



Marta Pérez-Abeledo<sup>1</sup>  
Belén Ramos<sup>1</sup>  
Francisco Javier Candel<sup>1</sup>  
Juan Carlos Sanz<sup>1,2</sup>

## Rendimiento del ensayo de amplificación mediada por transcriptasa (TMA) Procleix SARS-CoV-2 para el diagnóstico de COVID-19 en "pools" de muestras nasofaríngeas. Pequeño estudio piloto

<sup>1</sup>Laboratorio Regional de Salud Pública de la Comunidad de Madrid, Dirección General de Salud Pública, Consejería de Sanidad Comunidad de Madrid, Madrid, España.

<sup>2</sup>Consorcio de Investigación Biomédica de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), España.

### Article history

Received: 13 July 2021; Revision Requested: 27 July 2021; Revision Received: 27 July 2021; Accepted: 22 August 2021; Published: 26 December 2021

Estimador Editor:

Los procedimientos de RT-PCR para SARS-CoV-2 se basan en el uso de dianas que aportan información que varía en el grado de certeza según el número y tipo de genes investigados [1]. El gen N es muy sensible por lo que se ha postulado como "screening" de casos sospechosos [2]. Recientemente se han aplicado para el diagnóstico de COVID-19 técnicas de amplificación molecular isotérmica [3] como la amplificación mediada por transcriptasa (TMA). Este ensayo emplea las enzimas transcriptasa reversa y ARN polimerasa [4]. La técnica Procleix SARS-CoV-2 es una prueba de TMA, realizada mediante el equipo automatizado Panther, que puede ser utilizada como un método rápido de diagnóstico de COVID-19 [5]. Entre sus ventajas destacan la mínima manipulación y su elevada automatización. En condiciones de baja prevalencia de infección puede resultar coste-efectiva la estrategia de cribado (el procesamiento por PCR agrupado de muestras clínicas ("pooling")) [6]. Esta aproximación, aunque también se ha probado con TMA, con buenos resultados, ha sido poco ensayada [7]. El propósito de este estudio fue valorar el ensayo de TMA Procleix SARS-CoV-2 (Grifols Diagnostic Solutions Inc. Emeryville, California, EE. UU) en mezclas de muestras nasofaríngeas para determinar su sensibilidad en el diagnóstico de COVID-19.

Se estudiaron 35 muestras previamente identificadas como positivas por TMA (gen N) mediante el ensayo Procleix SARS-CoV-2. Estas 35 muestras fueron mezcladas a partes iguales con muestras negativas, también estudiadas anteriormente por TMA, en 35 "pools" de cuatro (140 muestras, las 35 TMA positivas y 105 TMA negativas), 35 "pools" de ocho (280 muestras, las 35 TMA positivas y 245 TMA negativas) y 35

"pools" de dieciséis (560 muestras, las 35 TMA positivas y 525 TMA negativas).

Las 35 muestras originales (sin diluir en mezclas) se procesaron también por RT-PCR usando la técnica Applied Biosystems TaqPath™ COVID-19 RT-PCR Kit de Thermo Fisher Scientific (Life Technologies Corporation, Pleasanton, California, EE. UU), que incluye como dianas los genes ORF1ab, S y N. En este estudio, se valoraron únicamente los resultados de detección del gen N (detectado tanto por TMA como por RT-PCR).

Al analizar las muestras sin diluir por RT-PCR, en 30 de las 35 muestras que habían aportado originalmente resultados TMA positivos se obtuvo un resultado positivo (sensibilidad de la RT-PCR referida a la TMA del 85,71%). Estas 30 muestras positivas por RT-PCR presentaban para el gen N un Ct que osciló entre 14,2 y 31,9. La distribución de resultados de las 35 muestras TMA positivas en relación con los resultados de RT-PCR se muestra en la tabla 1.

Al re-procesar por TMA las 35 muestras originalmente positivas mezcladas cada una de ellas con tres muestras previamente confirmadas como negativas (pool de cuatro [dilución 1/4]) o mezcladas con siete muestras previamente confirmadas como negativas (pool de ocho [dilución 1/8]) en todos los casos se obtuvieron resultados positivos (sensibilidad 100%) (tabla 1). Cuando se re-procesaron por TMA cada una de las 35 muestras originalmente positivas mezcladas con quince muestras previamente confirmadas como negativas (pool de dieciséis [dilución 1/16]) en 32 casos se observaron resultados positivos (sensibilidad 91,43%) (tabla 1). Las 3 muestras negativas por TMA en la dilución 1/16 presentaban sin diluir un Ct para el gen N mayor a 37 (es decir también fueron negativas por RT-PCR para esta diana).

