

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS Y MARCADORES BIOQUÍMICOS PARA COVID 19: UTILIDAD Y SIGNIFICADO CLÍNICO

DIAGNOSTIC TESTS AND BIOCHEMICAL MARKERS FOR COVID 19: USEFULNESS AND CLINICAL SIGNIFICANCE

Marcela Alexandra Miranda Ayala^{1*}

¹ Universidad Estatal del Sur de Manabí. Facultad de Ciencias de la Salud. Maestría en Ciencias de Laboratorio Clínico. Jipijapa-Manabí. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9701-100X>. Correo: miranda-marcela1600@unesum.edu.ec

Jimmy Francisco Morocho Dután²

² Universidad Estatal del Sur de Manabí. Facultad de Ciencias de la Salud. Maestría en Ciencias de Laboratorio Clínico. Jipijapa-Manabí. Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7664-1566>. Correo: morocho-jimmy7025@unesum.edu.ec

Karina Maricela Merchán Villafuerte³

³ Magíster en Bioquímica clínica, diplomado en Desarrollo local y salud, Bioquímica farmacéutica, Docente Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal del Sur de Manabí, Jipijapa, Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8059-7518>. Correo: karina.merchan@unesum.edu.ec

* Autor para correspondencia: miranda-marcela1600@unesum.edu.ec

Resumen

El mundo se encuentra en medio de una pandemia causada por la enfermedad coronavirus 2019 (COVID-19), asociada al virus SARS-CoV-2, reportado por primera vez en diciembre de 2019 en la provincia de Wuhan, China. Debido a su rápida propagación, existe la necesidad de diagnósticos rápidos y precisos que permitan monitorear mejor la enfermedad. El objetivo de esta revisión fue describir y analizar los principales métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de la COVID-19, así como los marcadores bioquímicos asociados con la progresión de la enfermedad. Para ello, se realizó una búsqueda minuciosa en PubMed utilizando las siguientes palabras clave: (COVID-19; SARS-CoV-2; serología, PCR en tiempo real; métodos; Pruebas rápidas; biomarcadores). Esta revisión ofrece un enfoque de la enfermedad desde el punto de vista del laboratorio clínico, y aporta claridad al creciente conjunto de pruebas de diagnóstico disponibles y en desarrollo; así como la comprensión de los parámetros bioquímicos que se alteran durante la misma. La

identificación de biomarcadores de laboratorio eficaces capaces de clasificar a los pacientes en función de su riesgo es imprescindible para poder garantizar un tratamiento oportuno y sirve como guía para científicos, médicos, estudiantes y el público en general.

Palabras clave: SARS-CoV-2; COVID-19; diagnóstico de laboratorio; serología; PCR en tiempo real.

Abstract

The world is in the midst of a pandemic caused by the coronavirus disease 2019 (COVID-19), associated with the SARS-CoV-2 virus, first reported in December 2019 in the province of Wuhan, China. Due to its rapid spread, there is a need for rapid and accurate diagnostics to better monitor the disease. The objective of this review was to describe and analyze the main laboratory methods used for the diagnosis of COVID-19, as well as the biochemical markers associated with the progression of the disease. To do this, a thorough PubMed search was performed using the following keywords: (COVID-19; SARS-CoV-2; serology, real-time PCR; methods; rapid tests; biomarkers). This review provides a clinical laboratory approach to the disease, bringing clarity to the growing body of diagnostic tests available and under development; as well as the understanding of the biochemical parameters that are altered during it. The identification of effective laboratory biomarkers capable of classifying patients according to their risk is essential to ensure timely treatment and serves as a guide for scientists, doctors, students and the general public.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; laboratory diagnosis; serology; real-time PCR.

Fecha de recibido: 18/09/2022

Fecha de aceptado: 09/11/2022

Fecha de publicado: 10/11/2022

Introducción

El diagnóstico de laboratorio oportuno representa un punto estratégico para interrumpir la transmisión del SARS-CoV-2, ya que permite identificar a las personas infectadas para el manejo clínico apropiado en las instalaciones de aislamiento, posibilita el rastreo de contactos y aporta información epidemiológica y de vigilancia en tiempo real al público para la prevención y el control de la enfermedad. Existen dos enfoques principales para dicho diagnóstico. En primer lugar, las pruebas de laboratorio que detectan el SARS-CoV-2 (su ARN o proteínas virales) en muestras clínicas de personas infectadas, incluidos hisopos nasofaríngeos, esputo, líquido de lavado broncoalveolar, hisopos orofaríngeos o saliva en menor grado. En segundo lugar, pruebas de laboratorio que detectan evidencia de la respuesta inmunitaria del hospedador frente al virus principalmente mediante la detección de anticuerpos IgM e IgG específicos contra el virus (Pedrañez A et al, 2021).

