



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

DetECCIÓN VIRAL Y RESPUESTA SEROLÓGICA EN PACIENTES CRÍTICOS INTUBADOS CON SARS-CoV-2. Implicaciones para retirada de aislamiento



Viral detection and serological response in critically ill patients with SARS-CoV-2. Implications for isolation withdrawal

Sr. Editor:

En diciembre de 2019 se declaró un brote de infección por un nuevo coronavirus en la provincia de Wuhan, China¹. La enfermedad que produce se denomina COVID-19 y ha dado lugar a una pandemia que ocupa las Unidades de Cuidados Intensivos con multitud de pacientes críticos². El diagnóstico se realiza mediante detección de ARN viral en frotis nasofaríngeo o lavado broncoalveolar (LBA)³. Para la respuesta inmunológica, se determinan IgM e IgG en sangre con pruebas rápidas cualitativas.

En las formas clínicas menos graves, la detección de ARN viral es máxima durante las 2 primeras semanas desde el inicio de los síntomas⁴, y a partir de los 7-10 días se produce respuesta inmunológica de IgM y después de IgG⁵. Sin embargo, en los pacientes más graves o curso más prolongado se describe mayor persistencia del virus hasta después de 21 días tras el inicio de síntomas^{4,6}. En estos pacientes de curso prolongado se ha encontrado además mayor persistencia de la IgM⁵. Las implicaciones para la retirada del aislamiento son muy relevantes⁷. El CDC propone como una pauta segura la determinación de 2 rRT-PCR (*real time reverse-transcription polymerase chain reaction*) negativas consecutivas para valorar la necesidad de aislamiento de los pacientes con COVID-19⁸.

Presentamos un estudio retrospectivo descriptivo en el que se analizan registros de 10 pacientes críticos intubados con SARS-CoV-2, ingresados en una Unidad de Cuidados Intensivos de un hospital comarcal, con más de una semana de ventilación mecánica. Se obtuvo autorización de los pacientes o familiares para la recogida de datos. Se consideraron pacientes de extrema gravedad aquellos que presentaron en los primeros 5 días hipoxemia crítica ($paO_2/FiO_2 < 100$ durante 12 h), fracaso renal que precisara depuración extrarrenal, o necesidad de norepinefrina a dosis mayor de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$.

A estos pacientes se les hicieron 2 determinaciones de rRT-PCR de coronavirus a partir de 21 días del inicio de síntomas, separadas por 24 h, para comprobar si persistía eliminación del virus. En los casos positivos, estas 2 determinaciones se repitieron semanalmente. Se evaluó al mismo tiempo el estado serológico de los pacientes mediante determinación en suero de IgM e IgG para el coronavirus. A los casos negativizados se les retiró el aislamiento y se realizó un seguimiento de profesionales y familiares en contacto con ellos.

En nuestro medio, en presencia de alta circulación del virus, adoptamos el algoritmo del cribado mediante técnica de *screening*, detección del gen de la envoltura (E) del

coronavirus, como determinante de infección por SARS-CoV-2⁹. La técnica de amplificación por rRT-PCR (TIB Molbiol, Roche®) se realizó a partir de exudados nasofaríngeos o LBA, empleando el ciclo menor de 40 como criterio de positividad^{10,11}. La detección cualitativa de anticuerpos IgG/IgM frente al SARS-CoV-2 se realizó mediante ensayo inmunocromatográfico en fase sólida a partir de sangre total, suero o plasma (Zhejiang Orient Gene Biotech Co., Ltd). Las especificaciones de la técnica al comparar con la rRT-PCR tiene una sensibilidad del 87,9% y del 97,2% para la IgM e IgG, respectivamente, y una especificidad conjunta del 100%.

En la **tabla 1** se presentan los casos analizados, que mostraron un APACHE II medio a las 24 h de 18,1 (DE 5,8), un SOFA medio a las 72 h de 7,4 (DE 1,6), con un predominio de hombres 4:1. El tiempo medio de evolución clínica al realizar la rRT-PCR fue de 24 días (DE 3,6), la estancia media en UCI en ese momento era de 16,3 días (DE 3,5) y el tiempo medio de ventilación mecánica, de 12,9 días (DE 3,1).

