

CORONAVIRUS

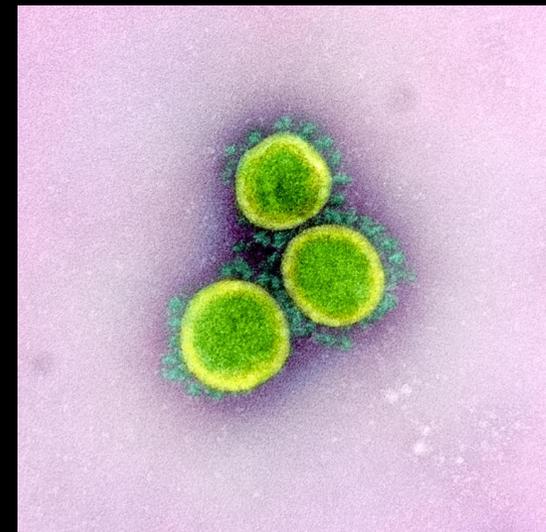


Héctor H. Cuello
Bioquímico
Especialidad en Virología

- Características generales del virus
- Métodos diagnósticos
- Estudios de Variantes por el laboratorio

CORONAVIRUS

- Virus envueltos
- RNA de cadena simple de sentido positivo
- 100 a 160 nm de diámetro
- Pertenecen a la familia Coronaviridae
 - 1966 primer coronavirus Hcov-229E (enf. similar a la gripe)
 - 1967 Hcov-0c43 (enf. similar a la gripe)
 - SARS-CoV 2002 (provincia de , Guangdong China)
 - HCoV-NL63 2003
 - MERS-CoV 2012 (syndrome resp. de Oriente medio)
 - SARS CoV 2 2019
 - 13 marzo la OMS declaró la pandemia



ORIGEN del SARS Cov2: 3 Hipótesis

- Selección natural en un hospedador animal antes de la transmisión zoonótica
 - 96.2 % idéntica al genoma del coronavirus RaTG13, encontrado en la especie de murciélagos (*Rhinolophus affinis*) en forma directa al ser humano
 - O por un intermediario como puede ser el pangolín (*Manis javanica*)
- Selección natural en humanos después de la transmisión zoonótica
 - un progenitor de SARS-CoV-2 saltara a los humanos y de adaptación durante la transmisión no detectada de humano a humano.
- Por una liberación o fuga inadvertida de laboratorio

