

Original

Jesús García-Cruces¹
Raúl López Izquierdo^{2,3}
Marta Domínguez-Gil⁴
Luis López-Urrutia⁴
Mónica de Frutos⁴
Belén Lorenzo⁴
Begoña Nogueira⁴
Antonio Puerta⁴
Marta Fernández-Esgueva⁴
Irene Merino⁴
María Carmen Ramos-
Sanchez⁴
José María Eiros⁴

Análisis de la demanda de detección de SARS-CoV-2 en un área de salud de España

¹Servicio de Medicina Preventiva y Epidemiología. Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid. España

²Servicio de Urgencias. Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid. España.

³Departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia. Universidad de Valladolid. España.

⁴Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid. España.

Article history

Received: 4 August 2020; Revision Requested: 1 September 2020; Revision Received: 3 September 2020;

Accepted: 7 September 2020; Published: 16 September 2020

RESUMEN

Introducción. Desde el descubrimiento del virus SARS-CoV-2 la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) se ha convertido en el método fundamental para el diagnóstico de la enfermedad en su fase aguda. El objetivo es describir la serie basada en la demanda de determinaciones de RT-PCR recibidas en un Servicio de Microbiología en un hospital de tercer nivel de referencia durante tres meses desde el inicio de la epidemia por SARS-CoV-2.

Material y métodos. Se realizó un análisis retrospectivo del total de las RT-PCR solicitadas en el servicio de microbiología analizado desde el 25 de febrero de 2020 al 26 de mayo de 2020 (90 días). Se agruparon por semanas epidemiológicas y servicio peticionario. Se realizó un análisis descriptivo por edad, género y número de solicitudes por paciente. Se consideró significativo un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

Resultados. Se recibieron un total de 27.106 de solicitudes que correspondían a 22.037 pacientes. Edad mediana 53,7 (RIC 40,9-71,7) años, mujeres: 61,3%. Proporción de pacientes con alguna RT-PCR positiva: 14%. Del total de peticiones de RT-PCR fueron positivas 3.710. La rentabilidad máxima fue la semana epidemiológica 13, con un 39,0%. El servicio peticionario que más RT-PCR ha solicitado de forma global ha sido atención primaria con 15.953 solicitudes. Pacientes con 3 o más RT-PCR: 565, de ellos, 19 pacientes presentaron un resultado positivo tras haber sido negativos.

Conclusiones. Las solicitudes han ido aumentando en función de la evolución de la epidemia. La RT-PCR posee un elevado rendimiento diagnóstico en las fases de mayor contagiosidad y/o transmisibilidad del virus.

Palabras Clave. SARS-CoV-2; diagnóstico; Epidemia

Correspondencia:

Raúl López Izquierdo.

Servicio de Urgencias Hospital Universitario Río Hortega.

Dulzaina nº 2, 47012. Valladolid. España.

E-mail: rlopeziz@saludcastillayleon.es

Analysis of the demand for detection of SARS-CoV-2 in a health area of Spain

ABSTRACT

Introduction. Since the discovery of the SARS-CoV-2 virus, the polymerase chain reaction technique (RT-PCR) has become the fundamental method for diagnosing the disease in its acute phase. The objective is to describe the demand-based series of RT-PCR determinations received at a Microbiology Service at a third-level reference hospital for a health area for three months spanning from the onset of the epidemic by SARS-CoV-2.

Methods. A retrospective analysis of the total of the RT-PCR requested in the Microbiology Service analyzed from 02/25/2020 to 05/26/2020 (90 days) has been carried out. They have been grouped by epidemiological weeks and by the petitioner service. A descriptive analysis was carried out by age, gender and number of requests for each patient. In the tests carried out, a confidence level of 95% ($p < 0.05$) was considered significant.

Results. A total of 27,106 requests was received corresponding to 22,037 patients. Median age 53.7 (RIC 40.9-71.7) years, women: 61.3%. Proportion of patients with any positive RT-PCR: 14%. Of the total requests for RT-PCR, positive 3,710. Week 13 had the highest diagnosis performance (39.0%). The primary care has been the service that has made the most requests (15,953). Patients with 3 or more RT-PCR: 565, of them, 19 patients had a positive result after previously having a negative one.

Conclusions. Requests have been increasing depending on the evolution of the epidemic. The RT-PCR has a high diagnostic performance in the phases of highest contagiousness and / or transmissibility of the virus.

Key-words: SARS-CoV-2; diagnosis; epidemic

INTRODUCCIÓN

El primer caso de enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) debido a la infección por el denominado Coronavirus-2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) fue identificado en China en diciembre de 2019. Desde entonces su extensión ha sido continua por todo el mundo y con especial impacto en nuestro país en términos de morbimortalidad, afectando a alrededor de trescientos mil personas hoy en día [1, 2]. La aparición del SARS-CoV-2 supone un enorme reto para la comunidad científica y médica en general; a pesar de haber sido identificado y descrito tan solo hace seis meses, la información clínica disponible es muy profusa y rápidamente disponible.

