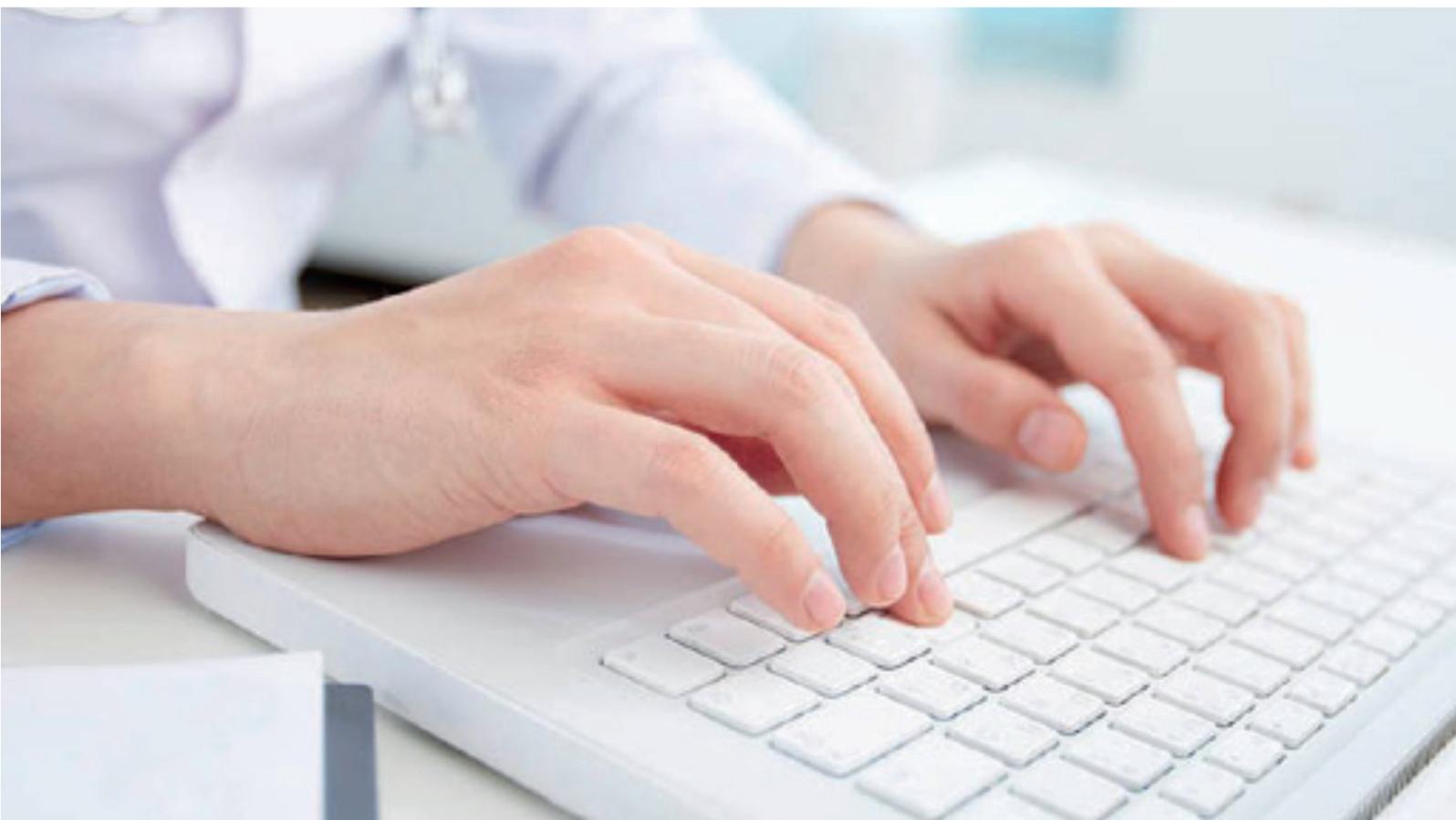
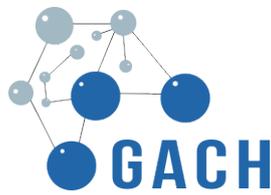


INFORME N° 3

ASPECTOS BIOMEDICOS BÁSICOS





Grupo: ASPECTOS BIOMÉDICOS BÁSICOS – INFORME 3

Fecha: 30/05/20

Participantes: Alonso L., Arbiza J., Barrios E. Colina R., Hortal M., Mizraji E., Pritsch O.