Origen del Covid 19

Diciembre de 2019, Wuham, China



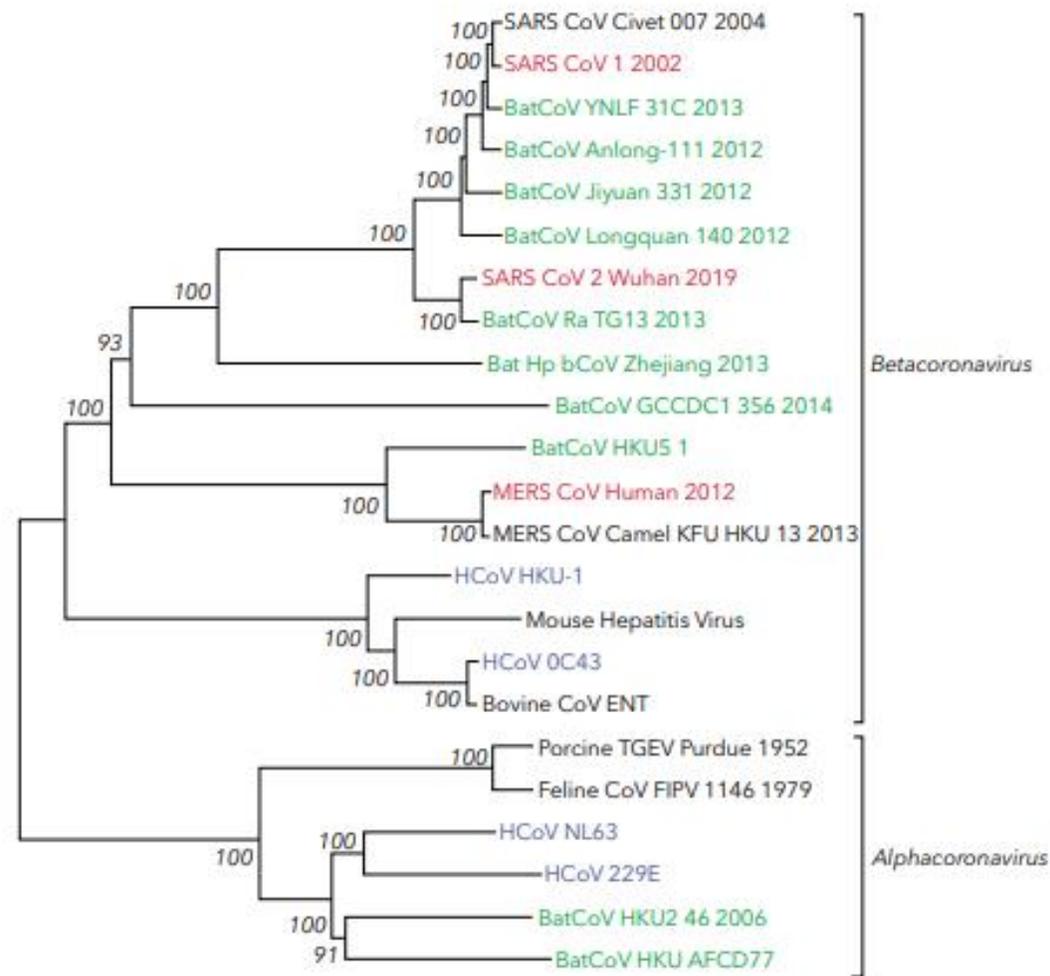
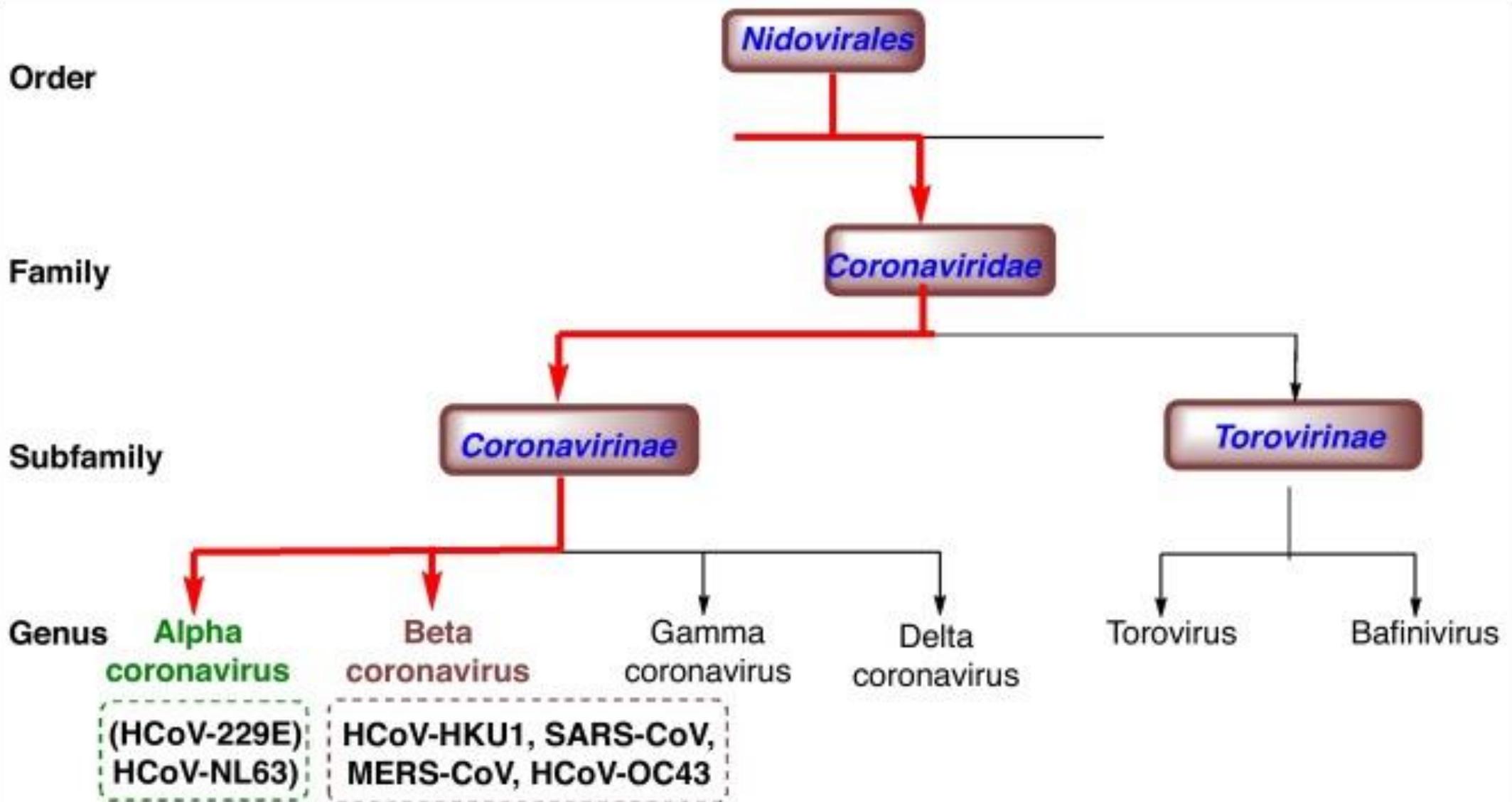