Aunque todavía es pronto en el marco de la pandemia y mucha de la información disponible es preliminar, podemos afirmar que se trata de una nueva enfermedad con manifestaciones clínicas muy dispares y difíciles de asociar a un único mecanismo patogénico [3].

El método que mayor rentabilidad diagnóstica ofrece para realizar la identificación virológica del SARS-CoV-2 es su detección molecular mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta modalidad de diagnóstico directo se basa en la amplificación del material genético del virus y su posterior detección por múltiples métodos, en su mayoría enfocados en la identificación de genes como el de la polimerasa (RdRp), gen E y gen N del virus [4, 5].

La técnica diagnóstica de la PCR para determinación del ARN viral de muestras obtenidas mediante frotis nasofaríngeo y/o orofaríngeo ha emergido como la base para el manejo inicial de la enfermedad en nuestro medio y en la práctica clínica habitual, tanto desde el punto de vista epidemiológico como diagnóstico y terapéutico e incluso, como aproximación al pronóstico y evolución de la enfermedad [6-9]. En el momento actual se desconoce de qué manera han ido evolucionando las determinaciones de PCR de SARS-CoV-2 (RT-PCR) a lo largo del tiempo desde un punto de vista demográfico en función de las semanas epidemiológicas a partir del inicio de la epidemia en nuestro país; conocer estos aspectos relacionados con la enfermedad podría ayudar a valorar el comportamiento del virus en una población y al control de futuros brotes epidémicos [10]. El objetivo de la presente contribución es describir una serie basada en la demanda de determinaciones de RT-PCR recibidas en un Servicio de Microbiología en un hospital de tercer nivel de referencia para un área sanitaria de Castilla y León, con una población asignada de alrededor de 250.000 habitantes durante tres meses que abarcan el inicio de la pandemia por SARS-CoV-2.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un análisis retrospectivo del total de las RT-PCR. Solicitadas y realizadas en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid desde el 25 de febrero de 2020 hasta el 26 de mayo de 2020, analizando el global de determinaciones realizadas agrupando, por la sema-

na epidemiológica y el servicio peticionario: Atención Primaria (AP), el Servicio de Urgencias Hospitalario (SUH), Centros hospitalarios ajenos al propio hospital, Servicios de hospitalización, consultas hospitalarias y el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales (SPRL) adscrito a nuestro Hospital. Se estudiaron el total de pacientes a los que pertenecían las solicitudes realizadas, llevando a cabo un análisis descriptivo por edad, género y número de solicitudes de cada paciente.

Se realizó un análisis de aquellos pacientes a los que se les había hecho más de 3 determinaciones RT-PCR a lo largo del estudio y habían presentado un resultado positivo tras haber negativizado previamente en alguna de las pruebas realizadas anteriormente.

Las técnicas de PCR que se han ido implementando de modo cronológico fueron "Liferiver" (ZJ Bio-tech, Shanghai) [11], "Allplex, 2019-nCoV Assay" (Seegene Inc, Seúl, Korea) [12], "Cobas SARS-CoV-2 (RocheMolecular Systems, Inc, Branchburg, NJ, USA) [13] y "GeneFinder" Covid-19 Plus (Osang Healthcare Co Ltd, Gyeonggi-do, Korea) [14]

Toda la información se almacenó en una base de datos EXCEL finalmente tras la depuración de los datos mediante pruebas para determinar valores extremos; se llevó a cabo el análisis estadístico mediante el paquete SPSS 20.00 (SPSS Inc®, Chicago Ill, EE. UU.), con el que se realizó el análisis estadístico posterior. Las variables cuantitativas continuas se han descrito como mediana y rango si la distribución, al no seguir una distribución normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias absolutas y relativas (%). Para la comparativa de variables cuantitativas se utilizó la prueba de U-de-Mann-Whitney. Se utilizó la prueba de la chi-cuadrado para tablas de contingencia 2x2 o y contraste de proporciones para estipular la relación asociación o dependencia entre variables cualitativas o la prueba exacta de Fisher, en el caso que más de un 25% de las frecuencias esperadas sean menores de 5. En las pruebas realizadas se consideró significativo un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

RESULTADOS

En el periodo de tiempo evaluado, 90 días, se han solicitado un total de 27.106 RT-PCR que correspondían a 22.037 pacientes, con una edad mediana de 53,7 (RIC 40,9-71,7) años y un porcentaje de mujeres del 61,3%. La proporción global de pacientes con alguna RT-PCR positiva fue del 14% lo que representa un total de 3083 personas. La edad mediana de los pacientes con alguna RT-PCR positiva fue de 65,9 (RIC 49,4-85,5) años mientras que la mediana de los negativos fue de 52,5 (40,0-67,7) años ($p < 0,001$). Según la distribución por sexo, se comprobó que el 13,4% de las mujeres tenía algún positivo frente al 14,9% de los varones ($p < 0,05$).

