

“La epidemia de la COVID-19; lecciones científicas y médicas”

#DiálogosUNIA

Seminario virtual
sobre el cambio social
tras el coronavirus

Álvaro Pascual

Jefe de Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena
Catedrático de Microbiología. Universidad de Sevilla

Aspectos microbiológico de COVID-19: aprendiendo en “tiempo real”

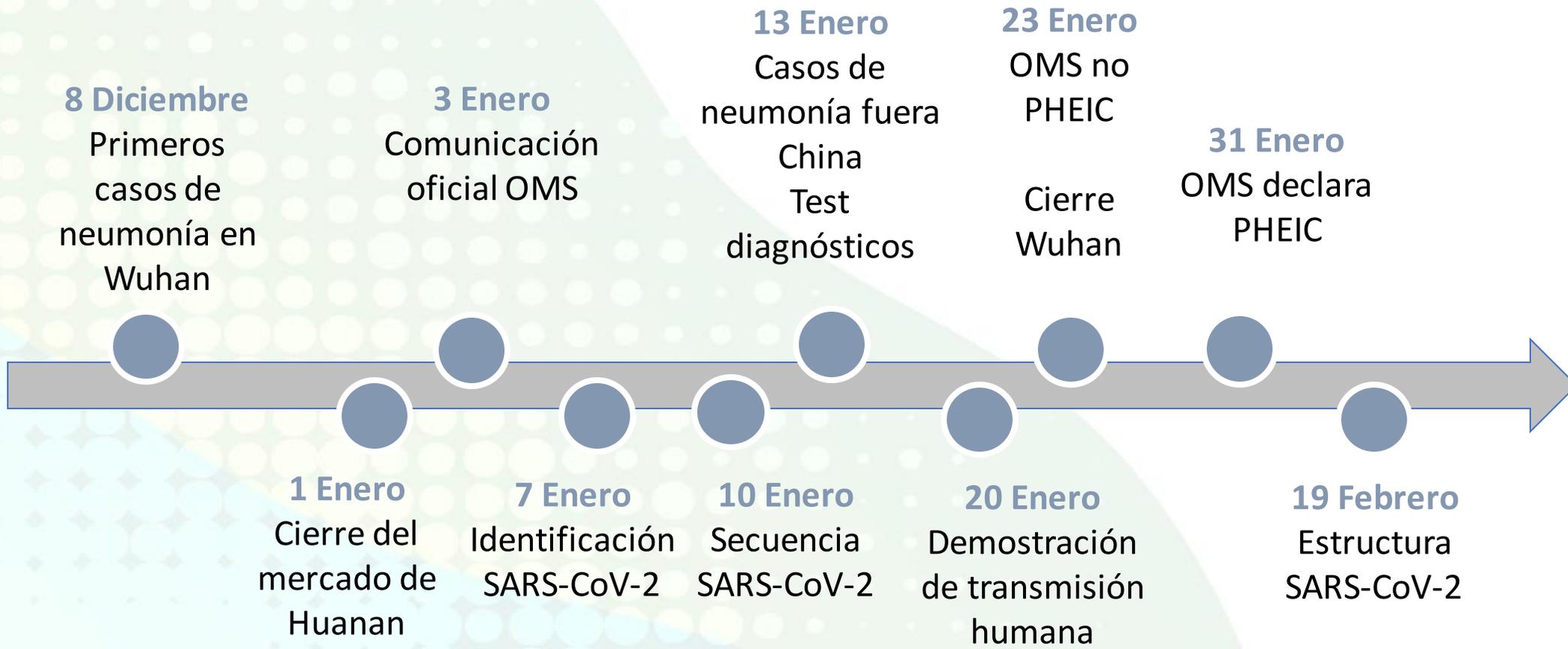
Álvaro Pascual

UGC de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva.