Invitado:

Coordinador del equipo: Barrios E.

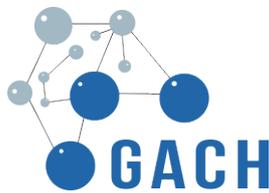
El presente informe intenta responder a las solicitudes recibidas desde los Coordinadores, a saber: I. Estrategias de testeo en la frontera en virtud de la situación emergente particularmente en el departamento de Rivera, II. análisis sobre test serológicos y III. Secuenciación del genoma viral (como reporte de seguimiento de un tema no incluido en los otros segmentos).

1. Estrategias de testeo en la zona de frontera.

En relación al testeo en zonas de fronteras, en el actual escenario epidemiológico corresponde hacer las siguientes consideraciones:

- El testeo constituye un pilar fundamental en el marco de la investigación de brotes o clusters de casos.(1,2)
- Para ello aplican determinados métodos generales y procedimientos específicos recomendados para brotes y clusters de COVID-19.
- En base a ellos, el testeo tiene indicación principalmente en la confirmación de casos sospechosos que surgen del contacto con casos previamente confirmados. (1)
- En forma más amplia existen tres formas por las cuales el testeo colabora con el control de COVID-19 (3)

1) En primer lugar, a través de una estrategia robusta y efectiva de identificación, seguimiento y testeo (también expresado como TTT, del inglés “Testing, tracking and tracing”. Se considera que la aplicación de una estrategia de TTT, implementada adecuadamente, permite mantener la epidemia bajo control en el corto plazo, evitando la necesidad de implementar medidas más restrictivas (de tipo “lockdown”.



Este tipo de abordaje también provee información clave para comprender y caracterizar la dinámica de transmisión en la epidemia.(3)

2) En segundo lugar, el uso de técnicas serológicas dirigidas a poblaciones prioritarias específicas (por ej. personal de salud y de servicios esenciales). Este abordaje permite conocer su estatus en términos de inmunidad, por ejemplo, para facilitar el reintegro laboral. Potencialmente, este abordaje también podría aplicarse a poblaciones más amplias para orientar la toma de decisión en relación a aperturas graduales. Para que esta estrategia aporte insumos confiables y robustos debe basarse en una metodología adecuada, y considerar la performance de la prueba seleccionada. (3)

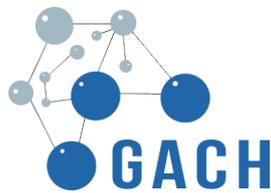
3) En tercer lugar, una vez que exista disponibilidad de test serológicos confiables en términos de performance, estos podrán utilizarse a escala poblacional por ejemplo para la realización de estudios de seroprevalencia. Esta información también permite complementar el monitoreo de la situación epidemiológica y por ende la toma de decisión en relación a re apertura.(3)

Nota: En el ítem II de este informe se analiza con más detalle el tema de los test serológicos. Algunas referencias bibliográficas pueden reiterarse en ítems sucesivos, lo hemos preferido a fin de facilitar su ubicación en el contexto de la redacción de cada segmento.

En algunos casos puede recomendarse la realización de estudios de prevalencia (“point prevalence survey”) basado en pooling de muestras y uso de técnicas de PCR. Esta estrategia fue desarrollada en varios países europeos y la metodología presentada por el ECDC. (4)

- Durante la investigación de casos y contactos, es esencial el testeo de todo caso sospechoso en forma prioritaria. La implementación de medidas de aislamiento y cuarentena de casos y contactos sigue siendo el estándar. A la fecha no existe posicionamiento de las agencias internacionales sobre el testeo de contactos asintomáticos en el contexto de brotes o clusters, si bien se considera el siguiente nivel razonable a desplegar, una vez que el país haya podido satisfacer la demanda de casos graves y ambulatorios sintomáticos. (3)

- Considerando la factibilidad de la ocurrencia de múltiples importaciones a lo largo del tiempo, debe fortalecerse la capacidad de respuesta local, para la realización de investigación de epidemiología de campo, en el cual el diagnóstico deberá garantizarse en forma mínima para todo caso sospechoso. Su ampliación a contactos sintomáticos es altamente recomendable



y podría ser positivo en el caso de contactos asintomáticos, siempre que se garantice la disponibilidad diagnóstica para grupos de mayor prioridad (graves, ingresados, casos sospechosos de grupos prioritarios, casos sospechosos de cualquier grupo, en ese orden).(3)

Desde una perspectiva epidemiológica, es de esperar que se registren múltiples clusters y/o brotes en zona de frontera donde existen pasos terrestres fronterizos con ciudades espejo en las que se registre circulación viral sostenida e intensa.

