

Se invita a los lectores a enviar cartas para su publicación en este departamento. Envíe cartas en línea a <http://joem.edmgr.com>. Elija "Enviar nuevo manuscrito". Se debe enviar un formulario de asignación de derechos de autor y divulgación financiera firmado con la carta. Formulario disponible en www.joem.org en Información del autor y revisor.

Resultados falsos positivos Con SARS-CoV-2 Pruebas RT-PCR y Cómo evaluar un RT-PCR-Prueba positiva para la posibilidad de un resultado falso positivo

Divulgaciones: G.D.B.: Consultor de The Walt Disney Company. L.S. y P.H.: Empleados de The Walt Disney Company. J.F.: Consultor del SAG-AFTRA. Fuente de financiación: Ninguna específicamente para este manuscrito. Los datos reportados por The Walt Disney Company se generaron a partir del programa de pruebas de SARS-CoV-2 en los estudios y producciones de televisión afiliados a Disney. Correspondencia de dirección a: Glenn D. Braunstein, MD, 9 Chatham Ct., Newport Beach, CA 92660 (Glenn.braunstein@cshs.org). Copyright 2021 Colegio Americano de Medicina Ocupacional y Ambiental DOI: 10.1097/JOM.000000000000021

Al editor:

L El ácido nucleico más utilizado La prueba de amplificación (NAAT) para detectar el ARN del SARS-CoV-2 es la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), fabricada por muchas compañías dirigidas a una o más regiones genómicas del virus. Aunque hay una diferencia de varios registros en la sensibilidad de las diferentes pruebas RTPCR para recoger el ARN viral, muchos tienen suficiente sensibilidad analítica para detectar una carga viral durante la etapa preinfecciosa en individuos infectados.¹⁻⁶ Sin embargo, ninguna de las pruebas tiene suficiente sensibilidad clínica para detectar el virus durante los primeros días después de la infección, ni son 100% sensibles en el momento de la infectividad.^{7,8} Mucho ha sido escrito sobre el tema de las pruebas RTPCR falsas negativas en personas sintomáticas, presintomáticas y asintomáticas infectadas con el virus.^{7,8} Se ha publicado menos sobre el problema de los falsos positivos rt-PCR u otras pruebas NAAT.

En los Estados Unidos, debido a una gran cantidad de pruebas e instalaciones de pruebas durante los primeros meses de la pandemia, las pruebas se utilizaron principalmente para diagnósticos para identificar a una persona con una infección activa asociada con signos o síntomas de

COVID-19 o que tenía una exposición reciente definida o sospechada al virus.⁹

Las pruebas aprobadas por la Administración (FDA) se ampliarán para detectar infecciones en individuos sin exposición conocida o sospechada al SARS-CoV-2 que viven en entornos congregados, como centros de atención a largo plazo o prisiones.⁹ Por último, se han desarrollado programas periódicos de cribado para instituciones educativas, equipos deportivos y el país para detectar asintomáticos, presintomáticos y sintomatologías infectados con la enfermedad y aislarlos para reducirlos infectando a otros.

La precisión general de una prueba RT-PCR se basa en su sensibilidad que representa la capacidad de detectar individuos infectados y la especificidad, que es el porcentaje de personas no infectadas que dan negativo. La FDA ha publicado recomendaciones con respecto a los datos y la información que los fabricantes de pruebas deben proporcionar en su solicitud de Autorización de Uso de Emergencia (EUA).¹⁰ Por especificidad analítica, solicitan estudios de reactividad cruzada in vitro para demostrar que la prueba no reacciona con patógenos relacionados, agentes patógenos de alta prevalencia y flora normal o patógena que es razonablemente probable que se encuentren en una muestra clínica.¹¹ Muchos de los ensayos de RT-PCR tienen una sensibilidad del 100% en este análisis según lo informado por los fabricantes.¹² Para la evaluación clínica, la FDA recomienda analizar 30 muestras clínicas positivas y 30 muestras negativas individuales y comparar los resultados de la prueba en consideración con una prueba EUA RT-PCR existente de alta sensibilidad. El rendimiento clínico aceptable se define como un acuerdo mínimo de 95% positivo y porcentaje negativo (PPA y NPA). Para una indicación de detección, la recomendación de PPA se mantiene en más o igual al 95% y la NPA se eleva a más o igual al 98% para reducir los resultados falsos positivos de las pruebas.¹¹ En el uso real, la sensibilidad clínica y la especificidad de muchas de estas pruebas son menores en parte debido a problemas relacionados con la recolección, el manejo y el análisis de muestras.^{8,12,13}