Del total de determinaciones RT-PCR solicitadas, resultaron positivas 3.710 lo que representa una rentabilidad diagnóstica de la técnica del 13,7%. La primera PCR se solicitó el 25 de febrero de 2020 (semana epidemiológica 9). Entre la semana epidemiológica 9 y 10 se solicitaron 9 RT-PCR, con 1 resultado

Tabla 1 | Distribución temporal de las solicitudes de RT-PCR según las semanas epidemiológicas analizadas

Semana Epidemiológica	AP n (% +)	SUH n (% +)	Centros externos n (% +)	Hospitalización n (% +)	Consulta externa n (% +)	SPRL n (% +)	Total n (% +)
9	0 (0)	0 (0)	6 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (0)
10	0 (0)	1 (100)	0 (0)	2 (50)	0 (0)	0 (0)	3 (33)
11	0 (0)	79 (29,1)	1 (0)	22 (18,2)	1 (100)	1 (100)	104 (27,9)
12	29 (31%)	255 (40,8)	12 (50)	76 (22,4)	13 (15,4)	27 (11,1)	412 (34,2)
13	79 (29,1)	400 (51,5)	60 (28,3)	186 (23,1)	7 (14,3)	27 (22,2)	759 (39,0)
14	116 (33,6)	290 (34,5)	860 (41,7)	186 (24,7)	27 (40,7)	192(20,8)	1.671 (35,6)
15	3.000 (24,8)	363 (20,7)	1.180(31,9)	228 (17,1)	17 (5,9)	234(11,1)	5.022 (25,1)
16	3.514 (7,1)	305 (7,5)	575 (18,4)	197 (17,3)	123 (2,4)	230(12,2)	4.944 (9,0)
17	3.233 (9)	324 (5,2)	180 (11,7)	142 (17,6)	105 (1,9)	217 (4,1)	4.201 (8,7)
18	2.161 (6,4)	349 (6,6)	91 (0)	123 (17,1)	112 (0,9)	257 (1,2)	3.093 (6,0)
19	1.920 (8,2)	343 (6,4)	92 (1,1)	128 (14,1)	180 (1,1)	239 (0,8)	2.902 (7,0)
20	705 (7,7)	335 (3,6)	58 (1,7)	106 (9,4)	235 (1,3)	92 (3,3)	1.531 (5,4)
21	963 (7,4)	361 (2,2)	45 (0)	114 (7,0)	237 (0,4)	190 (0,5)	1.910 (4,7)
22	233 (4,7)	107 (0,9)	24 (0)	39 (7,7)	125 (0)	20 (5)	548 (2,9)
Total	15.953 (11,2)	3.512 (17,5)	3.184(27,9)	1.549 (17,4)	1.182 (2,4)	1.726(7,1)	27.106 (13,7)

AP: atención primaria; SUH: servicio de urgencias hospitalarias; SPRL: servicio de prevención de riesgos laborales; n: numero; %: porcentaje.

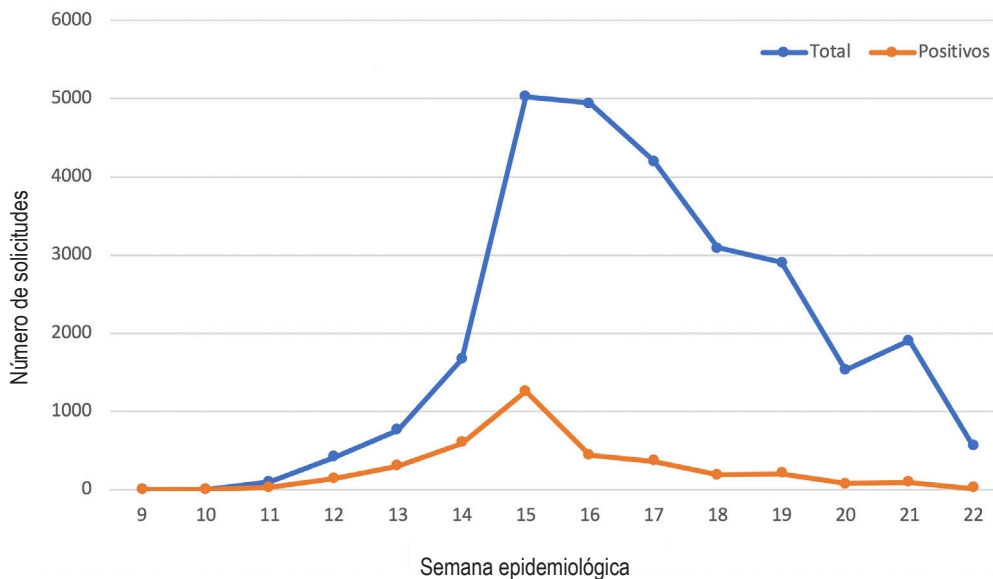


Figura 1 | Total, de solicitudes de RT-PCR de SARS-CoV-2 y positivos en función de la semana epidemiológica.

positivo (4 de marzo de 2020). Las semanas epidemiológicas 15 y 16 fueron las que se realizaron más peticiones: 5.022 y 4.944 respectivamente. La rentabilidad diagnóstica desde la semana epidemiológica 11 fue del 27,9% y fue máxima la semana 13

con un 39,0% de solicitudes positivas. A partir de la semana 16 la rentabilidad diagnóstica fue bajando del 9% hasta el 4,7% en la semana 21, que se correspondió con la última semana completa analizada (Figura 1 y Tabla 1)

Tabla 2 Distribución del número de solicitudes de RT-PCR según el grupo de edad y el sexo en el periodo de tiempo analizado.