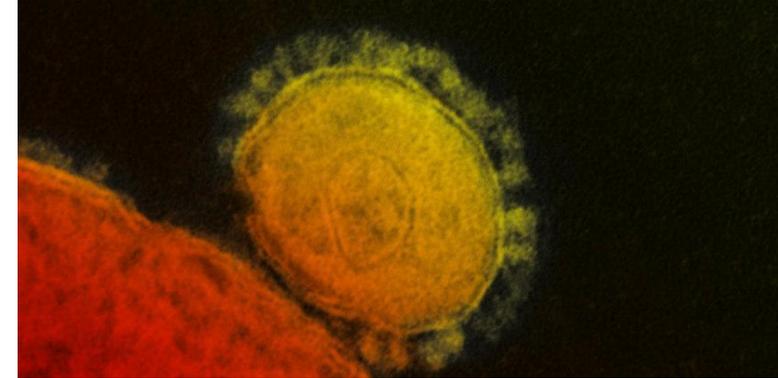
Hospital Universitario Virgen Macarena

Instituto de Biomedicina de Sevilla

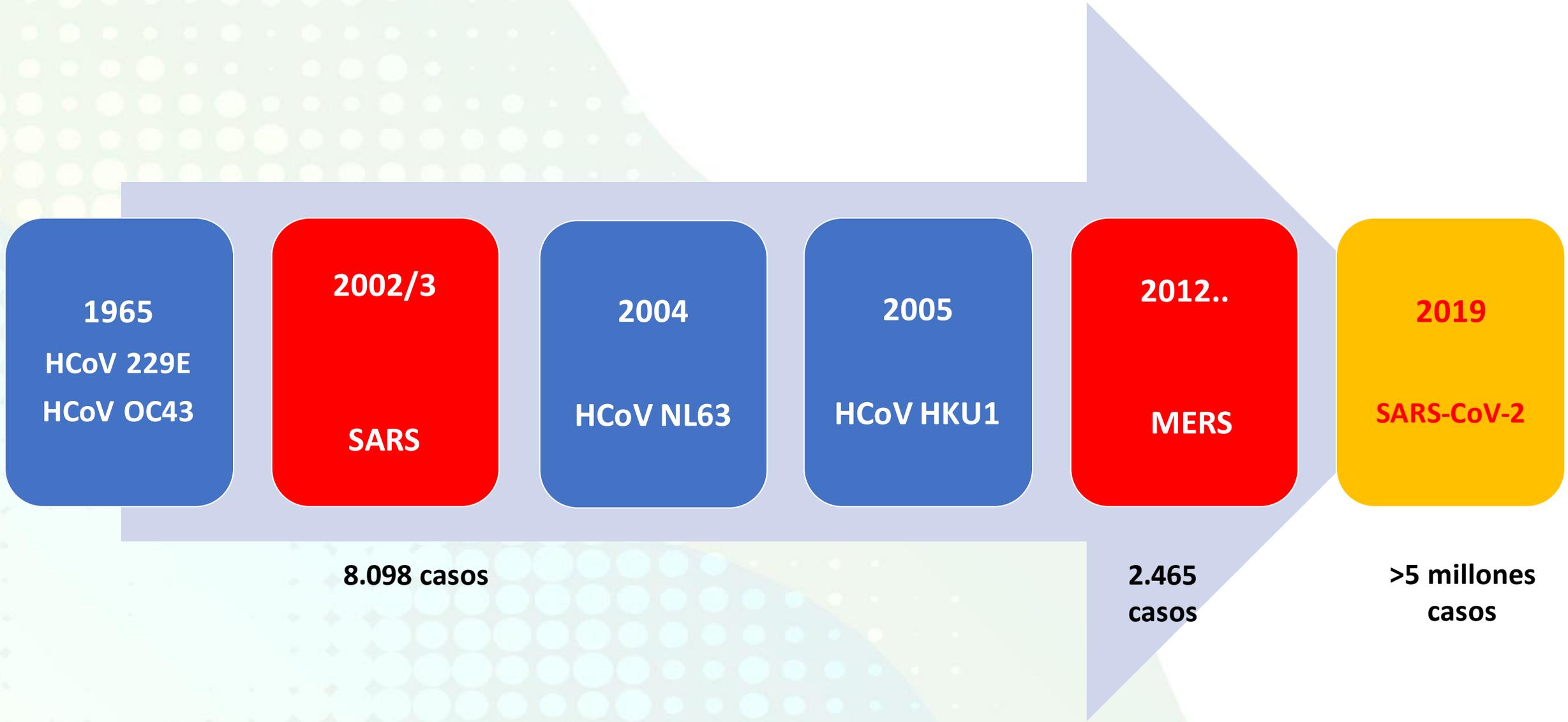
Universidad de Sevilla



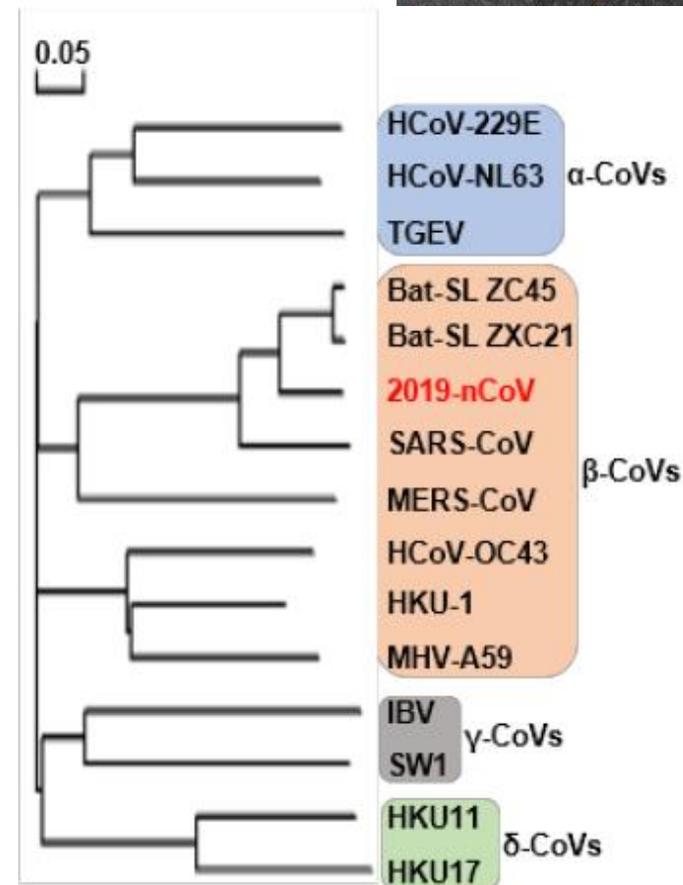
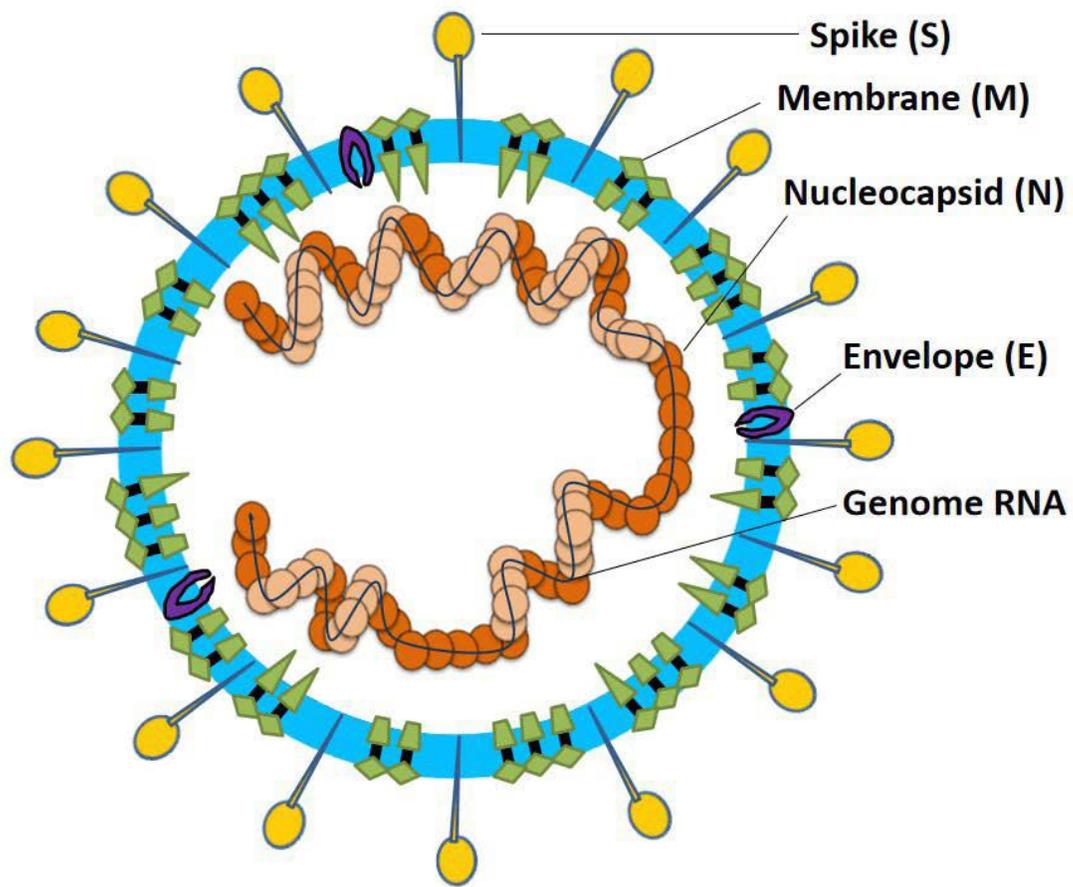
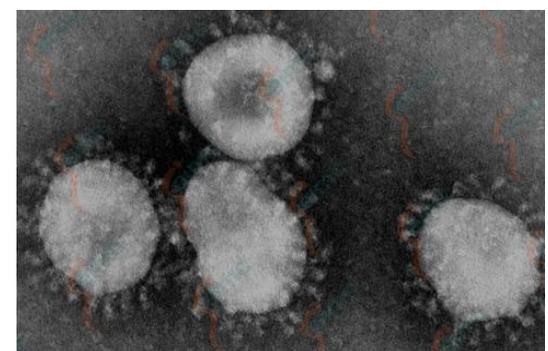
Coronavirus (CoVs)