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), causada por el SARS-CoV-2, apareció en China por primera vez en el mes de diciembre del año 2019 y luego se extendió rápidamente por todo el mundo (Hosseini ES et al, 2020). El 30 de enero de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) anunció la epidemia de COVID-19 como una amenaza para la salud pública a nivel internacional y posteriormente, el 11 de marzo de 2020, la declaró oficialmente una pandemia (OMS, 2020).

Los síntomas clínicos de la COVID-19 se pueden manifestar después de 5 a 6 días de incubación y varían ampliamente, pudiendo ir desde un proceso asintomático hasta la aparición de una variedad de síntomas como, tos seca, dolor de garganta, pérdida del gusto y el olfato, dificultad para respirar, cansancio, mialgia, náuseas, vómitos, diarrea, hasta el desarrollo de síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), neumonía y disfunción de múltiples órganos pudiendo conducir a la muerte con una tasa de letalidad que oscila entre 2 y 3 % (Tu Het al, 2020 (Li X et al, 2020). El SARS-CoV-2 se transmite principalmente por contacto directo, mediante pequeñas gotas de saliva que son expulsadas del tracto respiratorio de una persona infectada al hablar, toser o estornudar. Recientemente, se ha descrito la transmisión a través de aerosoles en condiciones favorables, particularmente en entornos con mala ventilación y exposición de larga duración (Tang S et al, 2020). Un número importante de los infectados tienen cargas virales detectables antes de presentar síntomas, o sin desarrollarlos nunca.

El índice de transmisión de los pacientes asintomáticos depende de la prevalencia de la enfermedad en la población, la cual es difícil de evaluar sin un cribado poblacional adecuado y generalizado (Lee S et al, 2020). En relación a este punto, el análisis de la carga viral de los pacientes asintomáticos reveló que los niveles son similares al de los pacientes sintomáticos (Zou L et al, 2020). Estos resultados suponen un reto para el éxito del rastreo de contactos y el control de la exposición. En conjunto, los datos indican la importancia no solo del distanciamiento físico y el uso de mascarillas, sino, además, la aplicación generalizada de pruebas y el aislamiento de los casos positivos independientemente de la presencia de síntomas, con el objeto de contener y mitigar la pandemia. Existen diferentes métodos para detectar la infección por SARS-CoV-2. En esta revisión se describen las pruebas de laboratorio más utilizadas en la actualidad para diagnosticar la COVID-19, incluyendo las pruebas moleculares y serológicas, así como sus ventajas y limitaciones. Además, se abordan los principales marcadores biológicos que permiten evaluar la progresión de la enfermedad.

Materiales y métodos

Se trata de un estudio diseño documental, fue de tipo explorativa y descriptivo. Se realizó una revisión bibliográfica de artículos científicos en idioma inglés y castellano en revistas indexadas en PubMed, Scielo Elseiver Redalyc Latinex, Dialnet, Medigraphic Google académico. Para la recopilación de información se utilizaron palabras claves tales como: Diagnostico, biomarcadores y utilidad clínica. En la base de datos PubMed, en las cuales se utilizaron los términos MeSH "serología", "laboratorio clínico", "Covid19", "pruebas diagnósticas", "Salud", "SARS-CoV-2". Se empleó el uso del boleano "and", "or" ya que el interés fue examinar las publicaciones sobre los biomarcadores y el diagnóstico clínico del Covid 19. Se incluyeron en la búsqueda de información tanto artículos originales como de revisión. La mayor parte de los artículos revisados fueron publicados entre 2017 y 2022. Posteriormente se aplicaron criterios de selección

basados en la relevancia, vigencia y centradas en la temática. Se incluyó estudios de artículos originales publicados durante el periodo 2017-2022. Este es un estudio bibliográfico basado en la búsqueda de información veraz sobre el tema, no requiere la participación de animales ni humanos y por lo tanto no considera cuestiones bioéticas en este proyecto. Además de comprender la información verificada, incluye consideraciones éticas que se aplican a todas las etapas de la investigación, desde la planificación hasta la realización y evaluación de un proyecto de investigación. Se hace notar que este estudio no contiene conflicto de intereses.