La realización de estas pruebas cuando se implementan depende no solo de sus sensibilidades y especificidades clínicas, sino también de la prevalencia de infecciones por SARS-CoV-2 en el entorno en el que se está utilizando la prueba. Si consideramos una prueba que se ajusta a las recomendaciones de la FDA para el rendimiento en el diagnóstico (95% de sensibilidad y especificidad) o en el entorno de detección (95% de sensibilidad, 98% de especificidad), podemos comparar el rendimiento clínico cuando la prevalencia de infección activa puede ser del 10% (un entorno diagnóstico) y una prevalencia del 1%, como se puede encontrar en un programa de detección.

En el ejemplo de diagnóstico, por cada 10.000 individuos habrá 1000 infectados y 9000 no infectados. De las personas infectadas, 950 serán detectadas por la prueba (verdaderos positivos) y 50 se perderán (falsos negativos). Para las 9000 personas no infectadas, 8820 tendrán correctamente pruebas negativas (verdaderos negativos) y 180 serán positivos (falsos positivos). El valor predictivo positivo (VPP) es la proporción de todas las pruebas positivas que son verdaderas positivas, en este caso $950/(950+180)$ o 84%. Por lo tanto, la mayoría de las pruebas positivas son verdaderos positivos.

Haciendo estos mismos cálculos para el escenario de detección, 100 de los 10.000 individuos están infectados y 9900 no. La prueba detectará a 95 de las personas infectadas y cinco serán falsamente negativas. Para aquellos que no están infectados, 9702 será diagnosticado correctamente y 198 serán falsos positivos. Los PPV es $95/95+198$ o 32,4%. En este caso, 2/3 de los resultados positivos son falsos positivos. Para una prevalencia del 0,1%, el VPP desciende al 4,5%.

La Tabla 1 enumera varios factores que se ha documentado que contribuyen a los resultados falsos positivos de RT-PCR.^{12,14-19} Basándonos en nuestra propia experiencia en la investigación de grupos de resultados falsos positivos de RT-PCR y discusiones con directores de laboratorio, los dos problemas más comunes son la contaminación y la determinación del límite para afirmar que una muestra es positiva con una carga viral baja en lugar de ser llamada indeterminada o equívoca. La OMS y un consorcio internacional de expertos

han abordado estas cuestiones y han elaborado una lista de verificación para que los laboratorios reduzcan las posibles causas de los resultados falsos positivos de RT-PCR y cómo manejar los resultados equívocos.^{19,20}

El sobrediagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 tiene múltiples efectos adversos potenciales (Tabla 2)^{12,21}; los inconvenientes, los problemas financieros y

psicológicos que afectan a los mal diagnosticados; la posible exposición de individuos no infectados a personas infectadas en el hospital o en áreas de vida congregadas; personas mal diagnosticadas que renuncian al distanciamiento social y al uso de mascarillas porque piensan que son inmunes al COVID-19; y cierre temporal de un negocio debido a la necesidad de poner en cuarentena a sus compañeros de trabajo. Además, el sobrediagnóstico puede inflar el

entumecimiento de las infecciones asintomáticas en las estadísticas de salud pública.