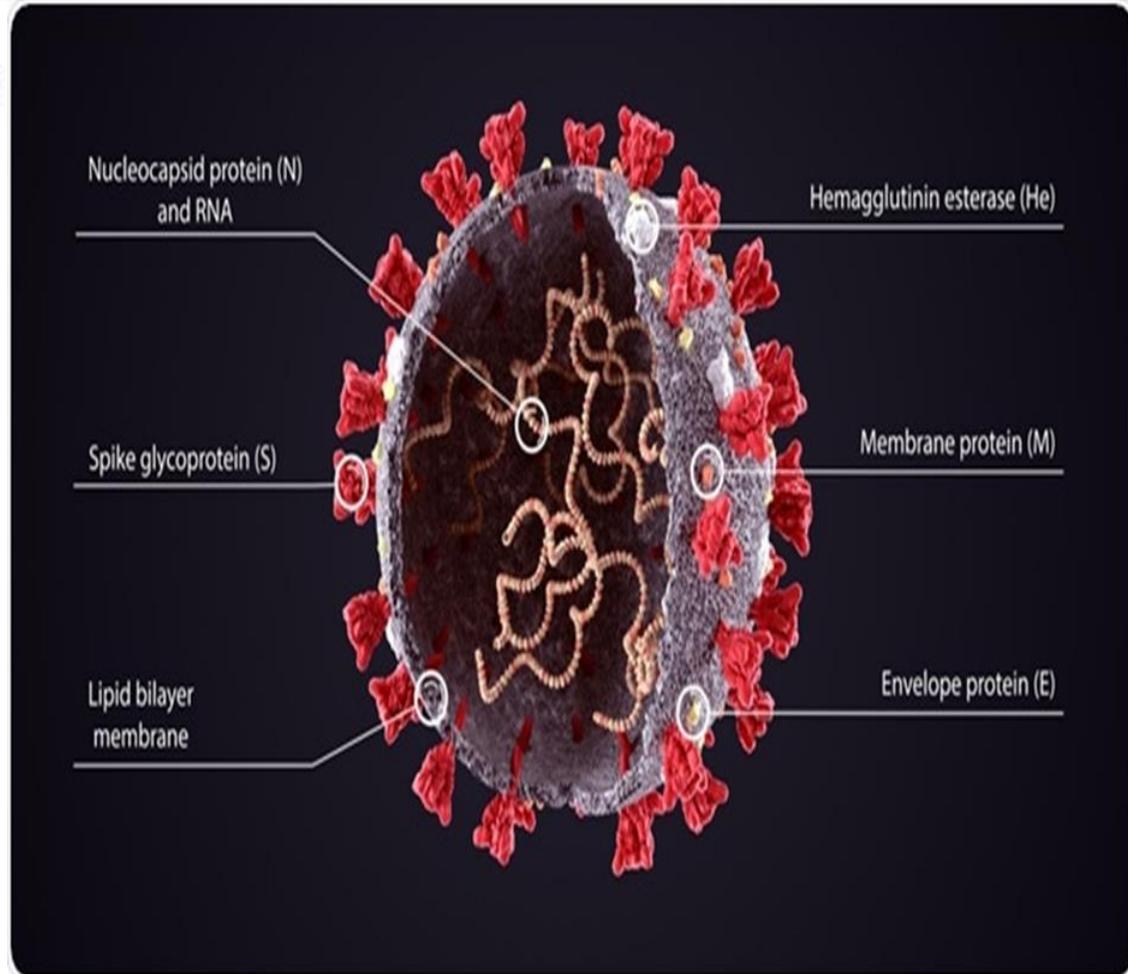
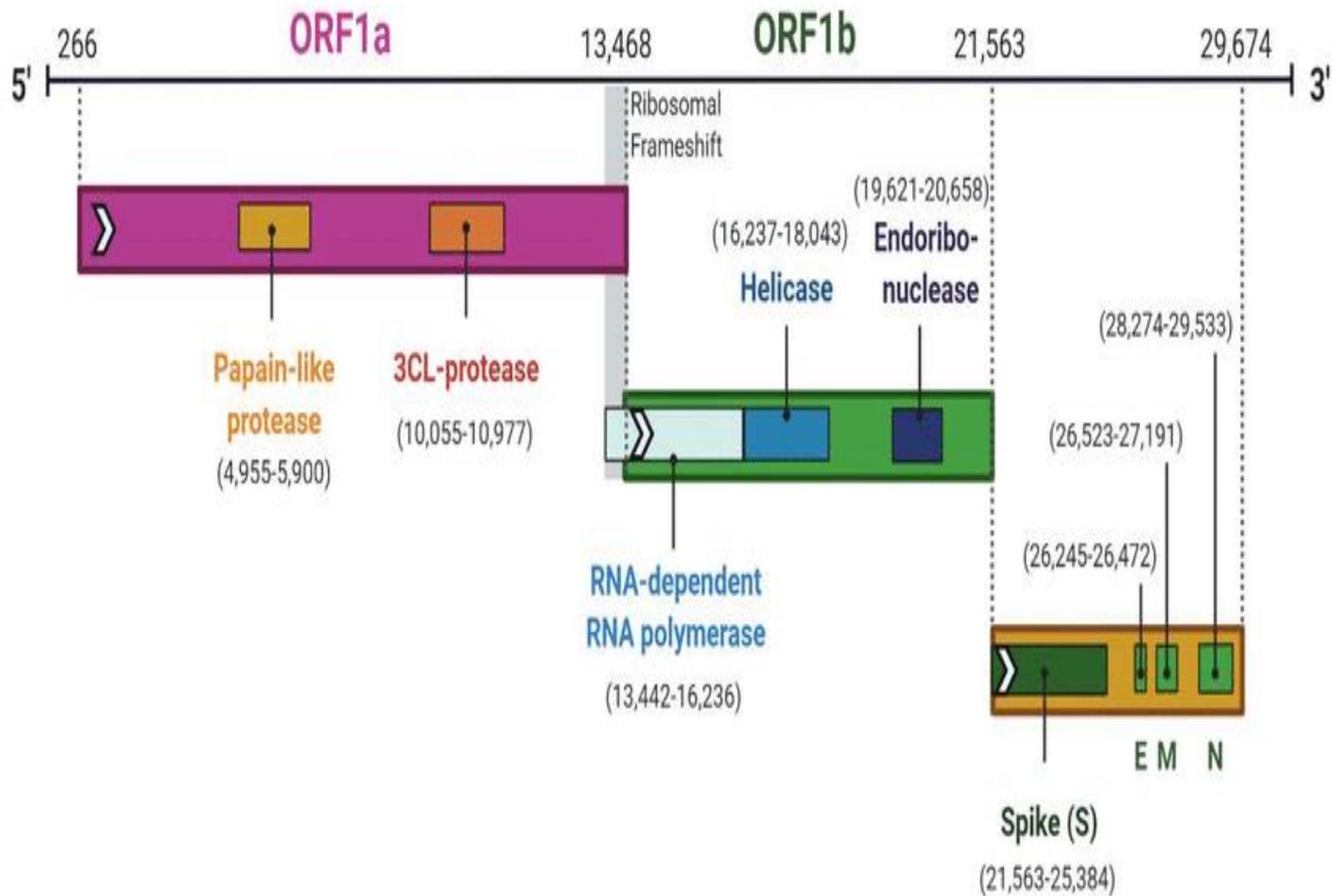
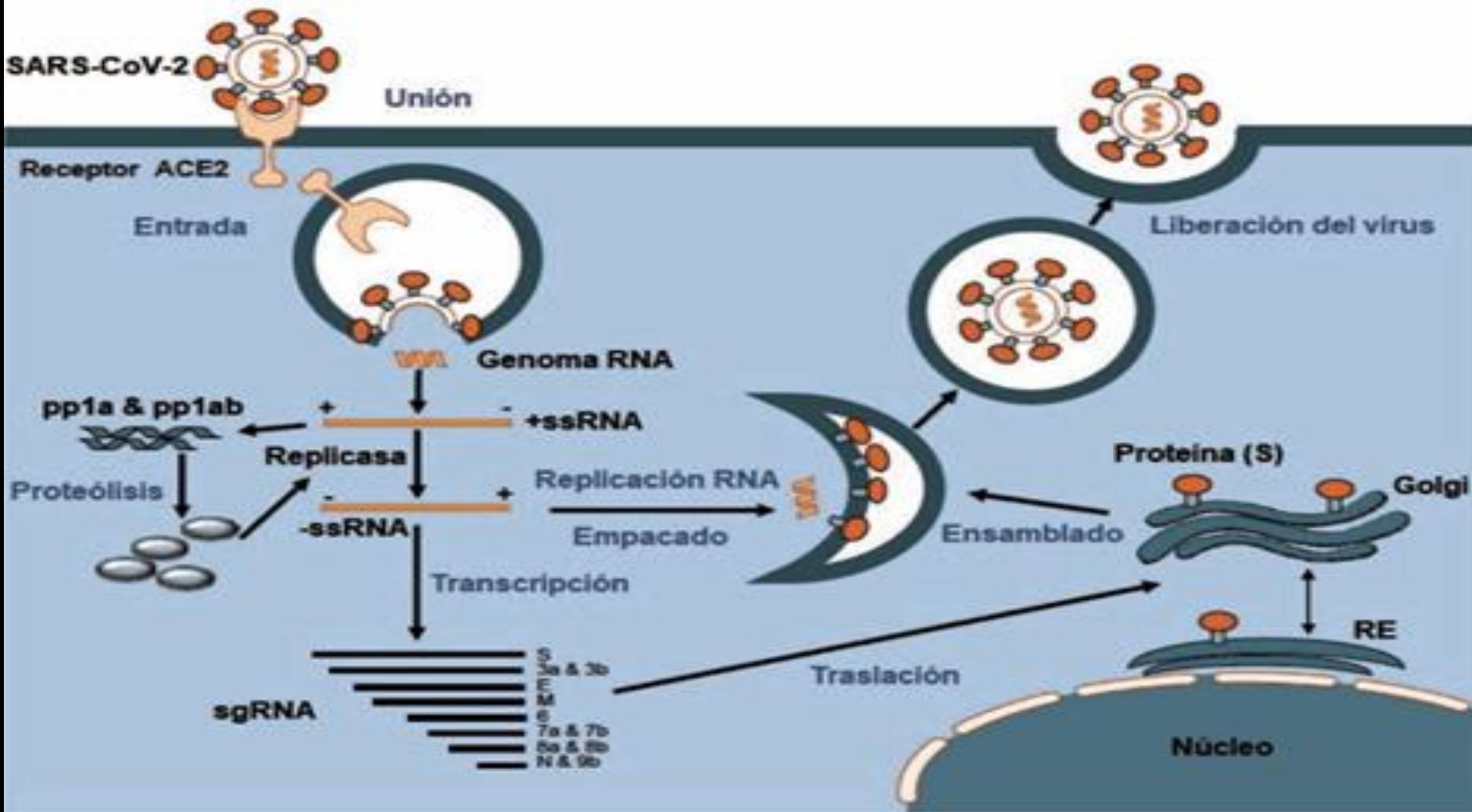