Grupo Edad y número de Solicitudes	Total n (%)	Varón n (%)	Mujer n (%)	p
0-10 años				
1 Solicitud	369 (93,9)	181 (94,3)	188 (93,4)	
2 Solicitudes	21 (5,3)	10 (5,2)	11 (5,5)	
3 Solicitudes	2 (0,5)	0 (0)	2 (1)	
4 Solicitudes	1 (0,3)	1 (0,5)	0 (0)	>0,05
11-20 años				
1 Solicitud	460 (89,1)	220 (89,8)	240 (88,6)	
2 Solicitudes	43 (8,3)	18 (7,3)	25 (9,2)	
3 Solicitudes	9 (1,7)	5 (2)	4 (1,5)	
4 Solicitudes	4 (0,8)	2 (0,8)	2 (0,7)	>0,05
21-30 años				
1 Solicitud	1.374 (88,6)	475 (90,1)	899 (87,8)	
2 Solicitudes	134 (8,6)	38 (7,2)	96 (9,4)	
3 Solicitudes	33 (2,1)	11 (2,1)	22 (2,1)	
4 Solicitudes	8 (0,5)	3 (0,6)	5 (0,5)	
5 Solicitudes	1 (0,1)	0 (0)	1 (0,1)	
>=6 Solicitudes	1 (0,1)	0 (0)	1 (0,1)	>0,05
31-40 años				
1 Solicitud	2.421 (85,7)	858 (87,0)	1.563 (85)	
2 Solicitudes	305 (10,8)	88 (8,9)	127 (11,8)	
3 Solicitudes	78 (2,8)	27 (2,7)	51 (2,8)	
4 Solicitudes	15 (0,5)	9 (0,9)	6 (0,3)	
5 Solicitudes	4 (0,1)	3 (0,3)	1 (0,1)	
>=6 Solicitudes	2 (0,1)	1 (0,1)	1 (0,1)	<0,05
41-50 años				
1 Solicitud	3.507 (86,6)	1.315 (85,7)	2.192 (87,2)	
2 Solicitudes	404 (9,9)	149 (9,7)	255 (10,1)	
3 Solicitudes	95 (2,3)	52 (3,4)	43 (1,7)	
4 Solicitudes	32 (0,8)	14 (0,9)	18 (0,7)	
5 Solicitudes	7 (0,2)	3 (0,2)	4 (0,1)	
>=6 Solicitudes	3 (0,1)	2 (0,1)	1 (0)	<0,05
51-60 años				
1 Solicitud	3.443 (84,9)	1.206 (81,9)	2.237 (86,5)	
2 Solicitudes	416 (10,3)	174 (11,8)	242 (9,4)	
3 Solicitudes	141 (3,5)	62 (4,2)	79 (3,1)	
4 Solicitudes	39 (1,0)	23 (1,6)	16 (0,6)	
5 Solicitudes	11 (0,3)	5 (0,3)	6 (0,2)	
>=6 Solicitudes	7 (0,2)	2 (0,1)	5 (0,2)	<0,0001
61-70 años				
1 Solicitud	1.760 (78,5)	759 (75,1)	1.001 (81,3)	
2 Solicitudes	354 (15,8)	170 (16,8)	184 (14,9)	
3 Solicitudes	86 (3,8)	55 (5,4)	31 (2,5)	
4 Solicitudes	23 (1)	11 (1,1)	12 (1)	
5 Solicitudes	10 (0,4)	9 (0,9)	1 (0,1)	
>=6 Solicitudes	9 (0,4)	6 (0,6)	3 (0,2)	<0,001