En 3 casos (30%; IC 95%: 7-65%) se detectó ARN viral en una de las muestras tras los 21 días. En un caso hubo una primera determinación negativa seguida de otra positiva y en el resto, ambas fueron negativas (**fig. 1**). Considerando la gravedad de los pacientes, 2 de los 3 pacientes con extrema gravedad tuvieron persistencia de la detección del ARN viral, por 1 de 7 de los que tuvieron una presentación muy grave ($p=0,18$). De los 3 con rRT-PCR positiva, a la semana en 2 de ellos se seguía detectando ARN viral en al menos una muestra. Estos 2 negativizaron en la siguiente semana. Todos los pacientes generaron respuesta inmunitaria medida por anticuerpos, y ninguno había negativizado IgM a los 21 días de clínica, aunque la respuesta de IgM era cualitativamente menor en 4 de los 7 pacientes con cuadro muy grave, por ninguno de los que tuvieron gravedad extrema ($p=0,20$). Se retiró el aislamiento a los negativos y tras un seguimiento medio de 13,5 días (DE 2,6), no se detectaron síntomas entre los familiares ni profesionales a cargo ni nuevas PCR positivas en ningún profesional del hospital.

La detección del ARN viral mediante técnicas de rRT-PCR parece ser una forma adecuada de determinar la necesidad de aislamiento de los pacientes con SARS-CoV-2^{8,12}. Esto tiene implicaciones sobre las cargas de trabajo, el uso de equipos de protección y los cuidados, además de influir en el estado anímico del paciente y facilitar la reubicación de los enfermos en otras áreas.

A día de hoy existen dudas de si la detección de ARN viral en fases tardías corresponde a virus realmente infectivos o son fragmentos de ARN viral no capaces de generar nueva enfermedad¹². Aun así, parece razonable tener 2 muestras negativas para asegurar la no infectividad, teniendo en cuenta la posibilidad de falsos negativos, como se demuestra en 2 de los casos. Desconocemos la correlación entre la respuesta serológica y el control efectivo de la infección. La persistencia de IgM, y quizá de forma más pronunciada en los pacientes más graves, podría estar relacionada con la intensidad de presentación.

Este estudio tiene como limitaciones el escaso tamaño muestral, que se realizó determinación de rRT-PCR de un gen E común a otros coronavirus, aunque esté validado en situación de alta circulación, y que la determinación de anticuerpos fue por test cualitativos.

Tabla 1 Características y pruebas diagnósticas de los casos de pacientes críticos con SARS-CoV-2 con ventilación mecánica

Caso	Clínica ^a	AP II	SOFA	PAFI < 100 > 12 h	TDER	NE > 1	Días clínica	Días VM	rRT-PCR 21 d		rRT-PCR 28 d		rRT-PCR 35 d		IgG	IgM
									1. ^a	2. ^a	1. ^a	2. ^a	1. ^a	2. ^a		
M 58	Extrema	13	4	Sí	No	No	21	10	-	-	NR	NR	NR	NR	++	++
H 64	Extrema	24	8	Sí	Sí	Sí	22	12	+	NR	-	+	-	-	++	++
M 69	Muy grave	12	9	No	No	No	22	12	-	+	-	-	NR	NR	++	+
H 76	Muy grave	23	8	No	No	No	21	8	-	-	NR	NR	NR	NR	++	+
H 76	Muy grave	18	6	No	No	No	31	12	-	-	NR	NR	NR	NR	++	+
H 71	Muy grave	13	7	No	No	No	22	13	-	-	NR	NR	NR	NR	++	++
H 56	Muy grave	10	7	No	No	No	25	12	-	-	NR	NR	NR	NR	++	+
H 48	Muy grave	19	7	No	No	No	21	15	-	-	NR	NR	NR	NR	++	++
H 76	Muy grave	26	8	No	No	No	29	19	-	-	NR	NR	NR	NR	++	++
H 70	Extrema	23	10	Sí	No	Sí	26	16	+	NR	+	NR	-	-	++	++

AP II: APACHE II (*Acute Physiology, Age, Chronica Health Evaluation*) a las 24h; d: días; H: hombre; IgG: inmunoglobulina G; IgM: inmunoglobulina M; NE > 1: norepinefrina a dosis > 1 µg/kg/min; M: mujer; NR: no realizada; PAFI: paO₂/FiO₂; rRT-PCR: reacción en cadena de polimerasa (*real time reverse-transcription polymerase chain reaction*) para ARN de coronavirus; SOFA (*Sequential Organ Failure Assesment*) a las 72 h; TDER: terapia de depuración extrarrenal; VM: ventilación mecánica.

^a Pacientes con extrema gravedad si tenían paO₂/FiO₂ > 12 h, o precisaban terapia de depuración extrarrenal o norepinefrina a dosis > 1 µg/kg/min durante los primeros 5 días de ingreso en UCI.