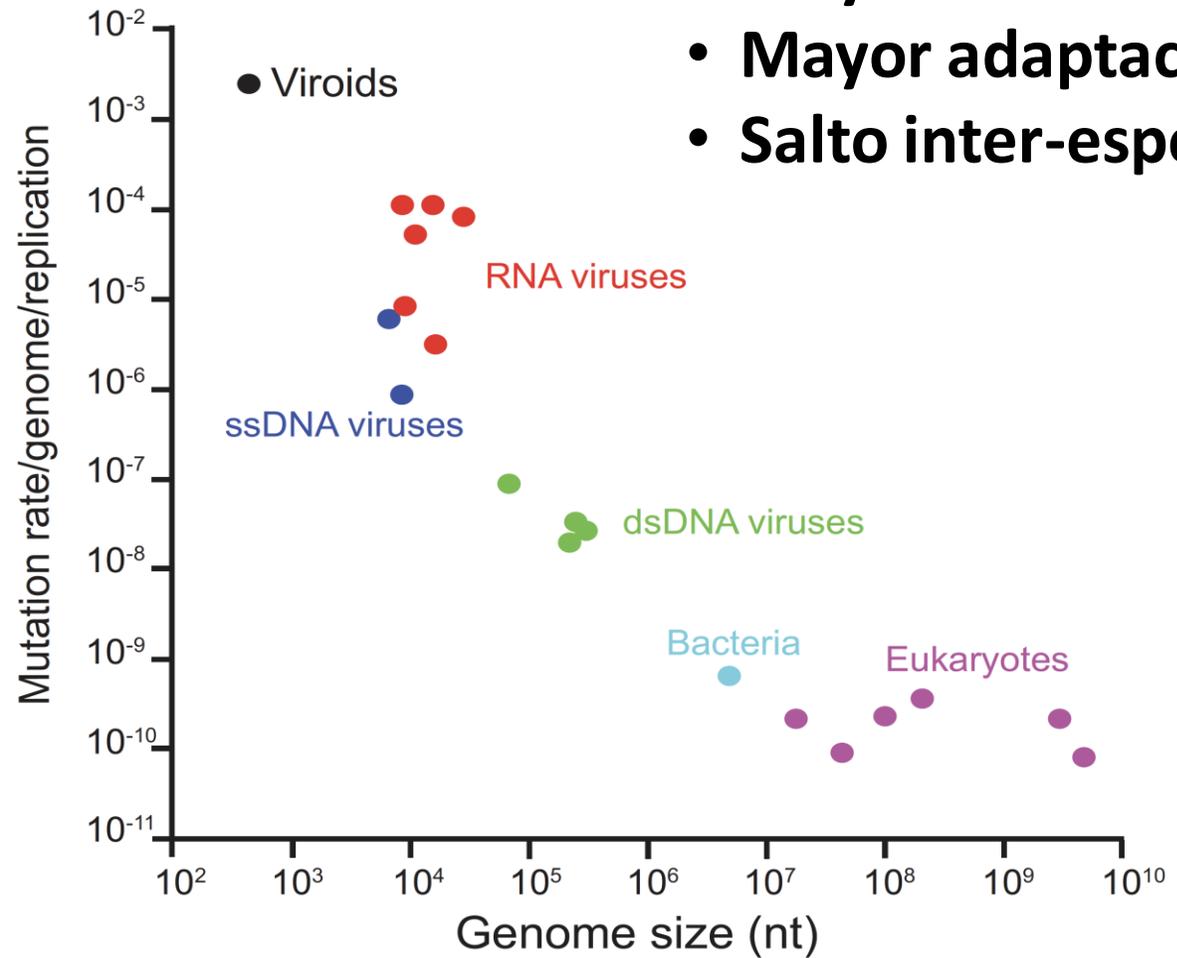
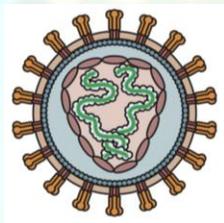
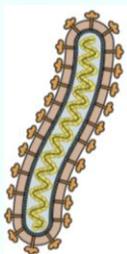
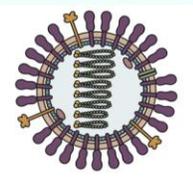
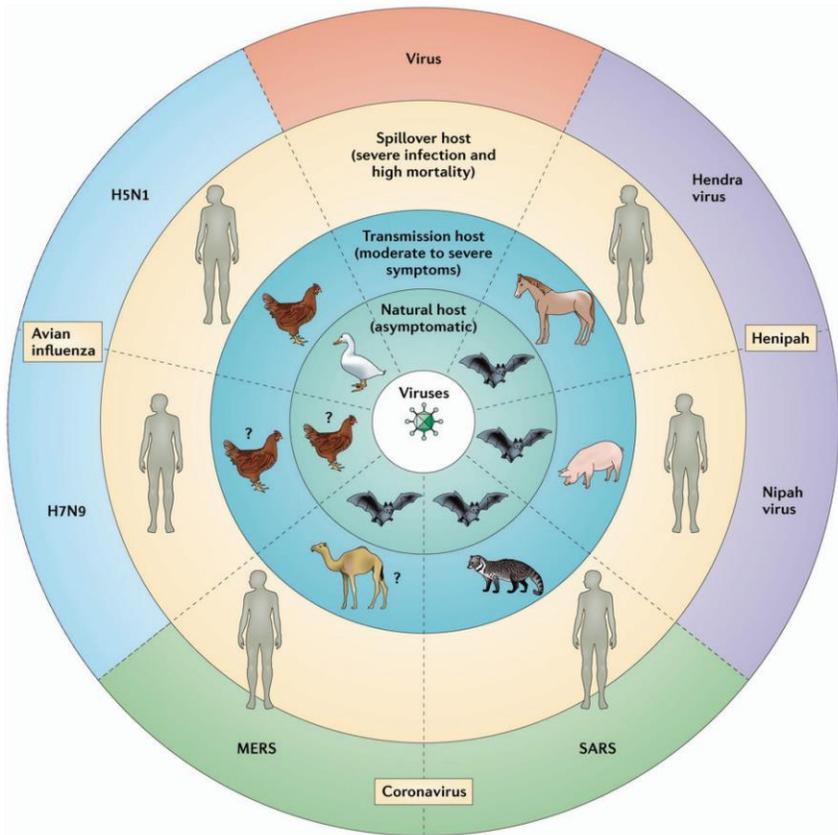


- Familia *Coronaviridae*. Descubierta y cultivado en 1965.
- Deben su nombre al aspecto de los viriones
- Segunda causa más frecuente de resfriado común
- Infechan a numerosos mamíferos y aves
- Facilidad para saltar entre especies animales
- En humanos produce principalmente infecciones respiratorias (HCoVs):
 - 2002-2003. Síndrome respiratorio agudo grave (SARS) en China. SARS-CoV. Finalizó en 2004.
 - 2012. Síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) en Península Arábiga. MERS-CoV. Sigue activo.
 - 2019. Enfermedad por Coronavirus (COVID-19). Novel coronavirus. 2019-nCoV (SARS-CoV-2). Provincia de China (Hubei).



Coronavirus: estructura y clasificación





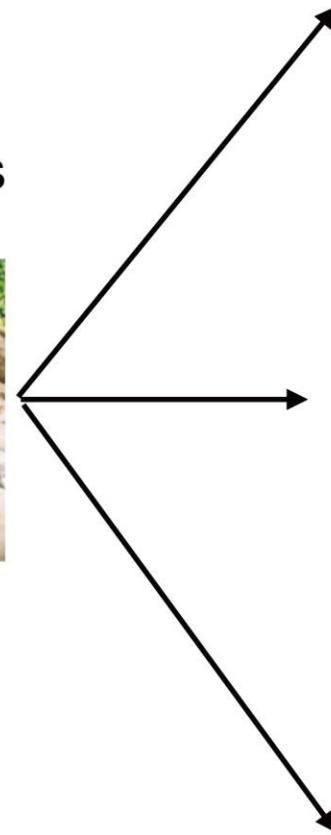
- Zoonosis: **Virus RNA**
- *Errores* replicación
- Mayor Diversidad
- Mayor adaptación
- Salto inter-especie

Natural roots

Circulation in animal hosts **Human to human transmission**



Natural bat



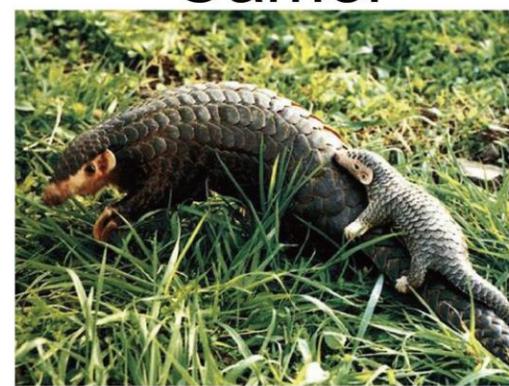
Civet

SARS-CoV →



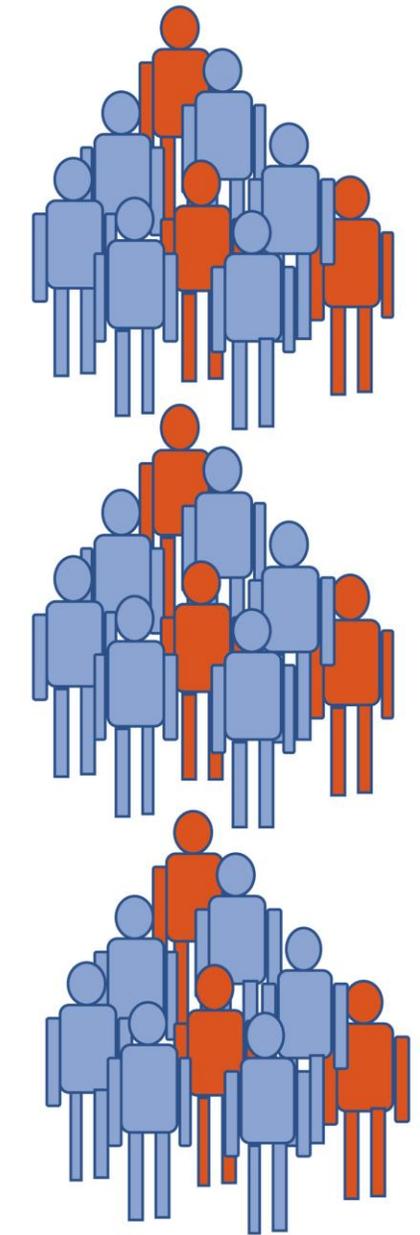
Camel

MERS-CoV →



Pangolin?