Tabla 2		Distribución del número de solicitudes de RT-PCR según el grupo de edad y el sexo en el periodo de tiempo analizado. (Cont.)		
Grupo Edad y número de Solicitudes	Total n (%)	Varón n (%)	Mujer n (%)	p
71-80 años				
1 Solicitud	1.312 (74,6)	641 (71,9)	671 (77,4)	
2 Solicitudes	301 (17,1)	169 (19,0)	132 (15,2)	
3 Solicitudes	93 (5,3)	51 (5,7)	42 (4,8)	
4 Solicitudes	23 (1,3)	9 (1)	14 (1,6)	
5 Solicitudes	16 (0,9)	12 (1,3)	4 (0,5)	
>=6 Solicitudes	13 (0,7)	9 (1)	4 (0,5)	<0,05
81-90 años				
1 Solicitud	1.831 (76,9)	671 (74,0)	1.160 (78,7)	
2 Solicitudes	372 (15,6)	147 (16,2)	225 (15,3)	
3 Solicitudes	120 (5,0)	60 (2,5)	60 (9,4)	
4 Solicitudes	42 (1,8)	23 (2,5)	19 (2,5)	
5 Solicitudes	10 (0,4)	4 (0,4)	6 (0,4)	
>=6 Solicitudes	6 (0,4)	2 (0,2)	4 (0,3)	<0,05
91-99 años				
1 Solicitud	953 (81,2)	240 (79,5)	713 (81,9)	
2 Solicitudes	164 (14,0)	48 (15,9)	116 (13,3)	
3 Solicitudes	36 (3,1)	10 (3,3)	26 (3,0)	
4 Solicitudes	11 (0,9)	1 (0,3)	10 (1,1)	
5 Solicitudes	8 (0,7)	3 (1)	5 (0,6)	
>=6 Solicitudes	1 (0,1)	0 (0)	1 (0,1)	>0,05
>=100 años				
1 Solicitud	38 (84,4)	5 (100)	33 (82,5)	
2 Solicitudes	6 (13,3)	0 (0)	6 (15,0)	
3 Solicitudes	1 (2,2)	0 (0)	1 (2,5)	>0,05
Desconocida				
1 Solicitud	997 (95,6)	419 (92,7)	578 (97,8)	
2 Solicitudes	39 (3,7)	29 (6,4)	10 (1,7)	
3 Solicitudes	6 (0,6)	4 (0,9)	2 (0,3)	
4 Solicitudes	1 (0,1)	0 (0)	1 (0,2)	<0,0001
Todos los grupos edad				
1 Solicitud	18.465 (83,8)	6.990 (82,0)	1.475 (85,9)	1
2 Solicitudes	2.559 (11,6)	1.040 (12,2)	1.519 (11,2)	
3 Solicitudes	700 (3,2)	337 (4,0)	363 (2,7)	
4 Solicitudes	199 (0,9)	96 (1,1)	103 (0,8)	
5 Solicitudes	67 (0,3)	39 (0,5)	28 (0,2)	
>=6 Solicitudes	42 (0,2)	22 (0,3)	20 (0,1)	
Total	22.032 (100)	8.524 (38,7)	13.508 (61,3)	<0,0001

Las solicitudes se agruparon en función de su procedencia desde las requeridas por atención primaria (AP), el servicio de urgencias hospitalarias (SUH), hospitalización, centros externos hospitalarios y el servicio de prevención de riesgos laborales (SPRL). El servicio que más RT-PCR ha solicitado de forma global ha sido atención primaria con 15.953 solicitudes lo que representa el 58,9% del total, seguido del SUH (13,0%) y centros externos (11,7%). Desde la semana 9 hasta la 14 las RT-PCR se realizaron desde el SUH, mientras que a partir de la semana 15 la gran mayoría de las peticiones fueron realizadas

por el servicio de AP que globalmente presentó una rentabilidad diagnóstica del 11,2%. Los centros externos del centro hospitalario hicieron solicitudes de forma más llamativa desde la semana 14 (860) hasta la 16 (575) siendo su rendimiento diagnóstico el más elevado (27,9%). Las solicitudes del SUH se han mantenido muy constantes desde la semana 12; esa semana se solicitaron 255 con un 40,8% de positivos, mientras que la semana epidemiológica 13 fueron 400 peticiones con un 51,5% de positivos; la rentabilidad diagnóstica en el servicio de urgencias descendió paulatinamente hasta la semana

Tabla 3 Análisis de los pacientes a los que se ha solicitado cinco o más solicitudes

Número de solicitudes	Todas PCR negativas	Alguna PCR positiva	Total
	N (%)	N (%)	N (%)
5	26 (38,8)	41 (61,2)	67 (61,5)
6	7 (26,9)	19 (73,1)	26 (23,9)
7	1 (10)	9 (90)	10 (9,2)
8	0 (0)	3 (100)	3 (2,8)
9	0 (0)	2 (100)	2 (1,8)
15	0 (0)	1 (100)	1 (0,9)
Total	34 (31,2)	75 (68,8)	109 (100)

PCR: reacción en cadena de la polimerasa; n: numero; %: porcentaje.

epidemiológica 22 que en la que se observaron un 0,9% de solicitudes positivas (Tabla 1).

Se realizó un análisis de los individuos a los que se les había solicitado más de una RT-PCR, observándose que a 18.470 (83,8%) personas se les realizó una única RT-PCR, a 2.559 sujetos (11,6%) dos solicitudes, a 700 personas (3,2%) tres solicitudes y a 42 (0,2%) personas 6 o más solicitudes; el máximo de RT-PCR realizadas en el periodo de estudio a un único paciente fue de 15. En el análisis por edad, sexo y número de RT-PCR realizadas por persona se ha observado que en todos los grupos se han hecho más solicitudes en el grupo de las mujeres mientras que de forma proporcional es a los varones a los que se les ha solicitado un mayor número de RT-PCR por persona; se ha descrito que existen variaciones según los grupos de edad analizados (Tabla 2).