Reconocer que un resultado positivo de RT-PCR puede ser un falso positivo puede ser difícil. Si una persona RT-PCR positiva tiene signos o síntomas de COVID-19 o ha estado expuesta a alguien que ha sido expuesto

TABLA 1. Causas de los resultados falsos positivos de SARS-CoV-2 RT-PCR (modificado de la Ref^{12,13})

Contaminación durante

Muestreo (por ejemplo, un trabajador infectado o superficies; aerosolización del virus durante la recolección)¹⁵ Extracción (por ejemplo, aerosolización en campana de contención)

Ion amplificación PCR

Producción de reactivos de laboratorio (por ejemplo, los fabricantes del control positivo pueden haber contaminado otros reactivos producidos en la misma instalación; contaminación de otros consumibles)¹⁷⁻¹⁹

Contaminación del equipo por muestras de alto título viral (por ejemplo, arrastre de muestras)¹⁶

Reacción cruzada con otros virus (por ejemplo, otros coronavirus)

Mezclas de muestra

Problemas de software

Errores de entrada o transmisión de datos

Resultados erróneos

Variaciones en los parámetros alrededor de la LOD y definición de un resultado indeterminado^{14,16,20}

Suponiendo que un resultado indeterminado es positivo

Reacciones inespecíficas¹⁵

LOD: límite de detección; RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa.

o sospechosos de albergar el virus, es prudente asumir que el resultado es un verdadero positivo, como ha sido la recomendación de la OMS y los Centros para el Control de Enfermedades.^{24,25} Sin embargo, en un individuo asintomático sin contacto cercano conocido con un individuo infeccioso, especialmente en un entorno de baja prevalencia, el hallazgo de un resultado positivo de la prueba RT-PCR debería plantear la posibilidad de que el resultado sea un falso positivo. Las "señales de alerta" que deberían alertar al personal del laboratorio incluyen encontrar un aumento agudo en el porcentaje de resultados positivos en comparación con los días y semanas anteriores para todas las muestras realizadas en el laboratorio o desde un sitio de recolección en particular, señalando que múltiples muestras positivas estaban muy cerca en las placas en la placa de PCR. m, o encontrar que el alto volumen de muestras positivas exhiben altos valores de tiempo de ciclo (Ct) que podrían estar asociados con una carga viral baja o problemas que afectan el corte para llamar a una muestra positiva,

indeterminada o negativa.^{19,20} En estas situaciones, el laboratorio debe volver a extraer la muestra original y volver a ejecutarla en la plataforma de PCR original o en una plataforma diferente con una sensibilidad similar. Si esto no se puede hacer, se debe obtener y probar una nueva muestra.^{19,20}

Hemos examinado la cuestión de los resultados positivos falsos en un entorno de cribado para un segmento de la industria del entretenimiento. Los diversos sindicatos que representan a los miembros involucrados en producciones de estudio y televisión han proporcionado pautas para las pruebas y otras medidas de seguridad en una publicación, The Safe Way Forward.²⁶ Han dividido las producciones en varias zonas, cada una con sus propios requisitos de pruebas PCR, desde pruebas tres veces a la semana hasta pruebas cada 2 semanas. Del 27 de septiembre al 5 de diciembre de 2020, The Walt Disney Company realizó 122,300 PCR en sitios de producción de televisión, de los cuales 323 fueron positivos (0.26%). Después de eliminar las

84 pruebas positivas encontradas durante el cribado previo al empleo, lo que lleva al individuo a entrar en aislamiento y no trabajar en una producción, la tasa de positividad durante la producción fue del 0,19%. Esta tasa es baja en comparación con la tasa promedio de los Estados Unidos durante ese mismo período (4.1% a 10.5%)²⁷ porque los miembros están en un programa de detección y se someten a pruebas con frecuencia. Además, los estudios han instituido estrictas medidas de seguridad.²⁶

En algunos, pero no en todos los casos, un resultado positivo inesperado en un elenco asintomático o miembro del equipo que tenía pruebas PCR negativas previas llevó a una evaluación de si la prueba fue un falso positivo al volver a evaluar a la persona 24 o más horas después de la prueba positiva en dos ocasiones. Si ambas nuevas pruebas fueron negativas, consideramos que la primera prueba fue un falso positivo. De las 239 pruebas positivas encontradas después de que se eliminaron las pruebas previas al empleo, 54 (22,6%)

se consideraron falsos positivos, lo que da un promedio predictivo positivo del 77,4%. Una advertencia importante a estos números es que hubo un sesgo de selección en quién fue investigado por la posibilidad de un resultado falso positivo. Como se señaló, todos los individuos eran asintomáticos y tenían al menos una prueba negativa antes del empleo, y muchos tenían múltiples pruebas PCR negativas antes de que apareciera un positivo. Además, hubo "brotes" de pruebas positivas debido a la contaminación documentada de reactivos o errores en la programación de la plataforma de PCR. Encontrar múltiples individuos asintomáticos que no han estado en contacto con la repetición de los hisopos nasales originales y la prueba de nuevas muestras

recién obtenidas. Dado que no reevaluamos sistemáticamente todas las pruebas positivas, es posible que hayamos subestimado la tasa de falsos positivos.