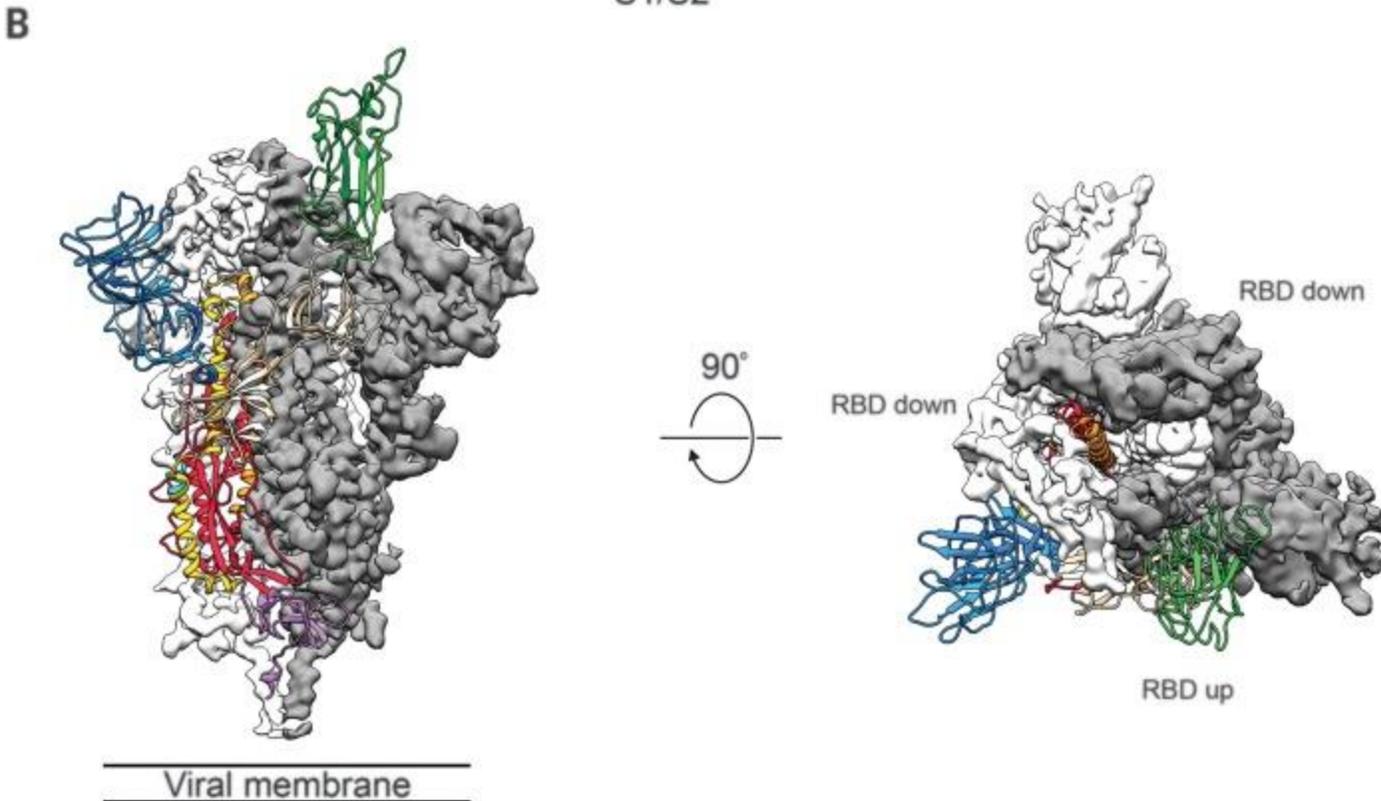
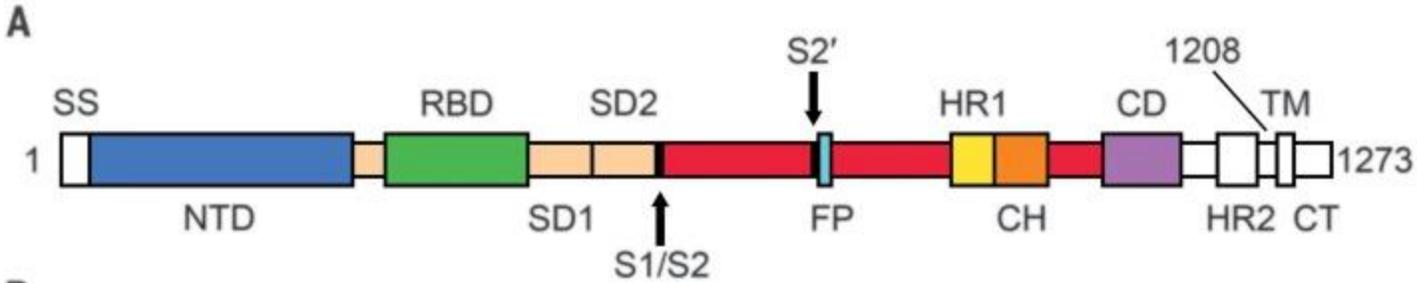
SARS-CoV-2 →



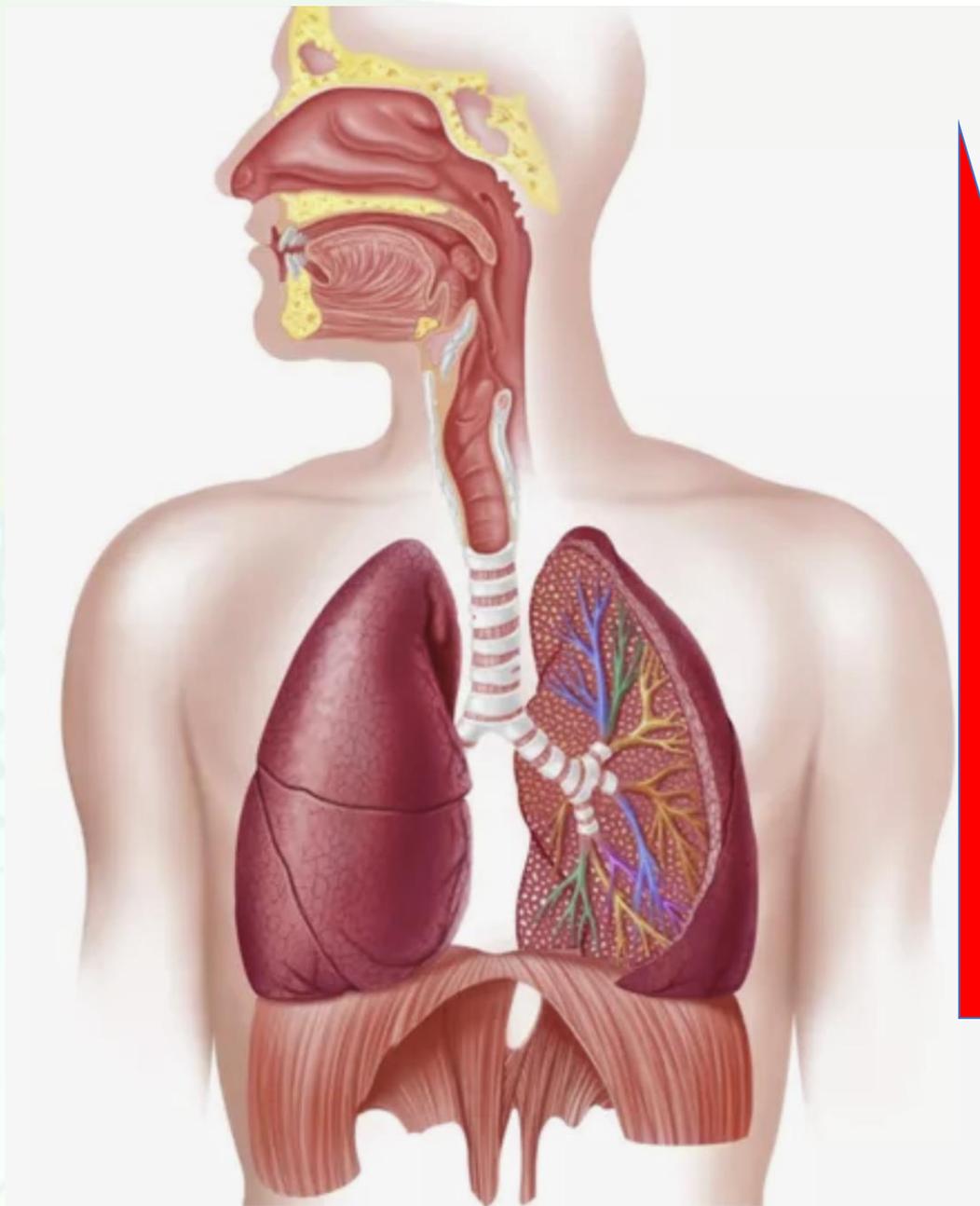
CORONAVIRUS

Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation

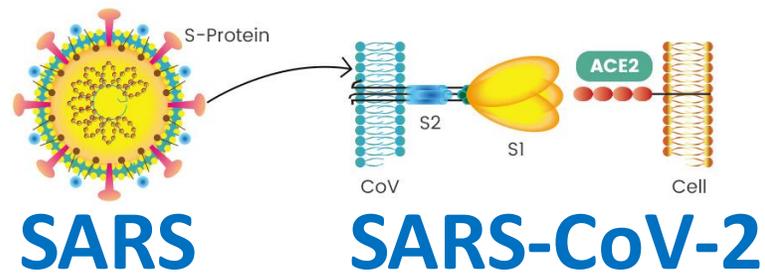
Daniel Wrapp^{1*}, Nianshuang Wang^{1*}, Kizzmekia S. Corbett², Jory A. Goldsmith¹, Ching-Lin Hsieh¹, Olubukola Abiona², Barney S. Graham², Jason S. McLellan^{1†}