Figura 1. Árbol filogenético de los coronavirus de importancia médica y otros coronavirus animales. Los coronavirus humanos (HCoV) adquiridos en la comunidad se muestran en azul, los coronavirus zoonóticos en rojo, los encontrados en murciélagos en verde, y otros coronavirus de animales en negro. Los números cerca a los nodos del árbol corresponden al soporte estadístico o valor de "bootstrap".



Genoma viral





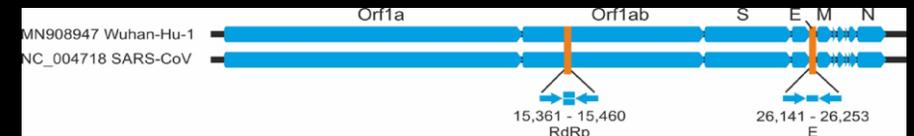
Métodos diagnósticos : en Covi-19

- **Métodos directos**

- Partículas virales
 - Microscopía electrónica
 - Cultivo celulares
- Antígeno
 - Inmunocromatografía
- Acido Nucléico (RNA)
 - PCR rt-PCR real time
 - Detección de regiones conservadas del gen (E , RdRP, N , etc)

- **Métodos indirectos**

- Anticuerpos
 - IgM e IgA : periodo agudo
 - ELISA
 - Quimioluminiscencia
 - IgG: periodo de convalescencia
 - ELISA
 - Quimioluminiscencia