Nuestra experiencia y los datos revisados anteriormente nos han llevado a desarrollar un algoritmo para evaluar un resultado positivo inesperado en un individuo asintomático sin contacto cercano conocido con una persona infectada activamente en un entorno de detección para la industria del entretenimiento (Fig. 1). Creemos que este algoritmo debe aplicarse a cualquier situación de detección y se ajusta a la recomendación de la OMS, el Reino Unido y el Instituto Noruego de Salud Pública.^{12,15,21,30,31} así como múltiples autores.

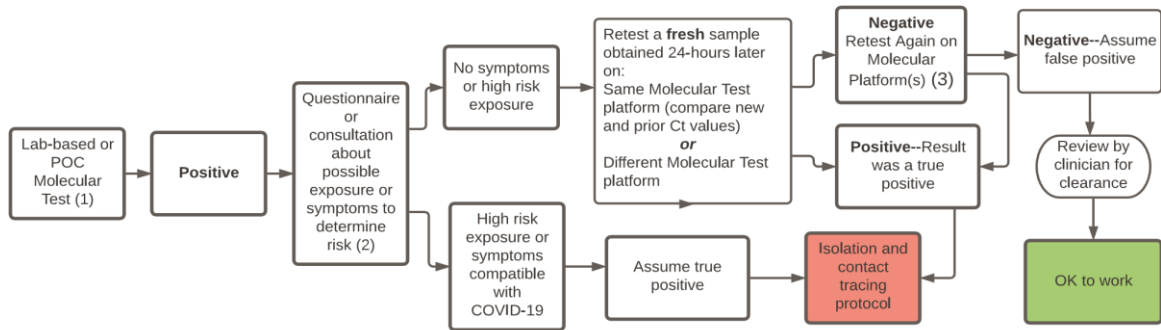
En resumen, hemos proporcionado pruebas adicionales de que los resultados

falsos positivos del SARSCoV-2PCRte se producen en el entorno clínico y son especialmente un problema en una situación de detección de baja prevalencia en la que la probabilidad previa de una prueba positiva es baja. Aunque sesabe que las limitaciones de recursos pueden limitar la cantidad de nuevas pruebas realizadas, postulamos que los costos humanos y económicos de considerar todos los resultados positivos como evidencia definitiva de infección justifican una evaluación de la posibilidad de que el resultado sea falsamente positivo en un individuo asintomático sin exposición conocida a una persona infectada activamente

TABLA 2. Impactos de los resultados falsos positivos (Modificado de ref^{12,21})

Aislamiento innecesario de individuos y cuarentena de contactos cercanos con tensiones financieras y psicológicas^{16,22} Rastreo y pruebas de contactos innecesarios²³
Consumo derrochador de equipos de protección individual
Retrasos en procedimientos quirúrgicos o de otro tipo^{16,23}
Prolongar estancias hospitalarias^{16,23} con consumo derrochador de EPI
Albergar potencialmente a individuos no infectados con individuos infectados en hospitales y áreas de vida congregadas con posible infección nosocomial^{16,22} Posible exposición aun tratamiento médico inapropiado
Individuo que tiene una falsa sensación de seguridad sobre la inmunidad, por lo que puede no seguir las pautas de salud pública o recibir la vacuna Impedir el diagnóstico correcto de los pacientes con síntomas
El sobrediagnóstico puede distorsionar las estadísticas epidemiológicas al incluir falsos positivos para estimar la prevalencia, la hospitalización y las tasas de mortalidad, así como el modelado (por ejemplo, algunas personas clasificadas como portadores asintomáticos pueden tener una prueba falsa positiva)

EPI, Equipo de Protección Individual.