- Afinidad por ACE2 SARS-CoV-2 > SARs (10-20x)
- Monoclonales SARS no reconocen RBD de SARS-CoV-2



ACE2

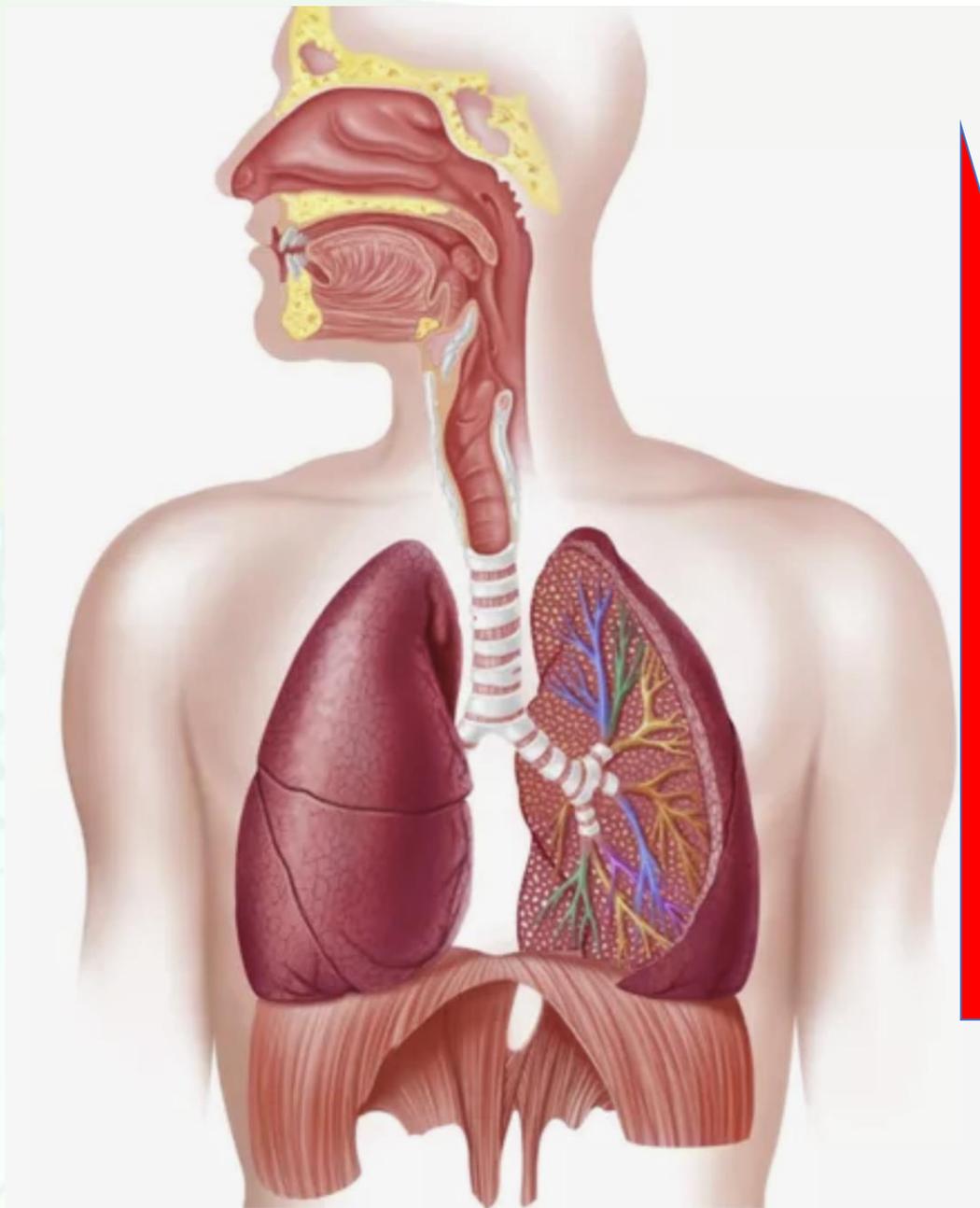


(+)

++

+++

+++



ACE2

SARS

(+)

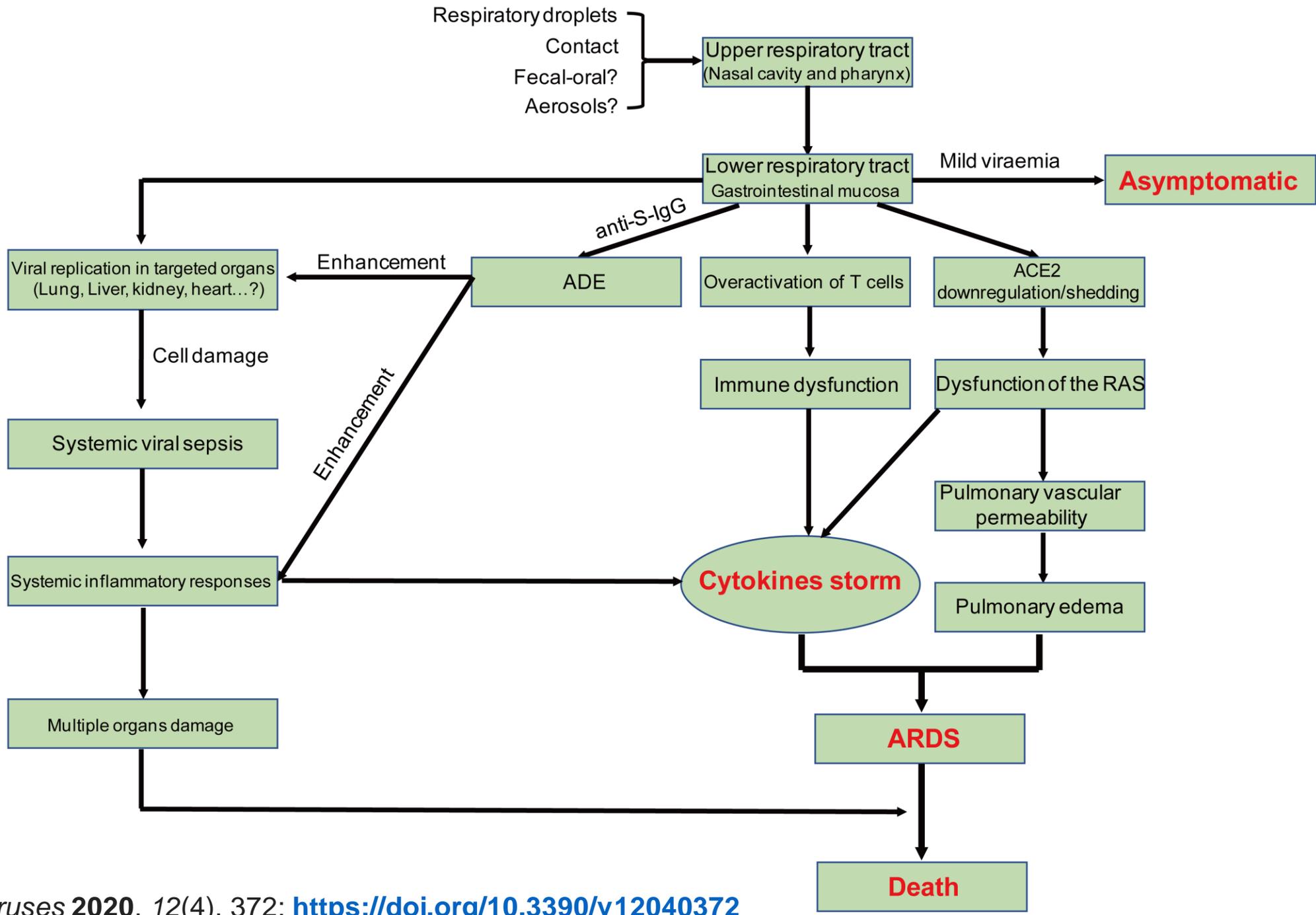
SARS-CoV-2

++

Transmisión?