Los test clásicos de RT-PCR duplican el número de copias del gen diana en cada uno de los 40 ciclos habituales de su proceso, mientras que la amplificación por TMA genera cientos a miles de copias de la secuencia que subsecuentemente actúan como moldes de transcripción [8]. La sensibilidad analí-

Dr. Juan Carlos Sanz Moreno  
Unidad de Microbiología Clínica. Laboratorio Regional de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. Dirección General de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. Edificio Usos Múltiples Hospital Enfermera Isabel Zendal, Planta 1ª. Avenida de Manuel Fraga Iribarne 2, Madrid 28055.  
Tef: 91 779 88 65  
E-mail: [juan.sanz@salud.madrid.org](mailto:juan.sanz@salud.madrid.org)

Tabla 1 Distribución de resultados de las 35 muestras originalmente TMA positivas en relación con los resultados de RT-PCR y con los obtenidos por TMA en mezclas de 4, 8 y 16		
Grupos según el resultado de las muestras TMA positivas sin diluir	n	Sensibilidad (%)
Positivas por TMA diluidas 1/4 con otras 3 muestras TMA negativas	35/35	100
Positivas por TMA diluidas 1/8 con otras 7 muestras TMA negativas	35/35	100
Positivas por TMA diluidas 1/16 con otras 15 muestras TMA negativas	32 <sup>a</sup> /35	91,43

<sup>a</sup>Las 3 muestras negativas por TMA en la dilución 1/16 presentaban sin diluir un Ct >37 para el gen N.

tica en muestras clínicas del equipo Panther para el genoma de SARS-CoV-2 (de  $5,5 \times 10^3$  copias por mililitro) es superior a la alcanzada por métodos de RT-PCR [8].

Es esperable que el uso masivo de las vacunas frente a SARS-CoV-2 reduzca en un futuro la incidencia de la infección. En este contexto, será conveniente establecer estrategias diagnósticas adaptadas a escenarios de carga de enfermedad variable [9]. En este estudio las muestras TMA positivas agrupadas con otras tres muestras TMA negativas o con otras siete muestras TMA negativas conservaron su positividad pese al correspondiente factor de dilución. Las tres muestras originalmente positivas por TMA, pero subsiguientemente negativas en dilución 1/16 habían sido negativas para el gen N por RT-PCR, lo que sugiere que podrían corresponderse con muy bajas cargas víricas. Previamente se ha observado que señales de Ct en RT-PCR superiores a 35 pueden condicionar la aparición de resultados falsos negativos en mezclas de muestras estudiadas por TMA [10].

De acuerdo con los resultados de este estudio, y a pesar del reducido número de exudados nasofaríngeos positivos incluidos, el agrupamiento de muestras en mezclas de cuatro u ocho "pools" puede ser una alternativa para el cribado por TMA de casos de COVID-19 en momentos en los que la incidencia sea baja.

## 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 que puedan influir en lo expresado en este texto.

## BIBLIOGRAFÍA

- Li D, Zhang J, Li J. Primer design for quantitative real-time PCR for the emerging Coronavirus SARS-CoV-2. *Theranostics*. 2020;10(16):7150-7162. doi: 10.7150/thno.47649.
- Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, Hui KPY, Krishnan P, Liu Y, et al. Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clin Chem*. 2020;66(4):549-555. doi: 10.1093/clinchem/hvaa029.
- Yu CY, Chan KG, Yean CY, Ang GY. Nucleic Acid-Based Diagnostic Tests for the Detection SARS-CoV-2: An Update. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(1):53. doi: 10.3390/diagnostics11010053.
- Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Sah R, Al-Tawfiq JA, Haque S, Harapan H, et al. Genomic Epidemiology and Recent Update on Nucleic Acid-Based Diagnostics for COVID-19. *Curr Trop Med Rep*. 2020;1-7. doi: 10.1007/s40475-020-00212-3.
- Trémeaux P, Lhomme S, Abravanel F, Raymond S, Mengelle C, Mansuy JM, et al. Evaluation of the Aptima™ transcription-mediated amplification assay (Hologic®) for detecting SARS-CoV-2 in clinical specimens. *J Clin Virol*. 2020;129:104541. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104541.
- Deka S, Kalita D. Effectiveness of Sample Pooling Strategies for SARS-CoV-2 Mass Screening by RT-PCR: A Scoping Review. *J Lab Physicians*. 2020;12(3):212-218. doi: 10.1055/s-0040-1721159.
- Dierks S, Bader O, Schwanbeck J, Groß U, Weig MS, Mese K, et al. Diagnosing SARS-CoV-2 with Antigen Testing, Transcription-Mediated Amplification and Real-Time PCR. *J Clin Med*. 2021;10(11):2404. doi: 10.3390/jcm10112404.
- Gorzalski AJ, Tian H, Laverdure C, Morzunov S, Verma SC, VanHoo-ser S, et al. High-Throughput Transcription-mediated amplification on the Hologic Panther is a highly sensitive method of detection for SARS-CoV-2. *J Clin Virol*. 2020;129:104501. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104501.
- Abdalahamid B, Bilder CR, McCutchen EL, Hinrichs SH, Koepsell SA, Iwen PC. Assessment of Specimen Pooling to Conserve SARS CoV-2 Testing Resources. *Am J Clin Pathol*. 2020;153(6):715-718. doi: 10.1093/ajcp/aqaa064.
- Newsom K, Zhang Y, Chamala S, Martinez K, Clare-Salzler M, Starostik P. The Hologic Aptima SARS-CoV-2 assay enables high ratio pooling saving reagents and improving turnaround time. *J Clin Lab Anal*. 2021:e23888. doi: 10.1002/jcla.23888.