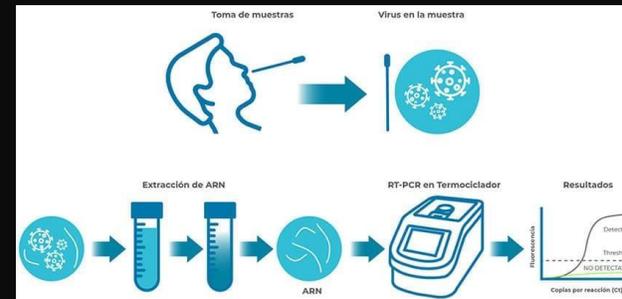
TIPO DE MUESTRA RECOMENDADAS

- TRACTO RESPIRATORIO PRINCIPALMENTE SUPERIOR
 - RT-PCR, PCR LAMP (isotérmica) Antígeno
- SALIVA
 - RT-PCR , LAMP
 - Sensibilidad similar al hisopado (86%) especificidad 99%
 - Tamizajes masivos – menos invasivo
- TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR
 - Lavado broncoalveolar, endotraqueal
 - No recomendado el de esputo

TÉCNICAS MOLECULARES

- RT-PCR

- EXTRACCIÓN DEL RNA VIRAL
- NIVELES DE BIOSEGURIDAD II
- RESULTADOS EN 12 HS
- TERMOCICLADORES



- LAMP

- NIVELES DE BIOSEGURIDAD II
- AMPLIFICACIÓN EN 1 HORA
- INSTRUMENTAL MÁS SENCILLO
- AUSENCIA DE CONTROL INTERNO , NIVEL DE DETECCIÓN



- ISOTÉRMICA (ID NOW)

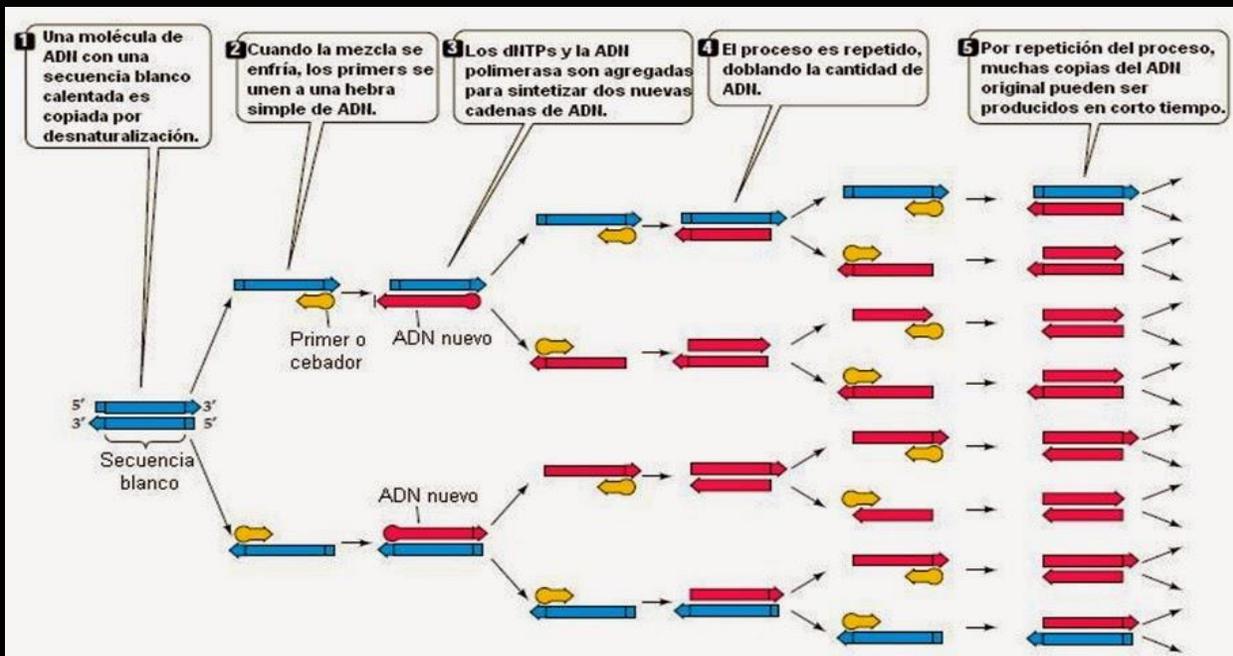
- NO REQUIERE DE EXTRACCIÓN RNA VIRAL
- CONTROL INTERNO
- RESULTADO EN 15 MIN
- NO ES DE UTILIDAD PARA ESTUDIOS MASIVOS