En la Tabla 3 se muestra la distribución de los pacientes a los que se ha solicitado 5 o más RT-PCR observándose que a 67 personas se ha solicitado 5 PCR, de ellas 26 (38,8%) tenían todas las RT-PCR negativas, este porcentaje baja al 26,9% entre los que se han solicitado 6 RT-PCR y al 10% entre los que tienen 7 RT-PCR, mientras que en aquellos pacientes con 8, 9, y 15 RT-PCR realizadas (6 personas), todos han tenido algún positivo. El 56% del total de esta sub-muestra eran varones con una edad mediana de 70,1 (55,7-80,9) años.

Finalmente se han analizado a los pacientes a los que se les ha realizado 3 o más RT-PCR y han presentado el algún momento un resultado positivo, para después negativizar y volver a positivizarse posteriormente. De los 565 pacientes analizados con 3 o más RT-PCR y algún resultado positivo en 19 de ellos se ha presentado este fenómeno, con una edad mediana de 65,4 (RIC 48,0-85,8) años frente a los 58,5 (RIC 46,0-74,8) años del resto siendo varones 10 pacientes (52,6%) ($p > 0,05$). La edad mediana de los varones en los que se observó este hallazgo fue de 69,3 (RIC 46,0-85,9) años mientras que en el grupo de mujeres bajaba a los 50,3 (RIC 47,8-81,8) años, sin observarse diferencias significativas entre ambos grupos ($p > 0,05$). El porcentaje de paciente entre los que se observó este hallazgo fue subiendo desde el 0,8% entre los pacientes

a los que se solicitaron 3 RT-PCR hasta el 6%, 7,3% y 17,6% entre los pacientes a los que se solicitaron 4, 5 y 6 o más RT-PCR respectivamente.

DISCUSIÓN

La enfermedad por Coronavirus ha supuesto un auténtico reto para los sistemas de salud y su aparición ha condicionado la actividad asistencial en la mayoría de los países y organizaciones, transformándose en un complejo problema que excede con creces al ámbito estrictamente sanitario [1, 2].

Desde el descubrimiento del virus, las técnicas de detección molecular basadas en PCR se han convertido en el método diagnóstico más fiable para determinar tanto un individuo con infección activa de un paciente como la posibilidad de que esa

persona transmitiera la enfermedad [6-9]. Sin embargo, con los datos que exponemos se pone de manifiesto que, en nuestro medio, al inicio de la epidemia la solicitud de la RT-PCR se limitó a un determinado perfil de pacientes que tenían que cumplir una serie de criterios clínicos y epidemiológicos, lo que supuso una gran restricción de estas solicitudes. No sería hasta la semana epidemiológica 11 (9 de marzo de 2020), coincidiendo con la declaración del estado de alarma en nuestro país y la existencia de una transmisión comunitaria continuada en muchas zonas cuando se produjo un cambio en el criterio de solicitud de las PCR, convirtiéndose éste en el criterio clínico, lo cual determinó que el número de PCR a la semana se multiplicase por 10 al igual que los diagnósticos de enfermos.

Inicialmente durante las primeras cuatro semanas de epidemia las solicitudes de PCR fueron realizadas tanto por los SUH como por centros hospitalarios ajenos, lo que evidenció, por una parte, que los SUH fueron los que en esos momentos iniciales realizaron la mayor parte de los diagnósticos en nuestra área de salud y, por otra parte, respondía al hecho de que centros hospitalarios de otras áreas de salud que no tenían la capacidad diagnóstica remitían sus solicitudes a centros diagnósticos de referencia.

Otro punto de inflexión que tuvo lugar en muestra área de salud fue la puesta en marcha de una tecnología capaz de atender la demanda de 700 RT-PCR al día, lo que permitió que a partir de la semana 15, (es decir 4 semanas después del inicio de la epidemia) cuando desde Atención Primaria se tuvo acceso a la solicitud de esta prueba de forma masiva, se pasó a realizar de forma global alrededor de 5.000 RT-PCR/semana [13].

Uno de los hechos que se ha analizado consistió en evaluar el rendimiento diagnóstico de la prueba, que fue muy elevado entre las semanas epidemiológicas 12-16, lo que evidencia que en un medio en el que existe una transmisión comunitaria continuada esta técnica detecta un porcentaje muy elevado de infectados, por lo que hoy en día se hace imprescindible para la detección y control de la infección. Teniendo en cuenta los periodos de incubación de la infección que actualmente se describen con un valor mediano de 5-6 días y

un máximo de 14 días [15], cabe apuntar que el SARS CoV-2 inició su circulación sobre la semana epidemiológica 9-10 o incluso antes; tal vez ese tendría que haber sido el momento de comenzar con una búsqueda activa del mismo y tal vez implementar restricciones más intensas a la circulación de personas que provenían en ese momento de las zonas de mayor riesgo. Actualmente se sabe que la transmisión de la infección entre las personas sintomáticas comienza 1-2 días antes del inicio de los síntomas, y se asume que los asintomáticos siguen un patrón muy similar [16, 17]. Todo ello unido al hecho de que las transmisiones más importantes se producen a nivel familiar o en contactos íntimos [18], y el conocimiento de que el número máximo de reproducción a nivel nacional (R_0) fue máximo entre los días 27 de febrero de 2020 y el 2 de marzo de 2020 [19]. En nuestro caso son dos semanas después a las señaladas con anterioridad cuando la técnica de la RT-PCR obtiene un mayor rendimiento diagnóstico