+++

+++



Diagnóstico microbiológico

Métodos

- Los métodos recomendados incluye:
 1. **Cultivo del virus** en cultivos celulares de origen respiratorio.
 2. **Detección de antígeno.**
 3. **RT-PCR.**
 4. **Detección serológica** para confirmar la respuesta inmunológica y otros marcadores inmunológicos.

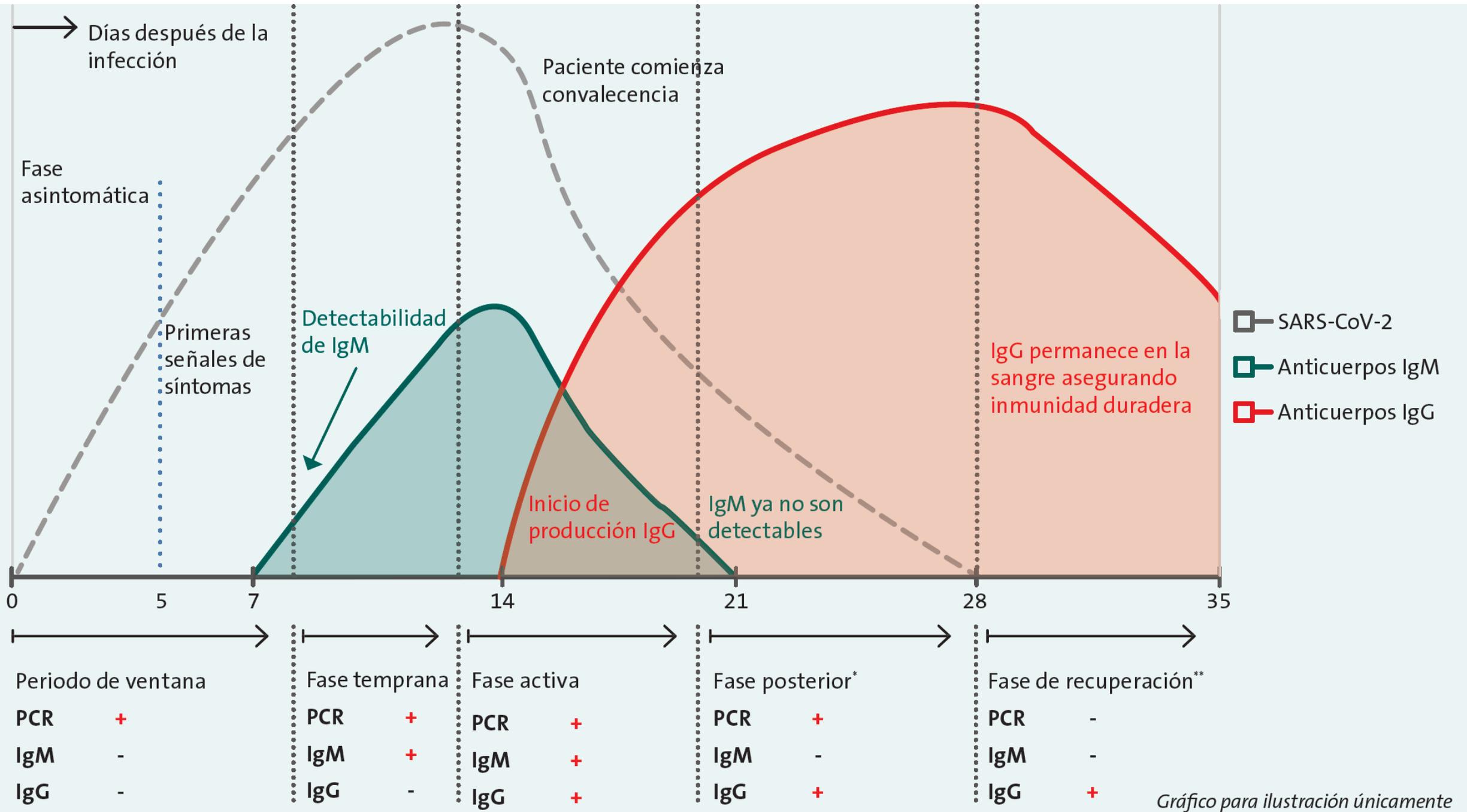


Técnicas para COVID-19 y uso potencial

Tests for SARS-CoV-2/COVID-19 and Potential Uses

Type of Test	Measure	Value	Beneficiary
 <p>Nucleic acid amplification test for viral RNA <i>(nasopharyngeal swab, oropharyngeal swab, sputum, bronchoalveolar lavage fluid, others)</i></p>	Current infection with SARS-CoV-2	<ul style="list-style-type: none">• Inform individual of infection status so they can anticipate course of illness and take action to prevent transmission• Inform patient management and actions needed to prevent transmission• Inform actions needed to prevent transmission	<ul style="list-style-type: none">• Individual• Healthcare or long-term care facility• Public health
 <p>Antibody detection</p>	Past exposure to SARS-CoV-2	<ul style="list-style-type: none">• Detect susceptible individuals (antibody negative) and those previously infected• Identify individuals with neutralizing antibodies• Facilitate contact tracing and surveillance	<ul style="list-style-type: none">• Identify those potentially immune to SARS-CoV-2 (if tests can detect protective immunity, individuals could be returned to work)• Healthcare facilities: Experimental therapy• Public health

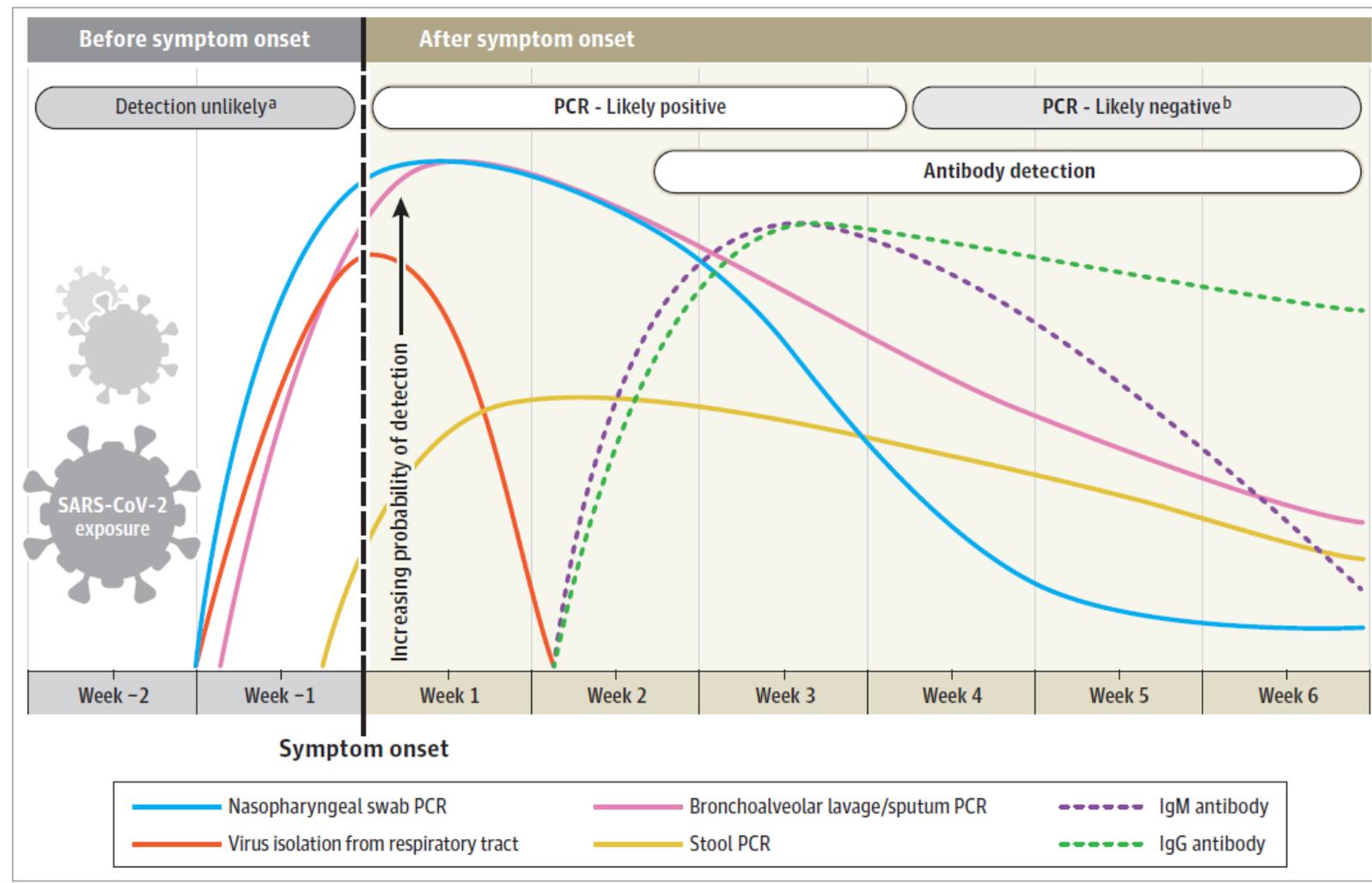
FIG 1 Tests for SARS-CoV-2/COVID-19 and potential uses.