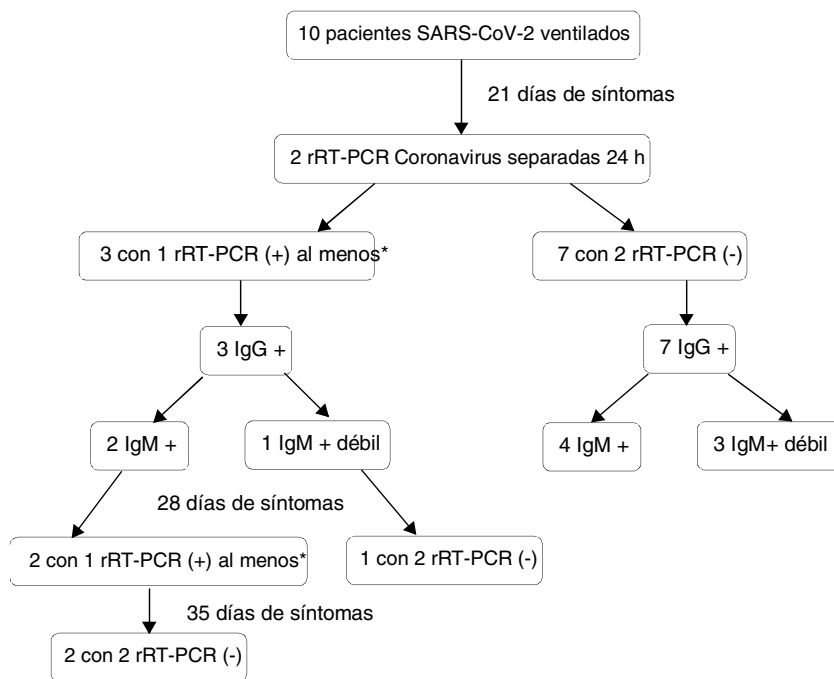


Figura 1 Seguimiento de negativización de rRT-PCR a coronavirus en 10 pacientes críticos con SARS-CoV-2 bajo ventilación mecánica. *1 paciente con una 1.^a rRT-PCR negativa y la 2.^a positiva.

En resumen, la valoración de la infectividad latente de los pacientes críticos con SARS-CoV-2 después de 21 días de enfermedad no está suficientemente establecida. Se demuestra una persistencia de la detección de ARN viral más allá de 4 semanas en los casos más graves. La determinación de 2 rRT-PCR negativas consecutivas y la constatación de anticuerpos IgG podría considerarse un procedimiento adecuado para la retirada del aislamiento.

Bibliografía

- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382:727-33, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
- Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with

- SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020, [http://dx.doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30079-5](http://dx.doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30079-5).
3. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang, Yang F, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020, <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa310>.
 4. Liu Y, Yan LM, Wan L, Xiang TX, Le A, Liu JM, et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis*. 2020, [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30232-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30232-2).
 5. Liu W, Liu L, Kou G, Zheng Y, Ding Y, Ni W, et al. Evaluation of nucleocapsid and spike protein-based ELISAs for detecting antibodies against SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol*. 2020, <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.00461-20>.
 6. To KK, Tsang OT, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020, [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30196-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30196-1).
 7. Rascado Sedes P, Ballesteros Sanz MA, Bodí Saera MA, Carrasco Rodríguez-Rey LF, Castellanos Ortega A, Catalán González M, et al., Junta directiva de la SEMICYUC, Junta directiva de la SEEIUC. Plan de contingencia para los servicios de medicina intensiva frente a la pandemia COVID-19. *Med Intensiva*. 2020, <http://dx.doi.org/10.1016/j.medin.2020.03.006>.
 8. Discontinuation of transmission-based precautions and disposition of patients with COVID-19 in Healthcare Settings (Interim Guidance). Center for Disease Control and Prevention; 2020 [consultado 24 Abr 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/disposition-hospitalized-patients.html>
 9. WHO/COVID-19/laboratory/2020.5 Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases 2020.
 10. Liu Y, Liu Y, Diao B, Ren F, Wang Y, Ding J, et al. Diagnostic indexes of a rapid IgG/IgM combined antibody test for SARS-CoV-2. *medRxiv*. 2020, <http://dx.doi.org/10.1101/2020.03.26.20044883>.
 11. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020;25, <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.es.2020.25.3.2000045>.
 12. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med*. 2020;382:1177-9, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc2001737>.
- J.L. García Garmendia^{a,*}, M. Ramírez Arcos^b,
A.E. Barrero Almodóvar^a, M. Chávez Caballero^b,
V. Jorge Amigo^a
y M.C. Serrano Martino^b
- ^a *Unidad de Cuidados Intensivos, Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias, Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, Bormujos, Sevilla, España*
^b *Unidad de Microbiología, Servicio de Laboratorio, Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, Bormujos, Sevilla, España*
- * Autor para correspondencia.
Correo electrónico: joseluis.garciagarmendia@sjd.es
(J.L. García Garmendia).
- <https://doi.org/10.1016/j.medin.2020.04.014>
0210-5691/ © 2020 Elsevier España, S.L.U. y SEMICYUC. Todos los derechos reservados.