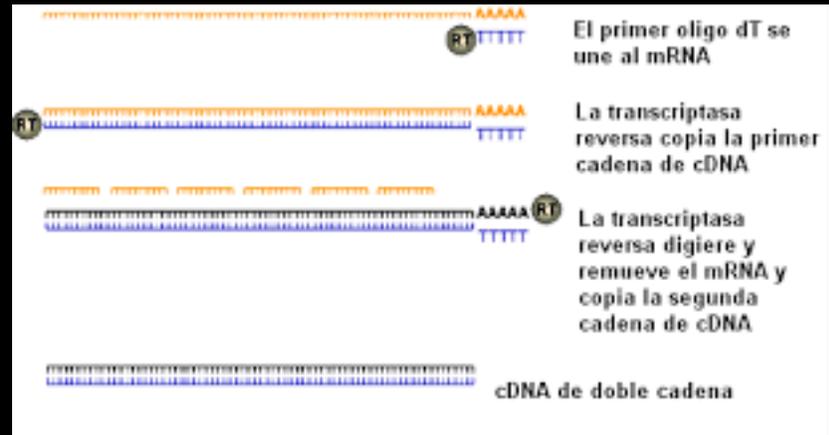
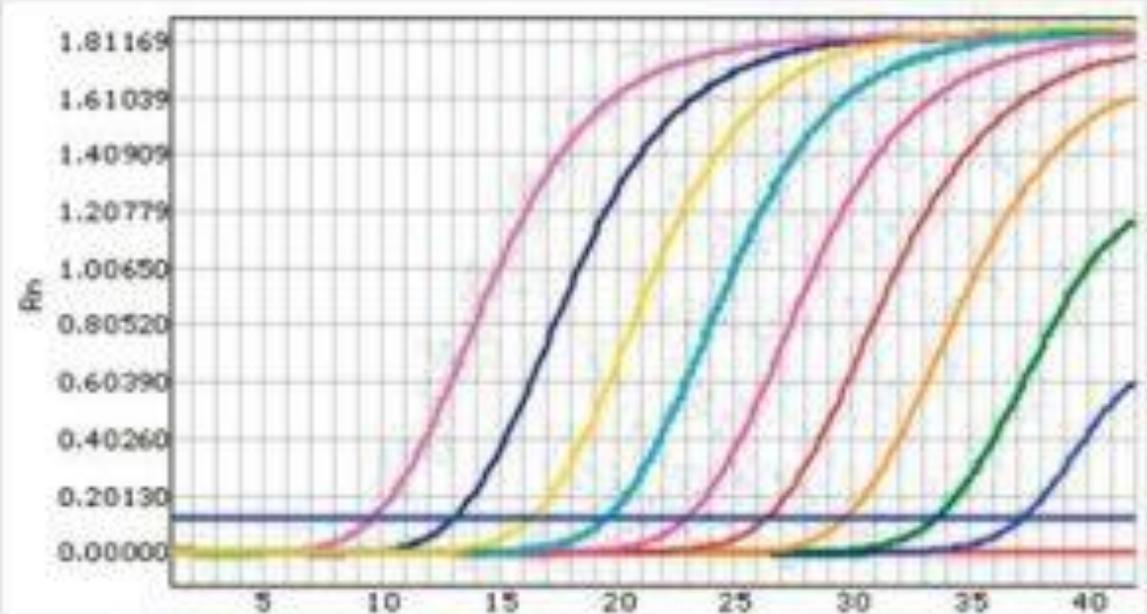


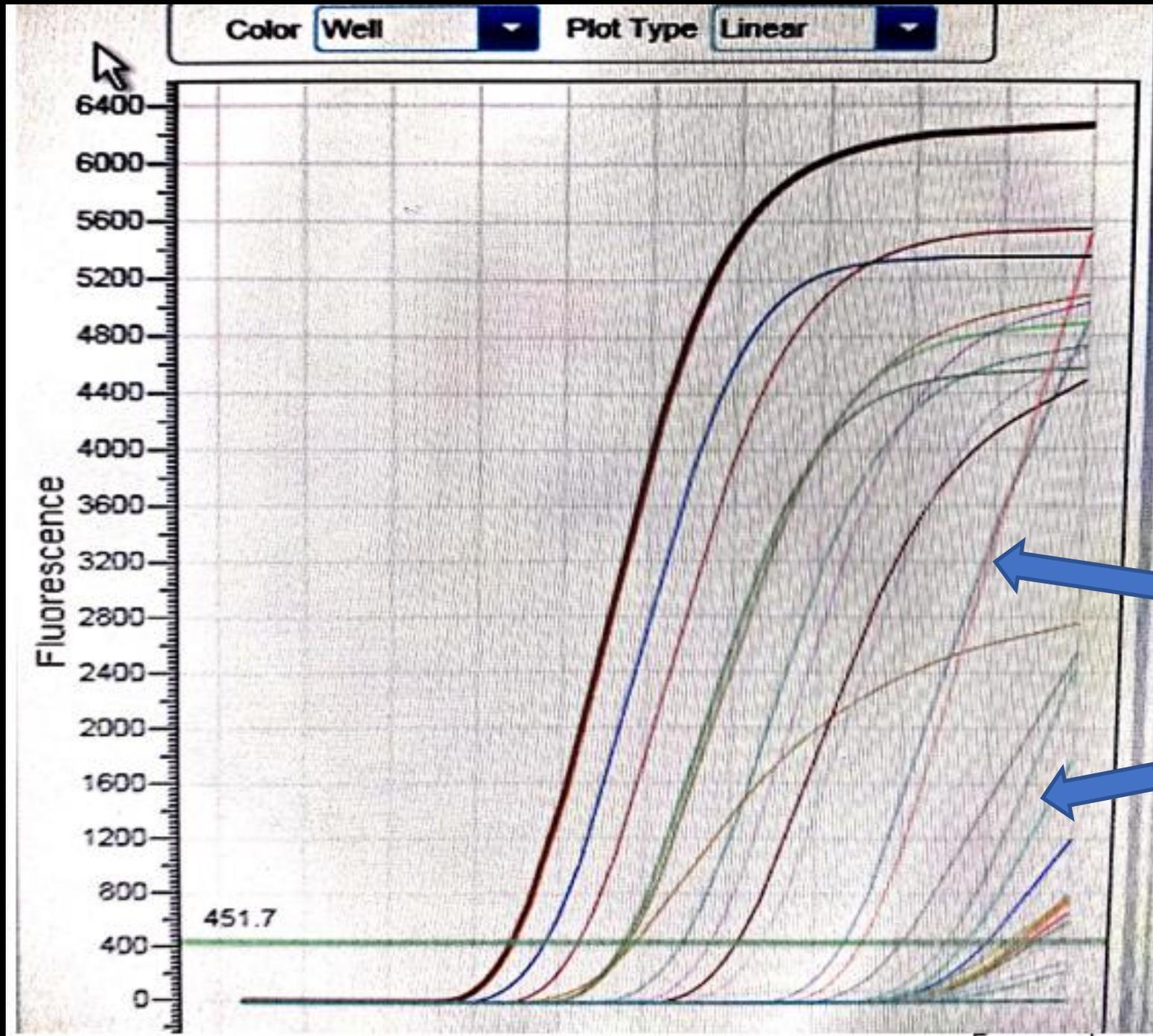
Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)