*Patrón de resultados también en caso de que el paciente esté en una fase recurrente; **Patrón de resultados también en pacientes con infecciones anteriores

Gráfico para ilustración únicamente

Figure. Estimated Variation Over Time in Diagnostic Tests for Detection of SARS-CoV-2 Infection Relative to Symptom Onset



Estimated time intervals and rates of viral detection are based on data from several published reports. Because of variability in values among studies, estimated time intervals should be considered approximations and the probability of detection of SARS-CoV-2 infection is presented qualitatively. SARS-CoV-2 indicates severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; PCR, polymerase chain reaction.

^a Detection only occurs if patients are followed up proactively from the time of exposure.

^b More likely to register a negative than a positive result by PCR of a nasopharyngeal swab.

Detección de ARN viral mediante RT-PCR

1. Muestras:

- Torundas nasofaríngeas, torundas faríngeas, esputo, “saliva”, muestras respiratorias bajas.

- Rentabilidad?:
 - Lavado broncoalveolar: 93%
 - Esputo: 72%
 - Torunda nasal: 63%
 - Torunda faríngea: 32%
- PCR declina mas lentamente en esputo
- PCR + en heces en 57% pacientes al 4-11 días.

Detección de ARN viral mediante RT-PCR

2. Genes diana:

- Envuelta (*env*)
- Nucleocápside (*N*)
- Spike (*S*)
- Polimerasa (*RdRp*)
- *ORF1*

Sensibilidad similar
Especificidad: 100%

3. Interpretación:

- Cycle Threshold (Ct):
 - ≤ 40 : positivo. En general declina a las 3 semanas
 - Casos graves, menor Ct y mayor tiempo de positividad. ¿Presencia de virus viable?
 - Virus no detectado a los 8 días de síntomas: (Xiao AT. Published March 21. J Infect. 2020)
 - Algunos casos PCR + tras 6 semanas, incluso tras PCR -:
 - Error del test?, reactivación?, reinfección?

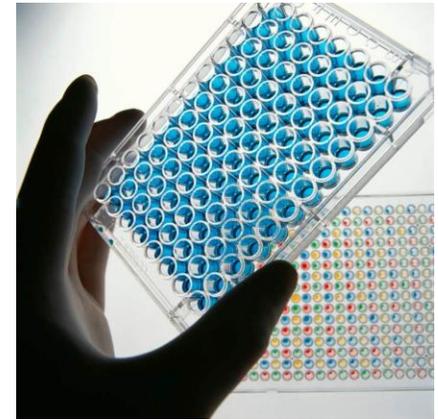
Detección de ARN viral mediante RT-PCR

Falsos negativos?

- Mala calidad de la muestra
- Muestra de periodo inadecuado
- Transporte y mantenimiento inadecuado
- Mutaciones del virus ?
- Inhibición de la PCR
- PCR negativa con alta sospecha: muestra respiratoria baja



Detección de anticuerpos



- Detecta la respuesta inmune frente al virus.
- Pacientes con enfermedad leve o moderada con evolución de 2 semanas.
- Conocer el estado inmune de la población.
- Técnica:
 - ELISA o Quimioluminiscencia automatizada: AC frente a NC o S
 - POC o técnicas rápidas (inmunocromatografía): AC frente a ????

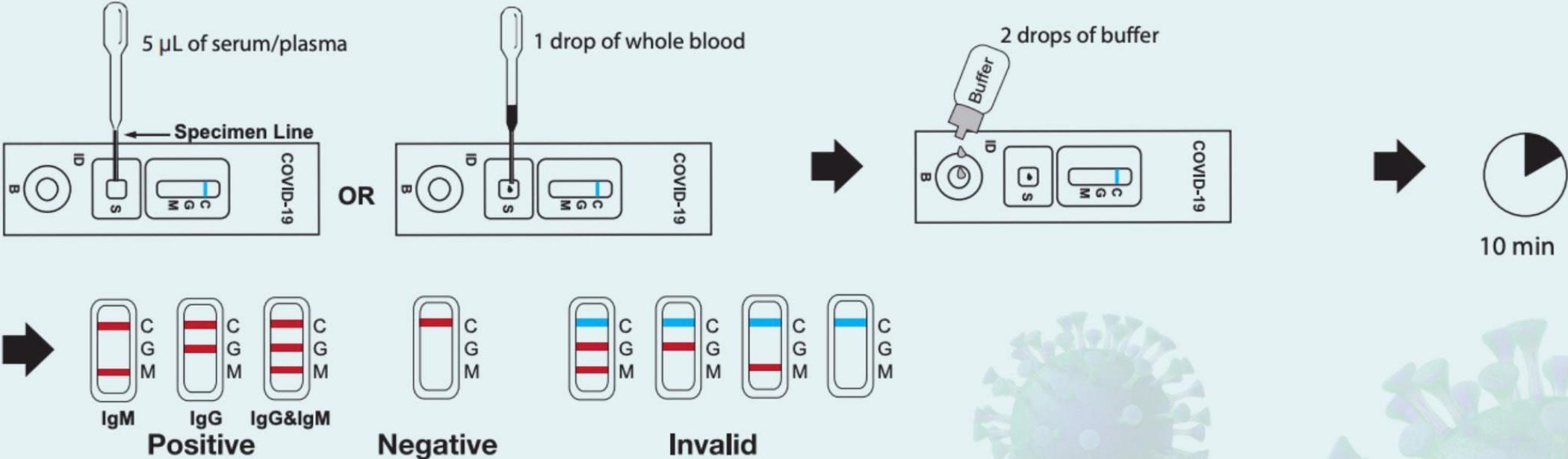
Resultados preliminares serología SARS-CoV-2

Sensibilidad por días de evolución

	NUMERO	NEG	SENS
MUESTRAS <1 DÍA	33	18	45%
MUESTRAS 1 DÍA	146	50	66%
MUESTRAS 2 DÍAS	64	25	61%
MUESTRAS 3 DÍAS	35	13	63%
MUESTRAS 4 DÍAS	37	13	65%
MUESTRAS 5 DÍAS	24	5	79%
MUESTRAS 6 DÍAS	19	5	63%
MUESTRAS 7 DÍAS	28	9	68%
MUESTRAS 8 DÍAS	21	6	71%
MUESTRAS 9 DÍAS	10	2	80%
MUESTRAS >9 DÍAS	54	7	87%

Detección de Anticuerpos. Test rápidos

Test Procedure & Interpretation



Intended for specialists only

Evaluación Tests Rápidos

Ac(IgG) TEST A	Ac (IgG) TEST B	Ac(IgM) TEST A	Ac (IgM) TEST B	HOSPITAL
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	SAN CECILIO
POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V. NIEVES
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V. NIEVES
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V. NIEVES
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V. NIEVES
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	V. NIEVES
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V. NIEVES
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	V. NIEVES
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	V. NIEVES
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	V. NIEVES
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V. NIEVES
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	REINA SOFIA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	REINA SOFIA
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	REINA SOFIA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	REINA SOFIA
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	REINA SOFIA
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	REINA SOFIA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	REINA SOFIA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	REINA SOFIA
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	V.MACARENA
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	V.MACARENA
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	V.MACARENA
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	V.MACARENA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V.MACARENA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V.MACARENA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V.MACARENA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V.MACARENA
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	V.MACARENA