Con estos hallazgos creemos que en el momento actual de la epidemia habría que mantener una búsqueda activa del virus, lo que puede optimizar la vigilancia epidemiológica y, si somos capaces de identificar nuevos pacientes, cabría inferir que cuando el rendimiento sube podríamos adelantarnos a la expansión del virus. Nuestros datos ponen de relieve que la infección se contiene cuando el rendimiento de la técnica se sitúa por debajo del 5%, aspecto que en este primer brote epidémico se ha prolongado durante 90 días. Es evidente que las medidas de aislamiento social de casos y contactos y la búsqueda exhaustiva de los infectados es la primera medida que cabe abordar para evitar acciones tendentes a un mayor confinamiento social como las adoptadas en nuestro país a partir del 14 de marzo y que prácticamente han durado 3 meses desde su inicio [13]

En el análisis de los pacientes a los que se solicitó esta prueba llama especialmente la atención que la gran mayoría de los pacientes fueron mujeres, pero la prevalencia de positivos fue mayor entre los varones [20]. Además, los positivos fueron significativamente personas de mayor edad, que representan el colectivo de mayor riesgo [18,19]. A la gran mayoría de los pacientes sólo se les solicitó una RT-PCR pero hemos documentado un número muy importante de individuos a los que se solicitaron 2, 3, 4 o más RT-PCR, llegando a 15 determinaciones a uno de los pacientes, datos similares a lo publicado en otras series [21]. Desde el punto de vista clínico, aunque inicialmente se estableció el criterio de repetir la RT-PCR entre los infectados que habían ingresado para poder realizar el alta hospitalaria, este criterio fue eliminado en el momento en que la infección se expandió, por lo que actualmente el único criterio sería el de valorar la posible infectividad de la persona positiva. Se observa que las repeticiones aumentan en los pacientes de mayor edad y pacientes varones: dichas pruebas repetidas, seguramente estén condicionadas por la posible gravedad de estos pacientes. Entre los pacientes más graves la carga viral es mucho mayor que en los pacientes asintomáticos u oligosintomáticos, por lo que es normal que inicialmente el número de repeticiones de RT-PCR aumentara entre estos individuos; otro hecho que ha podido condicionar estas solicitudes repetidas

entre la población anciana es que muchos de ellos seguramente residan en instituciones cerradas; dicho colectivo, como se ha demostrado, constituye uno de los de mayor riesgo con cifras de mortalidad muy superiores a las resto de la población y establecer que un residente no pueda transmitir la infección, resulta fundamental [22].

Un hallazgo que hemos constatado, ya descrito por otros autores [23-26], es que un número muy pequeño de pacientes en los que se han hecho PCR seriadas tras haber negativizado la PCR, vuelve a ser positiva en alguna PCR posterior; esta es una situación que puede tener una gran trascendencia, ya que estos pacientes, aun siendo pocos, una vez que los calificamos como negativos, las medidas de protección en muchos casos se hacen más laxas o desaparecen; sobre este aspecto se han publicado trabajos contradictorios en cuanto a la infectividad de estos pacientes [26]. En las series en las que se ha estudiado este fenómeno la carga viral observada es muy baja o indetectable, sin que parezca que pueda haber repercusión clínica [25]. Sí parece que este pequeño grupo de pacientes "re-positivos" son mayores, con una edad cercana a los 70 años. Son necesarios más estudios para poder conocer las características de estos pacientes y poder valorar su significado tanto desde el punto de vista clínico como microbiológico o epidemiológico.

La mayor limitación de nuestro estudio es que se trata de un análisis retrospectivo de un registro, llevado a cabo en un único servicio de microbiología, esto dificulta la extrapolación de los resultados obtenidos.

En conclusión, la demanda de solicitudes de la prueba de la RT-PCR fue incrementándose progresivamente a lo largo de las semanas epidemiológicas en función del brote y la disponibilidad y/o accesibilidad de la misma. Por otra parte, la rentabilidad diagnóstica de la misma ha ido evolucionando, siendo más elevada en las fases de mayor contagiosidad y/o transmisibilidad del virus. Finalmente hemos constatado la existencia de un reducido grupo de individuos que vuelven a ser positivos tras un período de negatividad sin que podamos actualmente dilucidar o esclarecer el papel que puedan desempeñar, entre otros, en la transmisibilidad del virus.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran que no han recibido financiación para la realización de este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses

BIBLIOGRAFÍA

1. Coronavirus Update (Live): 10,824,258 Cases and 519,313 Deaths from COVID-19 Virus Pandemic - Worldometer n.d. <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (accessed 2 July 2020).