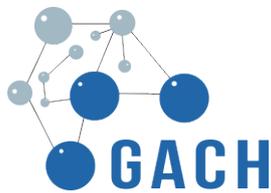
La probabilidad de que esos eventos modifiquen el rumbo de la epidemia en Uruguay está relacionada con el éxito de la estrategia de identificación, rastreo y testeo previamente mencionada.

POOLING TEST en zonas de brotes:

La realización de pools de muestras al azar y/o de contactos con positivos, para luego hacer el testeo por técnicas de biología molecular en zonas donde se registren brotes NO es recomendado ya que habría un riesgo real de informar falsos negativos por los motivos que se pasan a detallar:

- Es fundamental comprender cómo el valor predictivo de la prueba varía con el tiempo entre la exposición y el inicio de los síntomas para evitar resultados falsos negativos. Varios estudios demuestran (en promedio) que durante los primeros 4 días post-contacto con un paciente positivo y antes de la aparición de síntomas al día 5 aproximadamente, la realización de un test tiene un porcentaje de un resultado falso negativo que va desde el 100% en el día 1 al 67% el día 4. En el día del inicio de los síntomas, la tasa media de falsos negativos fue del 38%, promedialmente. Luego, disminuye a 20% en el día 8 (3 días después del inicio de los síntomas), posteriormente comienza a aumentar nuevamente, al 21% en el día 9 y al 66% en el día 21 (5). Estos resultados pueden variar de acuerdo el diseño del muestreo, con lo cual hay que tomarlo conceptualmente y no basarse solo en los números obtenidos.

- Otro aspecto técnico importante, que se suma al anterior, es el factor de dilución de la muestra cuando se realizan pools y la posibilidad real de obtener resultados falsos negativos



en particular de aquellas personas asintomáticas en las cuales su carga viral puede ser muy baja, o que se encuentran dentro de los primeros 4 días post-contacto.

- Esta recomendación es aplicable hoy en día a la ciudad de Rivera, pero también a otras ciudades de frontera con Brasil o en cualquier parte del territorio nacional que puedan comenzar con situaciones similares.

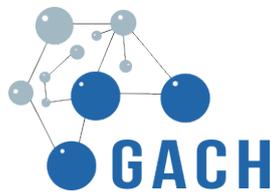
- En suma: en zonas de brotes la realización de test aleatorios y a ser estudiados luego en pools puede llevar a resultados que a su vez generen decisiones erróneas debido a la posibilidad cierta de incrementar la existencia de resultados “falsos negativos”.

Referencias

1. WHO. Considerations in the investigation of cases and clusters of COVID-19. Who2020. 2020;(March):1-4.
2. CDC. Interim Guidance on Developing a COVID-19 Case Investigation & Contact Tracing Plan. 2020; Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/case-investigation-contact-tracing.pdf>
3. OECD. Testing for COVID-19: A way to lift confinement restrictions. 2020;(May):1-21.
4. ECDC. Methodology for estimating point prevalence of SARS-CoV-2 infection by pooled RT-PCR testing. 2020;(May).
5. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variación en la tasa de falsos negativos de las pruebas de SARS-CoV-2 basadas en la reacción en cadena de la transcriptasa inversa por tiempo desde la exposición [publicado en línea antes de la impresión, 13 de mayo de 2020] . Ann Intern Med . 2020; M20-1495. doi: 10.7326 / M20-1495.

II. Test Serológicos

Se utilizan para determinar la presencia de anticuerpos producidos por el sistema inmune de los individuos infectados previamente con SARS-CoV-2.



Dichas pruebas pueden utilizarse para: 1) mejorar el conocimiento sobre la evolución de la epidemia de COVID-19 en función del tiempo mediante estimación de la sero-prevalencia a nivel nacional, por regiones geográficas seleccionadas, o por grupos poblacionales específicos; 2) estimar el nivel de inmunidad adquirida y su duración en el tiempo, para ello aún es necesario comprender mejor la respuesta inmunológica desarrollada contra SARS-CoV-2. (1).

