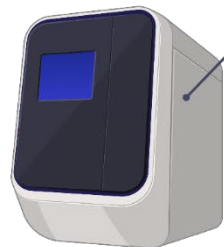
Se extrae y purifica RNA viral de la muestra.



4 RT-qPCR

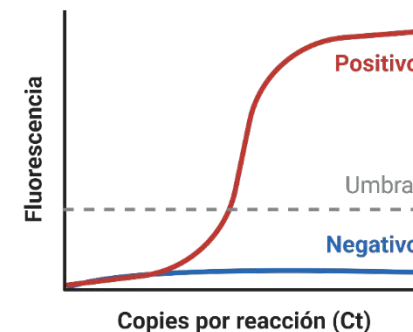
El RNA purificado se somete a un proceso en donde se busca la presencia de uno o más genes del virus SARS-CoV-2. Si están presentes se amplifican por PCR.

Retro transcripción

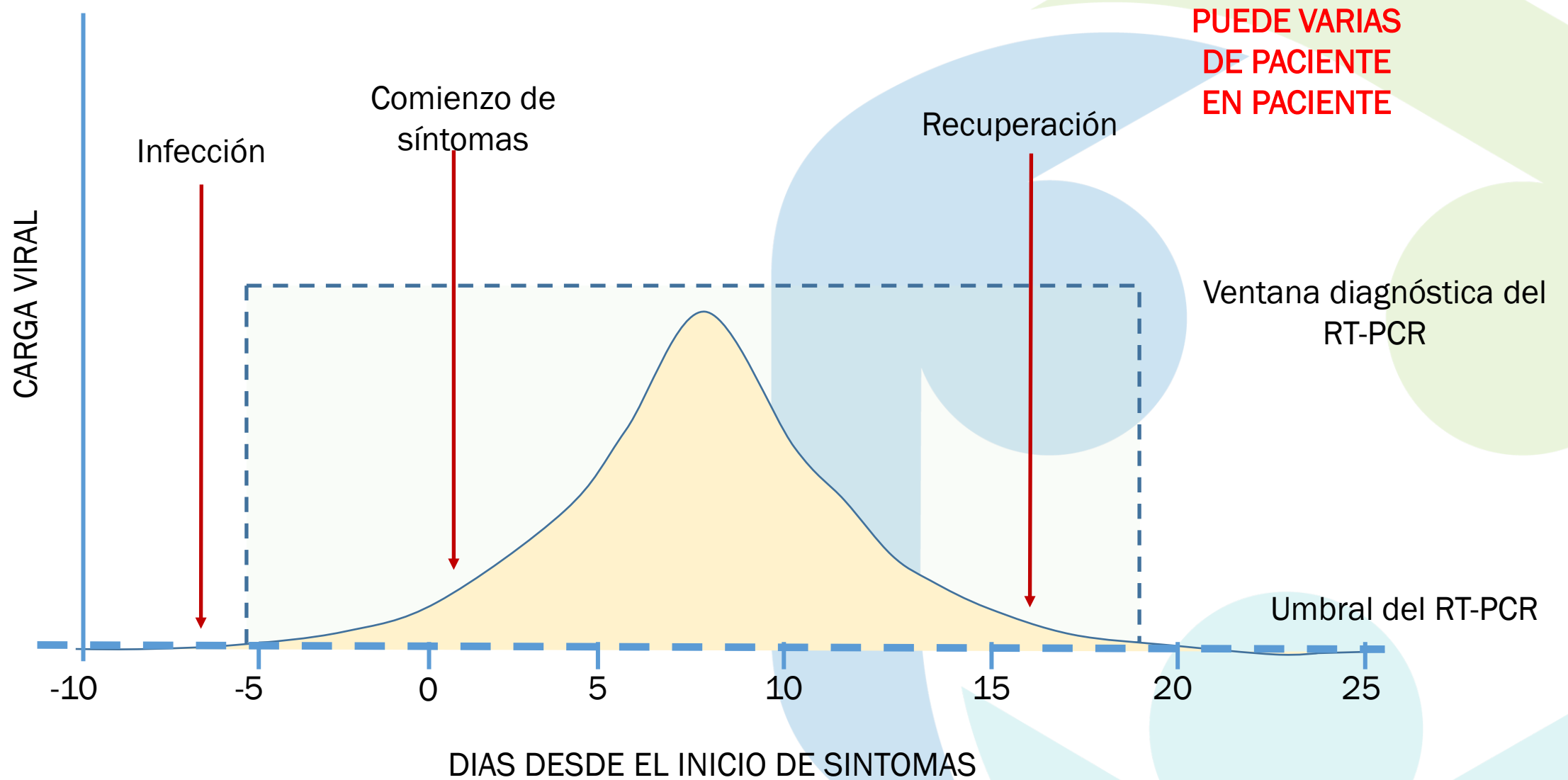


5 Resultados

Pacientes positivos para SARS-CoV-2, muestran un aumento en la curva de la reacción PCR. Los negativos no tienen este aumento en la curva.



Utilidad de la prueba molecular (RT-PCR)