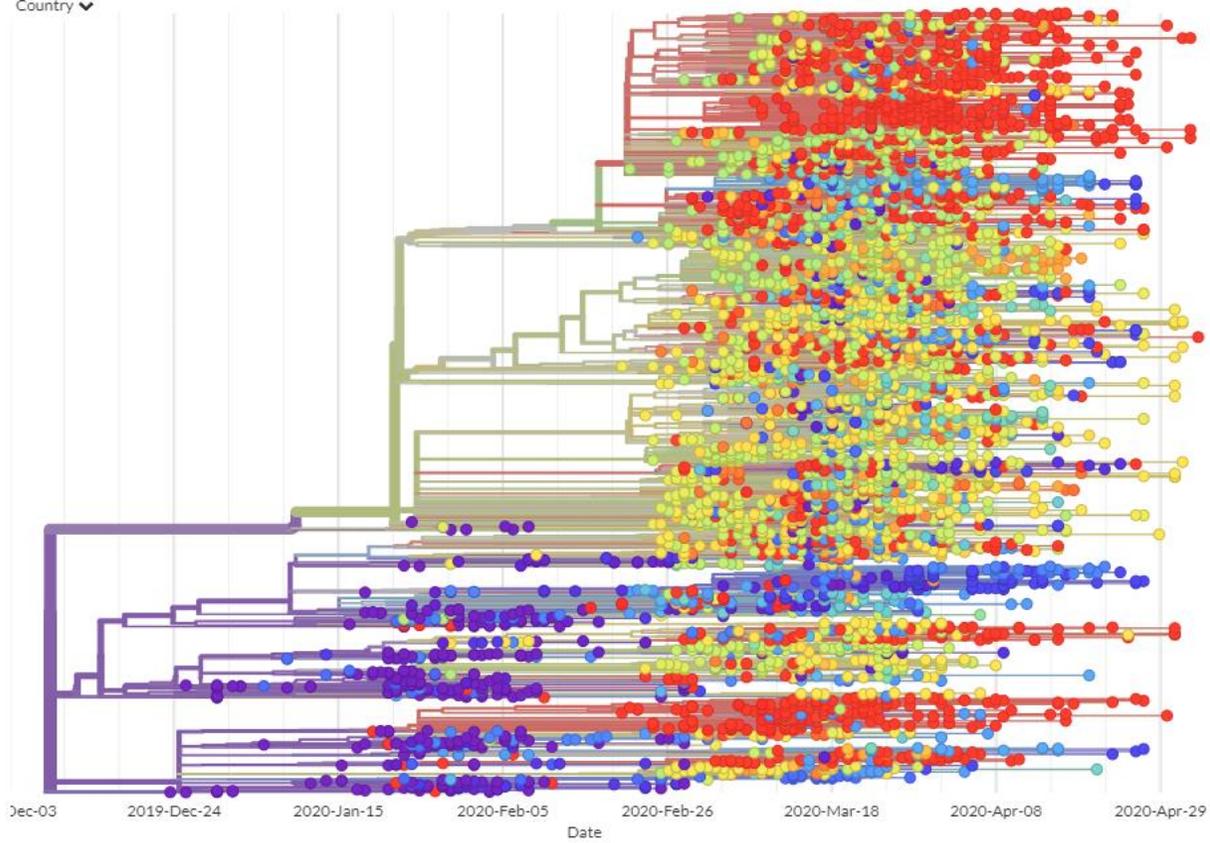
Concordancia IgG: 49%!!!
Concordancia IgM: 66%!!!

1. No fiarse de la información del fabricante
2. Siempre evaluación previa en tu área
3. Mejor con suero que con punción con lanceta
4. Conocer las limitaciones y por lo tanto su utilidad

Phylogeny

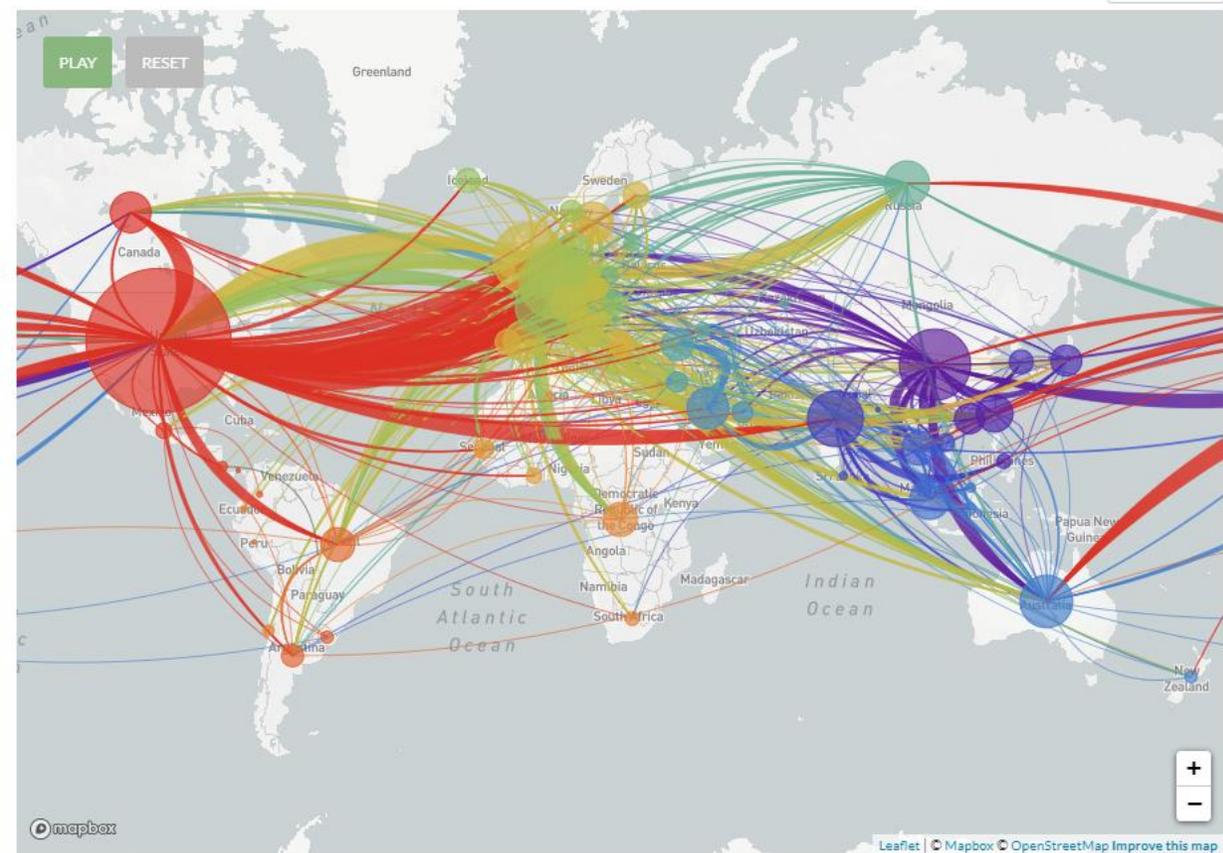
Country ▾

RESET LAYOUT



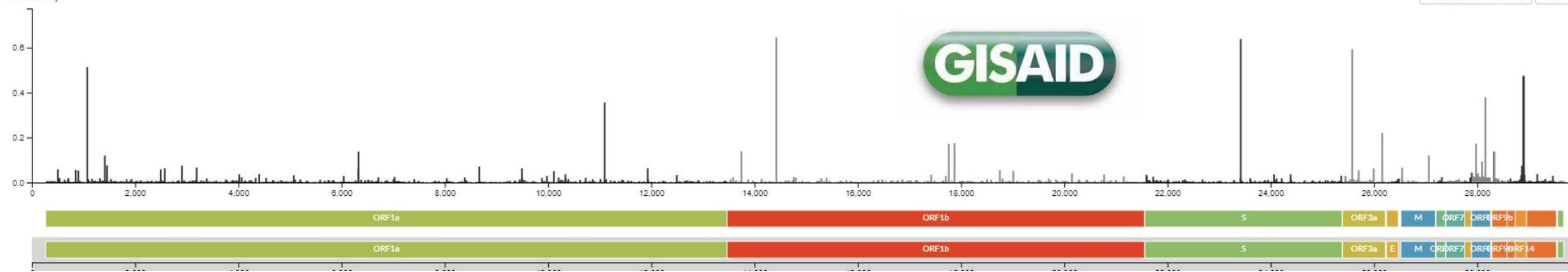
Transmissions

RESET ZOOM



Diversity

ENTROPY EVENTS AA NT



Las pruebas diagnósticas dependen de la situación



- Confinamiento
- Desescalada
- Prevalencia

Servicio de Microbiología. H.U.V.M. Sevilla

Agradecimientos



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Laboratorio de producción y sanidad animal de Jaén
Laboratorio de producción y sanidad vegetal de Sevilla



¡Muchas gracias!



2002



2007



2019



202?