Para la implementación de la utilización de los test serológicos a gran escala, es necesario lograr desarrollos validados que demuestren un adecuado desempeño (performance) (2). Los mismos deben estar disponibles para poder ser utilizados por los diferentes laboratorios y prestadores de salud en Uruguay.

Situación en Uruguay

Existen algunos test serológicos comerciales en los 2 formatos 1) métodos inmunocromatográficos (test rápidos), no requieren equipamiento específico y 2) método de ELISA (requieren equipamiento específico presente en laboratorios clínicos), los cuales están siendo actualmente validados por el Departamento de Laboratorios de Salud Pública (DLSP).

Por otro lado, se formó un consorcio entre la UdelaR- IP Montevideo – ATGen, que a través de un Desafío ANII está finalizando el desarrollo y validación de test serológicos por ELISA, que serán producido enteramente a nivel nacional. Estos test serán validados por el DLSP y registrados en el MSP. La financiación otorgada por la ANII permitirá producir test suficientes para asegurar 50.000 determinaciones. Posteriormente, mediante apoyo del Fondo de Convergencia Estructural del Mercosur (FOCEM) se podrán producir unas 200.000 determinaciones suplementarias. Todos estos test serán entregados sin costo al MSP para su utilización.

Implementación del uso de los test serológicos

Para planificar el uso de test serológicos a mayor escala es imprescindible verificar el desempeño



clínico de los test que serán utilizados (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo). Por otro lado, es necesario organizar la logística de muestreo que para el caso del ELISA requiere: extracción de sangre, trazabilidad, transporte y realización de las pruebas a nivel de laboratorio (equipos, personal formado, etc), comunicación de los resultados.

En Uruguay, se estima que un porcentaje muy bajo de la población haya sido infectada, estando por tanto aún lejos de alcanzar la inmunidad de rebaño.

Usos de Test Serológicos:

1) Uso de test serológicos dirigidos a poblaciones prioritarias específicas:

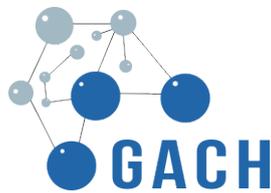
a. en **Personal de la Salud**, para evaluar el grado de inmunidad alcanzada. Un trabajo reciente, realizado en personal de salud en Francia, mostró que casi la totalidad del personal que cursó con formas leves de la enfermedad desarrolló anticuerpos 15 días después del inicio de la enfermedad y que 98% de los mismos presentaban anticuerpos neutralizantes en suero 28 días después, mostrando que aún en las formas leves se generaría inmunidad efectiva durante varias semanas post-infección. (3)

b. en **Personal de Servicios Esenciales**, en particular aquellos en situación de alta conectividad con otras personas (super-spreaders): trabajadores en supermercados, transporte público, policías, etc.

2) Estudios de seroprevalencia a escala poblacional y análisis de evolución de la epidemia:

Mediante un muestreo aleatorio poblacional se podrá estimar la seroprevalencia y evaluar el progreso hacia la inmunidad del rebaño, a nivel nacional o por regiones. Aún en condiciones de baja prevalencia es de interés conocer una línea de base para futuras comparaciones.

El análisis de la inmunidad a nivel poblacional (sero-vigilancia) puede ser de utilidad para



determinar el nivel de anticuerpos requeridos en la inmunidad de rebaño, para identificar grupos de individuos susceptibles (baja o nula concentración de anticuerpos), para evaluar la persistencia y duración de los anticuerpos protectivos. Para COVID 19 la inmunidad de rebaño se alcanzaría con más del 60% de la población inmunizada. (1)

En el futuro, la serovigilancia podría proveer información relevante para planificar estrategias de vacunación, evitando vacunar a aquellos que ya tienen buenos niveles de inmunidad. (4)

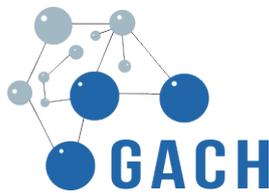
En Alemania, se proponen testar regularmente la inmunidad de 100.000 personas para evaluar el valor potencial de los certificados de inmunidad.