Variantes de la prueba de RT-PCR

- Pruebas moleculares rápidas

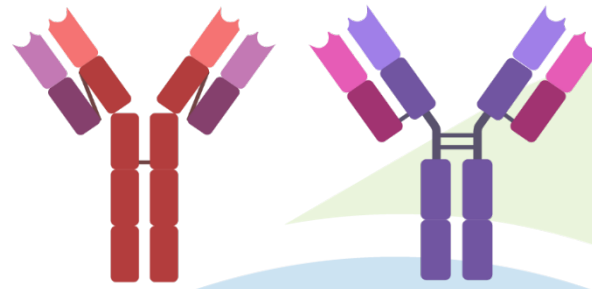


CEPHEID
Xpert® Xpress SARS-CoV-2
30 mins



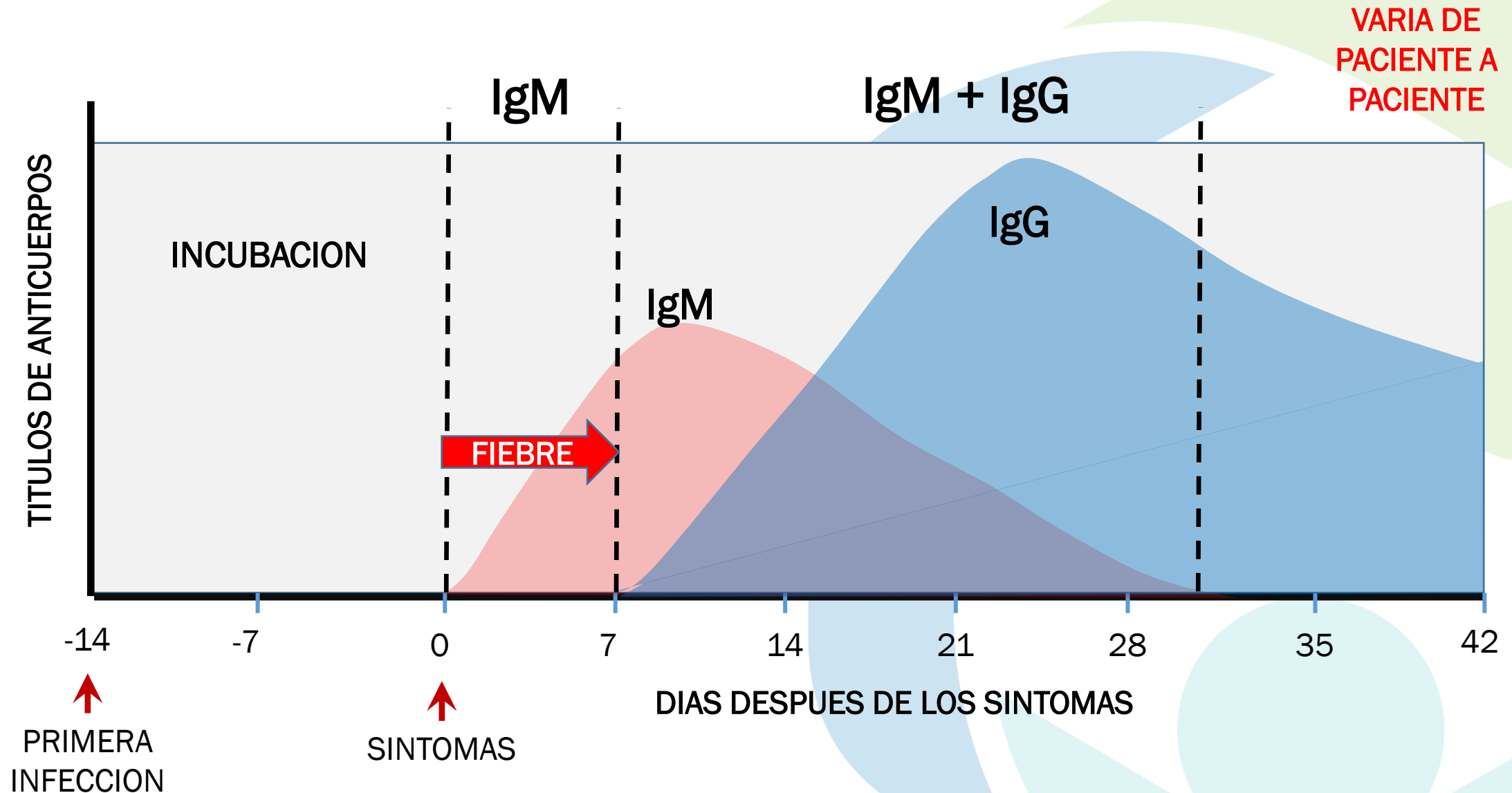
ABBOTT
ID NOW COVID-19
13 mins

Pruebas serológicas



- **NO SON PRUEBAS DIAGNOSTICAS**
- Las pruebas serológicas **NO** detectan la presencia del virus SARS-CoV-2.
- Miden la **presencia de anticuerpos** contra el virus en muestras de sangre .
- El desarrollo de inmunidad contra el virus no está establecido aún.
- Sirven solo para contestar interrogantes como:
 - *Establecer la prevalencia de infecciones de COVID-19 en las comunidades.*
 - *Establecer si la presencia de anticuerpos confiere inmunidad y por cuanto tiempo.*
 - *Establecer la concentración de anticuerpos contra SARS-CoV-2 en pacientes que pueden donar plasma convaleciente*

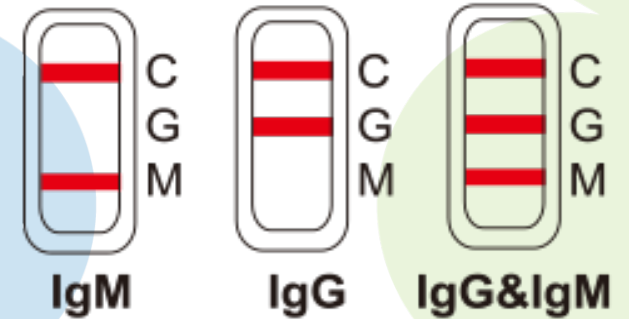