2. Home. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center <https://coronavirus.jhu.edu/>. (accessed 2 July 2020).
3. Pirofski L-A, Casadevall A. 2020. Pathogenesis of COVID-19 from the perspective of the damage-response framework. *mBio* 11: e01175-20. doi: 10.1128/mBio.01175-20.
4. Younes N, Al-Sadeq DW, Al-Jighefee H, Younes S, Al-Jamal O, DAAS HI et al. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses*. 2020; 12: E582. doi:10.3390/v12060582.
5. CDC 2019–Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel. CDC-006-00019, Revision: 05. 07/13/2020. Disponible en www.fda.gov/media/134922/download. (accessed 26 July 2020)
6. Patel R, Babady E, Theel ES, Storch GA, Pinsky BA, St. George K, Smith TC, Bertuzzi S. 2020. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of diagnostic testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio* 11: e00722-20. doi: 10.1128/mBio.00722-20.
7. Kai-Wang K, Tak-Yin O, 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; 20: 565–574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.
8. Suo T, Liu X, Feng J, Guo M, Hu W, Guo D. et al. ddPCR: a more accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9. doi: 10.1080/22221751.2020.1772678.
9. 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: 1177–79. doi: 10.1056/NEJMc2001737.
10. CDC. Coronaviqrus Disease 2019 (COVID-19). Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/if-you-are-sick/end-home-isolation.html (2020). (accessed 13 July 2020)
11. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real Time Multiplex RT-PCR Kit (Detection of 3 Genes). Disponible en www.mobitec.com/products/in-vitro-diagnostics/real-time-pcr-diagnostic-kits/10200/novel-coronavirus-2019-ncov-real-time-multiplex-rt-pcr-kit-detection-of-3-genes. (accessed 29 July 2020)
12. Allplex™ 2019-nCoV Assay. Disponible en www.seegene.com/press_release/seegene_s_allplex_2019_ncov_assay_receives_fda_emergency_use_authorization_2020. (accessed 29 July 2020)
13. The cobas® SARS-CoV-2 Test <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/cobas-sars-cov-2-test.html>. (accessed 29 July 2020)
14. GeneFinder™ COVID - 19 PLUS Real Amp Kit <http://www.listarfish.it/media/ifmr-45-covid-19-realamp-plus-kitfull-manualv1ivd.pdf>. (accessed 29 July 2020)
15. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med.* 2020; 172:577-582. doi:10.7326/M20-0504
16. Anderson RM, Heesterbeek H, Klinkenberg D, Hollingsworth TD. How will country-based mitigation measures influence the course of the COVID-19 epidemic?. *Lancet.* 2020; 395: 931-934. doi:10.1016/S0140-6736(20)30567-5.
17. Hellewell JM, Abbott S, Gimma A, Bosse NI, Jarvis CI, Russell TW et al. Feasibility of controlling COVID-19 outbreaks by isolation of cases and contacts [published correction appears in *Lancet Glob Health.* *Lancet Glob Health.* 2020; 8: e488-e496. doi:10.1016/S2214-109X(20)30074-7.
18. World health Organization. Report of WHO. China Joint Mission Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Disponible en: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>. (accessed 29 July 2020)
19. Centro de coordinación de alertas y emergencias sanitarias. Ministerio de Sanidad. Información científica-técnica Enfermedad por coronavirus, COVID-19. Actualización 3 de Julio del 2020. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/ITCoronavirus.pdf>. (accessed 29 July 2020)
20. Borobia AM, Carcas AJ, Arnalich F, Alvarez-Sala R, Montserrat J, Quintana M et al. A Cohort of Patients with COVID-19 in a Major Teaching Hospital in Europe. *J Clin Med.* 2020; 9: 1733. Published 2020 Jun 4. doi:10.3390/jcm9061733.
21. Agarwal V, Venkatakrisnan AJ, Puranik A, Kirkup C, Lopez-Marque A, Douglas W et al. Long-term SARS-CoV-2 RNA Shedding and its Temporal Association to IgG Seropositivity. Preprint. medRxiv. 2020;2020.06.02.20120774. doi:10.1101/2020.06.02.20120774.
22. Fisman DN, Bogoch I, Lapointe-Shaw L, McCreedy J, Tuite AR. Risk Factors Associated With Mortality Among Residents With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Long-term Care Facilities in Ontario, Canada. *JAMA Netw Open.* 2020; 3: e2015957. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.15957.
23. Xing Y, Mo P, Xiao Y, Zhao O, Zhang Y, Wang F. Post-discharge surveillance and positive virus detection in two medical staff recovered from coronavirus disease 2019 (COVID-19), China, January to February 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25: 2000191. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000191.
24. Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y et al. Positive RT-PCR Test Results in Patients Recovered From COVID-19. *JAMA.* 2020; 323: 1502-1503. doi:10.1001/jama.2020.2783.
25. Young BE, Ong SWX, Kalimiddin S, Low JG, Tan SY, Loh J et al. *JAMA.* 2020; 323: 1488-1494. doi:10.1001/jama.2020.3204.
26. Korea Centers for Disease Control & Prevention. Finding from investigation and analysis of re-positive cases. Disponible en https://is.cdc.go.kr/upload_comm/syview/doc.html?fn=159118745823700.pdf&trs=/upload_comm/docu/0030/. (accessed 22 July 2020).