NÚMERO DE CICLOS	CANTIDAD DE ADN
0	1
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
7	128
8	256
9	512
10	1,024
11	2,048
12	4,096
13	8,192
14	16,384
15	32,768
16	65,536
17	131,072
18	262,144
19	524,288
20	1,048,576
21	2,097,152
22	4,194,304
23	8,388,608
24	16,777,216
25	33,554,432
26	67,108,864
27	134,217,728
28	268,435,456
29	536,870,912
30	1,073,741,824
31	2,147,483,648
32	4,294,967,296
33	8,589,934,592
34	17,179,869,184







DETECCIÓN DE ANTÍGENO

- DETECCIÓN EN LOS PRIMEROS 5 DIAS
- DETECCIÓN DE LA NUCLEOCÁPSIDE PRINCIPALMENTE
- DETECCIÓN EN 15 MIN
- SENSIBILIDAD DEL 80% ESPECIFICIDAD 97%
- PRUEBA SUBJETIVA



Consenso sobre el uso de pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2.

VERSION 2

Mayo 2021.



Ministerio de Salud
Argentina

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

- PERSONAS SINTOMÁTICAS
 - RT PCR
 - Sensibilidad entre 81-92%
 - Especificidad entre 87-100%
 - Muy importante la calidad de la muestra
 - Relacionar la clínica con el contexto epidemiológico (pre-test)
 - Un resultado negativo no descarta infección
 - Repetir estudio con nueva muestra
 - Toma de muestra en los primeros días de comienzo de los síntomas
 - Si bien la detección puede realizarse previo a los síntomas del RNA viral
 - Tener en cuenta los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN)
 - Probabilidad pre-test alta por lo tanto VPP la pruebas positivas son confirmatorias

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

- PERSONAS SINTOMÁTICAS
 - LAMP
 - Sensibilidad ligeramente inferior entre 75-86%
 - Especificidad entre 96-100%
 - Muy importante la calidad de la muestra
 - Relacionar la clínica con el contexto epidemiológico
 - Un resultado negativo no descarta infección
 - Repetir estudio con nueva muestra o con RT-PCR
 - Tener en cuenta los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN)
 - Probabilidad pre-test alta por lo tanto VPP la pruebas positivas son confirmatorias

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

- PERSONAS SINTOMÁTICAS

- ANTÍGENO

- Sensibilidad inferior a las pruebas moleculares

- Falsos negativos

- Especificidad aceptable 98%

- Muy importante la calidad de la muestra

- Falsos positivos

- Principalmente cuando menor es la prevalencia (<5% en los últimos 15 días)

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

- PERSONAS ASINTOMÁTICAS
 - CON CONTACTO ESTRECHO CON CASO CONFIRMADO DE COVID 19
 - USO DE ANTÍGENO DEMOSTRÓ UNA SENSIBILIDAD DEL 58%
 - POR SU SENSIBILIDAD LAS PRUEBAS DE ELECCIÓN SON LAS MOLECULARES
 - CONTACTOS ESTRECHOS CON SÍNTOMAS SE PUEDEN CONFIRMAR POR CRITERIO CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICO SIN NECESIDAD DE TESTEO.
 - SIN EXPOSICIÓN RECIENTE A CASOS POSITIVOS DE COVID 19
 - PRUEBAS MOLECULARES
 - TAMIZAJE A GRUPOS SELECCIONADOS INSTITUCIONES CERRADAS
 - OBJETIVO: REDUCCIÓN EN LA TRASMISIÓN

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

- PACIENTES HOSPITALIZADOS QUE COMIENZAN CON SÍNTOMAS COVID 19
 - SE REALIZA TEST DE ANTÍGENO Ó RT-PCR Ó LAMP
 - PRUEBA NEGATIVO POR ANTÍGNEO O LAMP SE REALIZARÁ RT-PCR
 - PRUEBA RT-PCR NEGATIVO
 - DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL
 - REPETIR HISOPADO 48 – 72 HS

Se sugiere iniciar el estudio con test de antígenos para SARS CoV-2

Caso sospechoso de Covid-19

Primer nivel de atención
(Centros de atención primaria, guardias de urgencia, centros de testeo de sintomáticos)
Aislamiento y cuarentena de contactos estrechos.

Test rápido de Antígenos para SARS CoV-2 si ≤ 7 días de evolución de los síntomas.



NEGATIVO



POSITIVO

Aislamiento x 48hs. y reevaluar.

Mejoría clínica

Negativo. Se levantan las medidas sobre los contactos. Aislamiento del caso mientras persistan los síntomas y hasta obtener el alta.

No mejoría clínica

Realizar RT-PCR o LAMP



POSITIVO



NEGATIVO

Confirma el diagnóstico por SARS CoV-2

RT-PCR o LAMP para SARS CoV-2

Poblaciones vulnerables, sujetos con factores de riesgo



POSITIVO



NEGATIVO

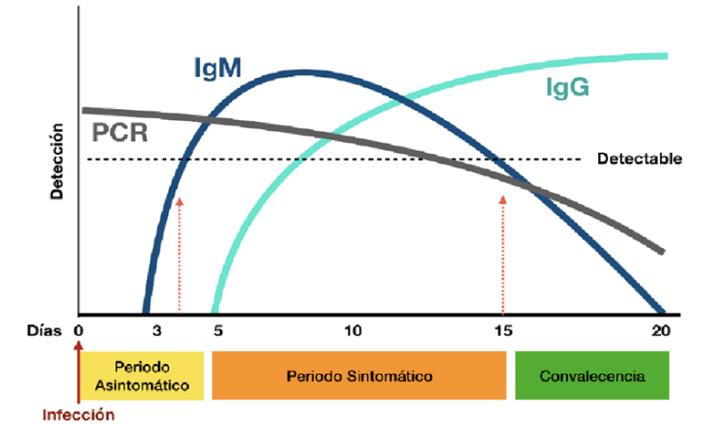
Confirma el diagnóstico por SARS CoV-2.