Utilidad de las pruebas serológicas



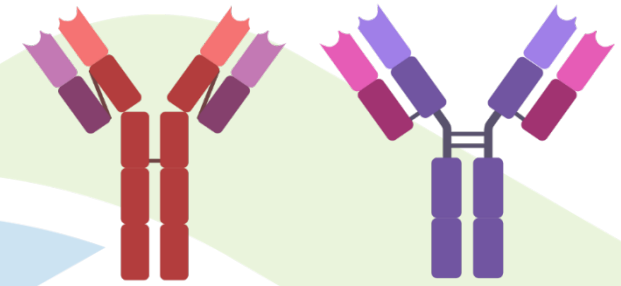
Tipos de pruebas serológicas

- Tres tipos de ensayos para detectar la presencia de anticuerpos tipo IgM o IgG en la sangre
 - **Los rapid tests o pruebas rápidas** (Detectan la presencia, no cuantifican)
 - **Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)** (Detectan la presencia y pueden cuantificar)
 - **Inmunoensayos de micropartículas quimio luminiscentes** (Detectan la presencia y pueden cuantificar)

C = Control
M = IgM
G = IgG



NEGATIVO



¿Qué dice la FDA al respecto de las pruebas para detectar SARS-CoV-2?

Contains Nonbinding Recommendations

Policy for Coronavirus Disease-2019 Tests During the Public Health Emergency (Revised)

Immediately in Effect Guidance for Clinical Laboratories, Commercial Manufacturers, and Food and Drug Administration Staff

Document issued on the web on May 4, 2020.