- (1) Prior to coming on-site for screening testing, employees/crew members must pass an at-home self-assessment to determine whether COVID-19 symptoms are present. If symptomatic, they must stay home and isolate. If asymptomatic, they report to testing center on-site for scheduled screening test. POC = Point of Care
- (2) Following initial communication about the results and inquiry about symptoms and exposure to determine if the employee appears to be asymptomatic, they may be further screened by a questionnaire and/or be contacted by medical personnel for further evaluation to determine if they are high risk or truly asymptomatic and should have further molecular testing.
- (3) Either two samples obtained 24-hours apart from each other *or* two separate samples obtained at the time of the first retest (24-hours after the positive test) and tested on two different molecular platforms of similar sensitivity may be used.

FIGURA 1. Manejo de una prueba molecular positiva en un entorno de detección.

Glenn D. Braunstein, MD
 Departamento de Medicina, Cedars-Sinai
 Centro Médico
 Los Ángeles, California

Lori Schwartz, MD, FACOEM
 Pamela Hymel, MD, MPH, FACOEM
 Colegio Americano de Medicina Ocupacional y Ambiental 2021

REFERENCES

1. FDA, SARS-CoV-2 reference panel comparative data, current as of 12/2/2020. Available at: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/sars-cov-2-reference-panel-comparative-data>. Accessed December 11, 2020.
2. Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting infectious severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis*. 2020;71:2663–2666.
3. Jaafar R, Aherfi S, Wurtz N, et al. Correlation between 3790 qPCR positive samples and positive cell cultures including 1941 SARS-CoV-2 isolates. *Clin Infect Dis*. 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa 1491/5912603.
4. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, et al. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Euro Surveill*. 2020;25:2001483.
5. Kissler SM, Fauver JR, Mack C, et al. SARS CoV-2 viral dynamics in acute infections. *MedRxiv*. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.10.21.20217042>.
6. Mina MJ, Parker R, Larremore DB. Rethinking

Covid-19 test sensitivity—a strategy for containment. *N Engl J Med.* 2020;383:e120.

7. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in false-negative rate of reverse transcriptase polymerase chain reaction-based SARS-CoV-2 tests by time since exposure. *Ann Int Med.* 2020;173:262–267.

8. Woloshin S, Patel N, Kesselheim AS. False negative tests for SARS-CoV-2 infection—challenges and implications. *N Engl J Med.* 2020;383:e38.

9. CDC. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Testing overview; 2020. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-overview.html>. Accessed December 11, 2020.

10. FDA. Policy for coronavirus disease-2019 tests during the Public Health Emergency (Revised). Immediately in effect guidance for clinical laboratories, commercial manufacturers, and Food and Drug Administration staff. Document issued on the web May 11, 2020. Available at: <https://www.fda.gov/media/135659/download>. Accessed December 11, 2020.

11. FDA. Molecular diagnostic template for commercial manufacturers. In *In vitro Diagnostics EUAs*; 2020. Available at: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/in-vitro-diagnostics-euas>. Accessed December 11, 2020.

12. Cohen AN, Kessel B, Milgroom MG. Diagnosing SARS-CoV-2 infection: the danger of over-reliance on positive test results. False positive test results impact clinical and policy decisions (including Supplemental Material). Available at: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.26.20080911v4.full.pdf>. Accessed December 11, 2020.

13. Mayers C, Baker K. Impact of false-positives and false-negatives in the UK's COVID-19 RT-PCR testing programme. Available at: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/895843/S0519_Impact_of_false_positives_and_negatives.pdf. Accessed December 11, 2020.

14. Matheeußen V, Corman VM, Mantke OD, et al., On behalf of the RECOVER project and collaborating networks. International external quality assessment for SARS-CoV-2 molecular detection and survey on clinical laboratory preparedness during the COVID-19 pandemic, April/May 2020. *Euro Surveill.* 2020;25: pii=2001223.

FIGURE 1. Management of a positive molecular test in a screening setting.