La inmunidad del rebaño es dinámica y puede perderse con el tiempo a través de la disminución de la memoria inmunológica. El análisis de un individuo infectado y recuperado de SARS-CoV en 2002, mostró que 17 años después aún existían en su suero anticuerpos con capacidad de neutralizar el virus (2). SARS-CoV-2 comparte muchas características con CoV-1, pero aún se necesita mejor evidencia para comprender mejor la inmunidad y su estimación mediante los test serológicos.

Nota: un reporte reciente (28/5/20) publicado en Nature (a partir de artículo en el NY Times) revela que los niveles de positividad revelados por los test serológicos en países con altos niveles de infección están lejos de los porcentajes requeridos para generar un efecto rebaño (https://www.nytimes.com/interactive/2020/05/28/upshot/coronavirus-herd-immunity.html?utm_source=Nature+Briefing&utm_campaign=4b56fd8c7f-briefing-dy-20200528&utm_medium=email&utm_term=0_c9dfd39373-4b56fd8c7f-43376897)

3) Análisis de brotes o clusters desarrollados en Uruguay:

Mediante análisis serológico de estos grupos específicos: Por ejemplo, análisis serológico de personas asociadas los eventos: a. Casamiento; b. Hospital Vilardebó; c. ciudad Rivera-Livramento.



Referencias

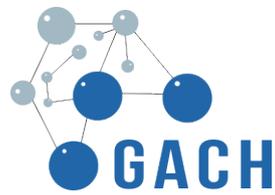
1. OECD. Testing for COVID-19: A way to lift confinement restrictions. 2020;(May):1–21.
2. Petherick, A. (2020), “Developing antibody tests for SARS-CoV-2”, The Lancet, Vol. 395/10230, pp. 1101-1102, [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30788-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30788-1).
3. Samira Fafi-Kremer, et al. Serologic responses to SARS-CoV-2 infection among hospital staff with mild disease in eastern France. MedXriv. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.19.20101832>
4. Wilson, S. et al. (2012), The role of seroepidemiology in the comprehensive surveillance of vaccine-preventable diseases, Canadian Medical Association, <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.110506>.

III. Secuenciación del genoma viral

En estas semanas se ha comunicado la obtención de una secuencia de genoma completo por parte del IIBCE procedente de un paciente del CASMU. Con la colaboración y liderazgo del Dr. Gonzalo Bello del Instituto Oswaldo Cruz de Rio de Janeiro, se ha iniciado una línea de trabajo con el consorcio de secuencias que se ha formalizado en el país (UdelaR, IP, IIBCE, INIA). El Dr. Bello es egresado de la Facultad de Ciencias y tiene amplia experiencia en la Filogeografía, habiendo realizado importantísimos aportes en virus como HIV, Dengue y Zika. Justamente, el trabajo que se ha iniciado tiene un abordaje filogeográfico a partir de las secuencias que ya están disponibles y las que se vayan obteniendo en el futuro. Este tipo de estudio permitirá responder no solo los orígenes de introducción del virus en el país, sino como ha sido su dispersión y si existió adaptación geográfica acompañada de cambios a nivel genético.

- Secuenciación del genoma de cepas obtenidas en la ciudad de Rivera y otras ciudades del país:

En el día de ayer viernes 31 de mayo fueron enviadas 10 muestras positivas detectadas en la ciudad de Rivera a los laboratorios de Genética-Facultad de Ciencias-UdelaR, al Instituto Pasteur y al Instituto Clemente Estable. Serán secuenciados los genomas de los virus presentes en dichas muestras mediante distintas tecnologías por parte de las mencionadas instituciones.



Estos estudios permitirán aportar datos muy importantes para comprender el origen geográfico y temporal del ingreso de SARS-CoV-2 en la zona de Rivera, pero también conocer en profundidad las principales características del genoma viral y su respectiva clasificación respecto a otros ya estudiados a nivel global.

De la misma manera se están secuenciando otras muestras positivas detectadas en otras ciudades del país en distintos momentos, esto permitirá definir las redes de expansión viral en el territorio, así como determinar y construir las cadenas de transmisión. Es fundamental poder obtener dicha información como forma también de generar datos que aportan globalmente a la comprensión de la forma en que el virus está evolucionando y poder estimar por ejemplo si puede llegar a haber una segunda ola de contagios (1).

1. Nature News: <https://www.nature.com/articles/d41586-020-01573-5>