This document supersedes "Policy for Diagnostic Tests for Coronavirus Disease-2019 during the Public Health Emergency: Immediately in Effect Guidance for Clinical Laboratories, Commercial Manufacturers, and Food and Drug Administration Staff" issued March 16, 2020.

Debido a la emergencia declarada a finales de enero, la FDA flexibilizó el proceso para que tanto laboratorios de alta complejidad como fabricantes pudieran producir reactivos para diagnosticar el virus (RT-PCR).

Tampoco objetó el uso de pruebas serológicas. Incluso, en el proceso con FDA, solo requería una notificación.

REACTIVOS DE DIAGNOSTICO IN VITRO 21 CFR § 809

In Vitro Diagnostics Products for Human Use

EUA
Emergency Use Authorization
Autorización para uso durante la
emergencia

¿Por qué permitió las pruebas serológicas si no diagnostican?

This guidance also describes a policy regarding SARS-CoV-2 serological testing, which is modified from the policy included in the March 16, 2020 guidance as it pertains to commercial manufacturers but not laboratories. At the time of previous issuance, FDA provided flexibility for serology tests to be marketed with notification to FDA and certain labeling information, but without submission of an EUA. FDA's policy was based on the considerations that serology tests are not meant to diagnose active SARS-CoV-2 infection and that early availability and use of these tests could help answer critical questions about the prevalence of COVID-19 infections in different communities, whether the presence of antibodies conveys immunity, and, if so, for how long. That policy succeeded in encouraging development of serology tests.

La FDA fue clara desde el principio. Permitted el uso de las pruebas serológicas basándose en que:

- 1) NO SON PRUEBAS DIAGNOSTICAS
- 2) Su uso podía ayudar a contestar preguntas sobre la prevalencia de infecciones de COVID-19 en diferentes comunidades
- 3) ... si la presencia de anticuerpos confiere inmunidad y si es así por cuanto tiempo.

La FDA siempre estuvo clara

- Sus guías siempre exigían que los reportes de laboratorio con pruebas serológicas, **que debían hacerse con el solo propósito de identificar anticuerpos contra el virus**, debían incluir la siguiente información:
 - This test has not been reviewed by the FDA.
 - Negative results do not preclude acute SARS-CoV-2 infection. If acute infection is suspected, direct testing for SARS-CoV-2 is necessary.
 - Results from antibody testing should not be used to diagnose or exclude acute SARS-CoV-2 infection.
 - Positive results may be due to past or present infection with non-SARS-CoV-2 coronavirus strains, such as coronavirus HKU1, NL63, OC43, or 229E.

Problemas con las pruebas rápidas

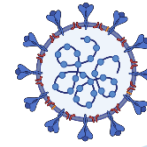
- La nueva guía de la FDA acaba de fortalecer el proceso para la autorización de uso de pruebas serológicas.
- ¿Por qué la FDA cambió el proceso para las pruebas serológicas si estaba claro desde el principio el rol de estas pruebas?

Since that policy was issued, FDA has authorized several serology tests under individual EUAs and has issued an umbrella EUA providing a streamlined approach for EUA authorization of serology tests that are evaluated by the National Institutes of Health's National Cancer Institute (NIH/NCI).⁷ The umbrella EUA for NIH-evaluated tests has provided a streamlined pathway for EUA authorization of commercial serology tests. Also since that time, FDA has become aware that a concerning number of commercial serology tests are being promoted inappropriately, including for diagnostic use, or are performing poorly based on an independent evaluation by the NIH.⁸ indicating that greater FDA oversight of commercial serology tests is important to protect the public health.

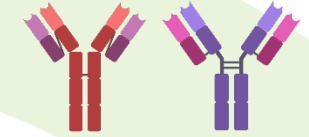
Preguntas importantes

SITUACION o ENTORNO

TIPO DE PRUEBA A USAR



MOLECULAR



SEROLOGICA

Llega un paciente al hospital con síntomas



Quiero pescar nuevos casos posibles en el aeropuerto



Quiero verificar quienes de la población de confinados HOY están infectados



Quiero verificar si alguno de los empleados de mi empresa está infectado porque voy a reabrir mi negocio



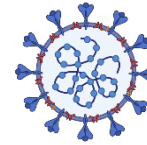
Quiero donar plasma porque ya no tengo COVID-19, me recuperé y quiero ayudar.