JOEM Volume 63, Number 3, March 2021 Letter to the Editor
2021 American College of Occupational and Environmental Medicine e161

Copyright © 2021 American College of Occupational and Environmental Medicine. Unauthorized reproduction of this article is prohibited

15. Skittrall JP, Wilson M, Smielewska AA, et al.

-
- Specificity and positive predictive value of SARS-CoV-2 nucleic acid amplification testing in a low-prevalence setting. *Clin Microbiol Infect.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.10.003>.
16. Katz AP, Civantos FJ, Sargi Z, et al. False-positive reverse transcriptase polymerase chain reaction screening for SARS-CoV-2 in the setting of urgent head and neck surgery and otolaryngologic emergencies during the pandemic: clinical implications. *Head Neck.* 2020;42:1621–1628.
17. Wernike K, Keller M, Conraths FJ, Mettenleiter TC, Groschup MH, Beer M. Pitfalls in SARS-CoV-2 diagnostics. *Transbound Emerg Dis.* 2020. DOI: 10.1111/tbed.13684.
18. Mogling R, Meijer A, Berginc N, et al. Delayed laboratory response to COVID-19 caused by molecular diagnostic contamination. *Emerg Infect Dis.* 2020;26:1944–1946.
19. Huggett JF, Benes V, Bustin SA, et al. Cautionary note on contamination of reagents used for molecular detection of SARS-CoV-2. *Clin Chem.* 2020;66:1369–1372.
20. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. Interim guidance; 2020. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>. Accessed December 11, 2020.
21. Surkova E, Nikolayevskyy V, Drobniewski F. False-positive COVID-19 results: hidden problems and costs. *Lancet Resp Med.* 2020; 8:1167–1168.
22. Linder R, Cohen S, Zikri AB. Israeli lab to stop coronavirus testing after dozens misdiagnosed. Dozens of elderly people from two different nursing homes received false positives; at least 16 were taken to coronavirus wards, where they were heavily exposed to the virus. *Haaretz*; 2020. Available at: <https://www.haaretz.com/israel-news/.premium-israeli-lab-to-stop-testing-after-dozens-misdiagnosed-with-coronavirus-1.8777241>. Accessed December 11, 2020.
23. Healy B, Khan A, Metezai H, et al. Covid-19 testing, low prevalence, and the impact of false positive results. *BMJ.* 2020;369:m1808.
24. Who COVID-19 case definition. Available at: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance_Case_Definition-2020.1. Accessed December 11, 2020.
25. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). 2020 interim case definition, approved August 5, 2020. Available at: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance_Case_Definition-2020.1. Accessed December 11, 2020.
26. The Safe Way Forward. A joint report of the DGA, SAG-AFTRA, IATSE and Teamsters' Committees for COVID-19 safety Guidelines. Available at: https://www.sagaftra.org/files/sa_documents/ProductionSafetyGuidelines_June2020EditedP.pdf. Accessed December 11, 2020.

-
27. Available at: <https://coronavirus.jhu.edu/data>. Accessed December 11, 2020.
28. Public Health England. Assurance of SARS-CoV-2 RNA positive results during periods of low prevalence; 2020. Available at: <https://www.gov.uk/government/publications/sars-cov-2-rna-testing-assurance-of-positive-results-during-periods-of-low-prevalence/assurance-of-sars-cov-2-rna-positive-results-during-periods-of-low-prevalence>. Accessed December 11, 2020.
29. Norwegian Health Network. Test criteria for coronavirus; 2020. Available at: <https://www.fhi.no/nettpub/coronavirus/testing-og-oppfolging-av-smittede/testkriterier/?term=&h=1>. Accessed December 11, 2020.
30. Sudlow C, Diggle P, Warlow O, et al. Testing for coronavirus (SARS-CoV-2) infection in populations with low infection prevalence: the largely ignored problem of false positives and the value of repeat testing. Available at: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.08.19.20178137v1>. Accessed December 11, 2020.
31. Cohen AN, Kessel B, Milgroom MG. SARS-CoV-2 mass testing endangers residents of long-term care facilities. Available at: <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3656876>. Accessed December 11, 2020.
- Letter to the Editor JOEM Volume 63, Number 3, March 2021
e162 2021 American College of Occupational and Environmental
Medic