Se levantan las medidas sobre los contactos. Aislamiento del caso hasta mejoría clínica.

Considerar el estudio de OVR*. Si persiste sospecha clínica seguimiento clínico cercano y aislamiento.

PRUEBAS SEROLÓGICAS

- DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS
 - POST INFECCIÓN
 - Métodos cualitativos detectan proteína de la nucleocápside
 - ANTICUERPOS IgM , IgA e IgG
 - Ac IgM detección entre la semana 2 a al 5ta
 - Ac IgG no establecido su duración
 - POST VACUNACIÓN
 - Métodos cuantitativos detectan proteína de la espícula (RBD)
 - ANTICUERPOS IgG
 - CORRELACIÓN CON LOS ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES
- UTILIDAD DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS
 - ESTUDIOS DE SEROPREVALENCIA E INCIDENCIA EN LA POBLACIÓN
 - EVALUACIÓN DE LA PANDEMIA
 - DIAGNÓSTICO TARDÍO O RETROSPECTIVO
 - METODOS DIRECTOS NEGATIVOS



**Muchas
Gracias**

ORIGEN DEL CORONAVIRUS

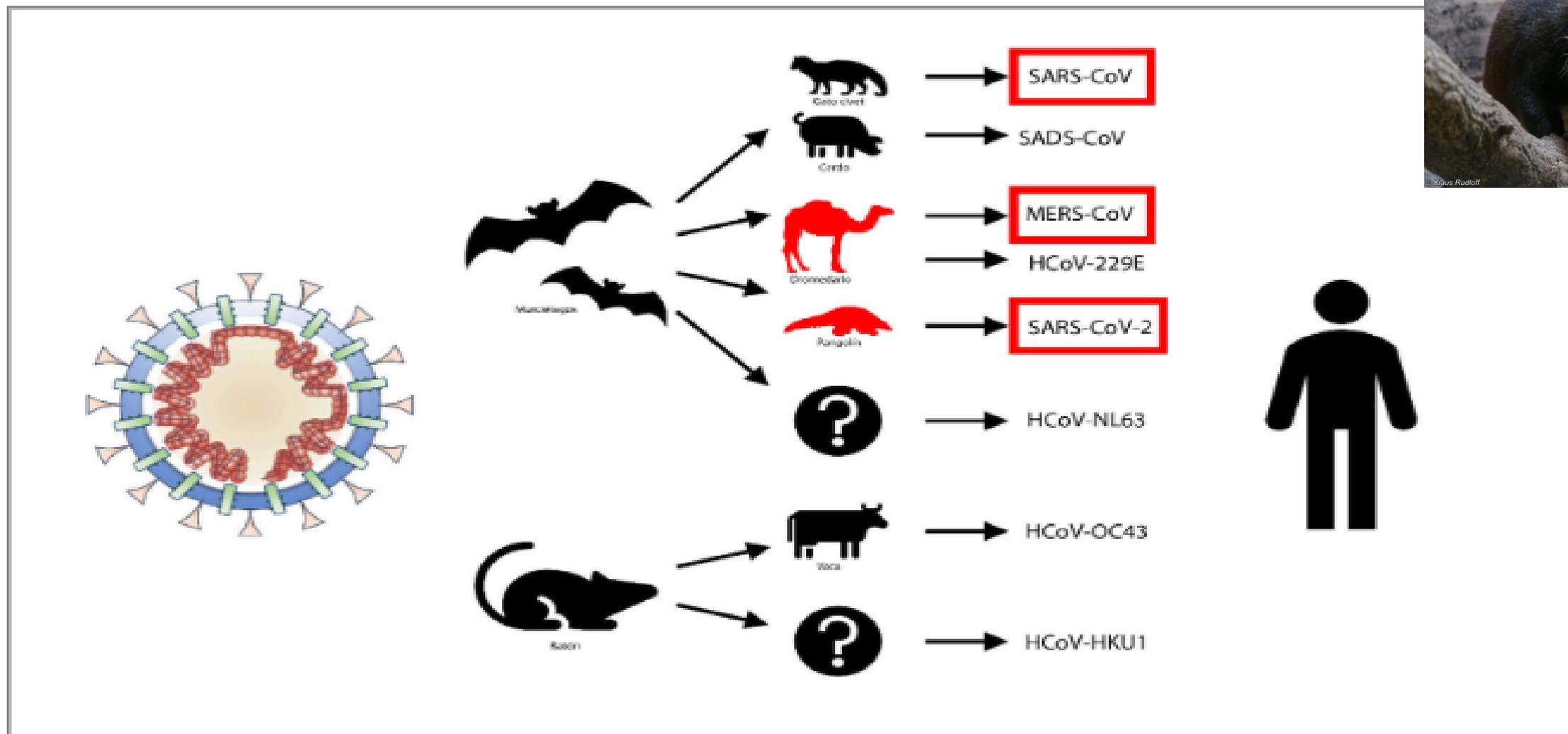


Figura 1. Orígenes animales de los coronavirus humanos.

NIDOVIRALES