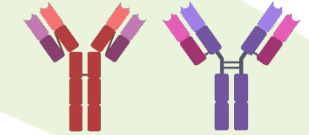
Preguntas importantes

SITUACION o ENTORNO

TIPO DE PRUEBA A USAR



MOLECULAR



SEROLOGICA

Tenemos un paciente en la UCI con COVID-19, se recuperó y le queremos dar de alta



Un compañero policía en el cuartel dió positivo a COVID-19 y queremos ver si alguien está infectado



Quiero verificar si de las empleadas del comedor escolar hay alguna infectada



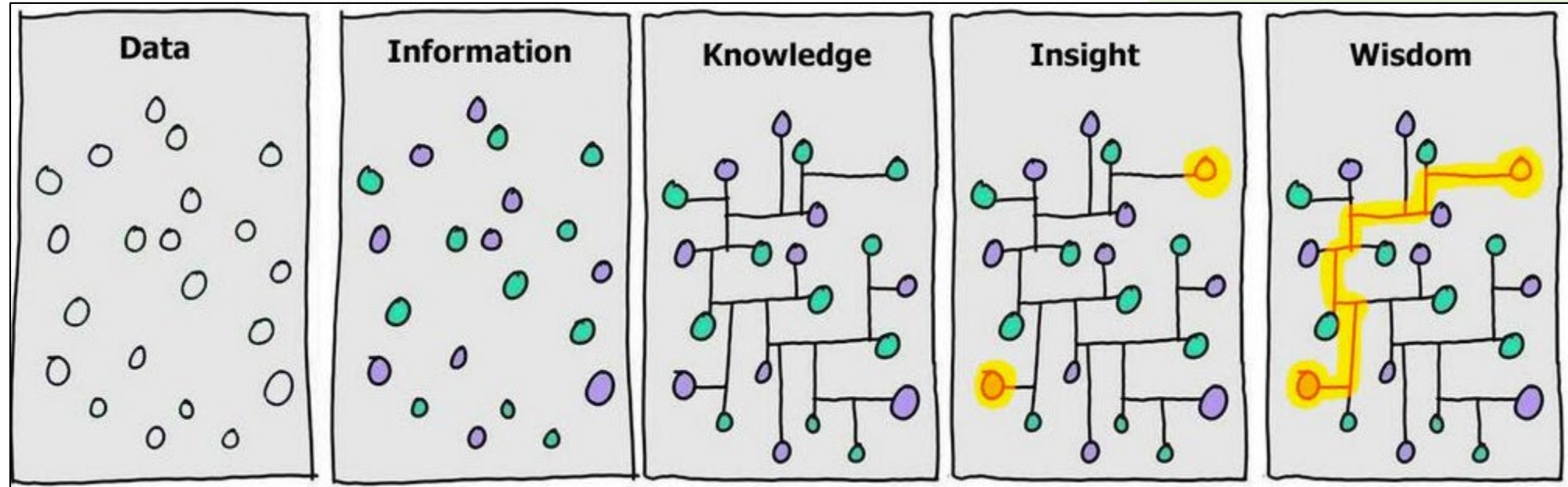
El hospital X quiere establecer un programa para determinar si el personal de salud está infectado



Quiero establecer un estudio de cohorte para ver la prevalencia de COVID-19 en Villalba



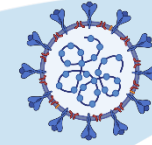
Reabrir a Puerto Rico



- **Para volver a la “normalidad” con sabiduría,** debemos aumentar las pruebas moleculares para hacer proyecciones y generar conocimiento.
- El reabrir sin el conocimiento requerido para tomar decisiones sabias **puede ser una sentencia de muerte.**

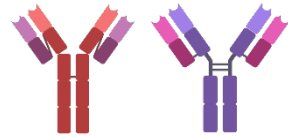
El mensaje que debemos llevar

- La única prueba que diagnostica SARS-CoV-2



MOLECULAR

- La única prueba que me permite determinar si tengo inmunidad al virus



SEROLOGICA

- Todavía la pandemia NO se ha acabado. Hasta que no tengamos una vacuna disponible, es importante que se proteja usted y su familia con medidas de distanciamiento social e higiene.



Puerto Rico Public Health Trust

Un programa del:



Fideicomiso para Ciencia,
Tecnología e Investigación
de Puerto Rico

www.paralasaludpublica.org

www.prsciencetrust.org