Resultados y discusión

La carga viral del SARS-CoV-2 difiere según la muestra utilizada y el periodo de la enfermedad. En este sentido, las muestras respiratorias, sanguíneas y fecales muestran una amplia variación (Huang C et al, 2020). La propagación de la infección desde el tracto respiratorio hacia otros tejidos y órganos está relacionada con la expresión celular de la molécula ACE2, la cual es el receptor que utiliza el virus para invadir las células (Machhi J et al, 2020). En este contexto, la carga viral en las muestras respiratorias es mayor durante las fases iniciales de la enfermedad, alcanzando un pico en la segunda semana, seguido de una disminución. Sin embargo, en la enfermedad grave, la carga viral en muestras respiratorias es más alta en la tercera y cuarta semanas (He Y et al, 2020).

Es importante considerar que el diagnóstico de neumonías virales como las causadas por el SARS-CoV-2 implica recolectar la muestra correcta en el momento adecuado. Los coronavirus se han detectado tanto en muestras del tracto respiratorio superior como inferior. Esto incluye muestras de garganta, nasofaringe, esputo y líquido bronquial (Charlton C et al, 2018). Recientemente, se ha informado que los hisopos orofaríngeos (OF) se utilizaron con mucha más frecuencia que los hisopos nasofaríngeos (NF) en China al inicio del brote de COVID-19; sin embargo, el ARN del SARS-CoV-2 se detectó sólo en el 32 % de los hisopos OF, lo cual fue significativamente más bajo que en los hisopos de NF (63 %) (Wang W et al, 2020). Los centros para el control y la prevención de enfermedades (CDC) de EE. UU, recomiendan recolectar el hisopo NF.

La recolección de una muestra de OF es de una prioridad más baja y si se recolecta, debe combinarse en el mismo tubo que el hisopo NF. Además, las muestras de deben colocarse en un medio de transporte universal o viral. En general, se recomienda para la detección más sensible de SARS-CoV-2, la recolección y análisis de muestras de las vías respiratorias superiores e inferiores como esputo o líquido de lavado broncoalveolar (LBA) (Erensoy S, 2020). Sin embargo, la recolección de esputo y en particular LBA a través de la broncoscopia aumenta el riesgo de bioseguridad para los trabajadores de la salud debido a la generación de aerosoles. La broncoscopia es un procedimiento altamente técnico que requiere personal bien capacitado y es posible que no esté disponible en muchas partes del mundo.

Comentario inicial sobre las pruebas diagnósticas El diagnóstico de laboratorio oportuno representa un punto estratégico para interrumpir la transmisión del SARS-CoV-2, ya que permite identificar a las personas infectadas para el manejo clínico apropiado en las instalaciones de aislamiento, posibilita el rastreo de contactos y aporta información epidemiológica y de vigilancia en tiempo real al público para la prevención y el control de la enfermedad (Charlton C et al, 2018). Existen dos enfoques principales para dicho diagnóstico. En primer lugar, las pruebas de laboratorio que detectan el SARS-CoV-2 (su ARN o proteínas virales) en muestras clínicas de personas infectadas, incluidos hisopos nasofaríngeos, esputo, líquido de lavado

broncoalveolar, hisopos orofaríngeos o saliva en menor grado. En segundo lugar, pruebas de laboratorio que detectan evidencia de la respuesta inmunitaria del hospedador frente al virus principalmente mediante la detección de anticuerpos IgM e IgG específicos contra el virus (Erensoy S, 2020). Prueba de amplificación de ácido nucleico: RT-PCR La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) es el ensayo de base molecular que se utiliza a nivel mundial para detectar el ARN del SARS-CoV-2 en muestras clínicas de pacientes que manifiestan signos y síntomas compatibles con COVID-1920. Ha sido hasta ahora la prueba más utilizada y confiable para el diagnóstico de COVID-19. Se realiza con hisopos nasofaríngeos u otras muestras del tracto respiratorio superior, incluidos hisopos de garganta o más recientemente, saliva. El material genético es extraído de las muestras y se utiliza la transcriptasa inversa para hacer una cadena complementaria de ADN (ADNc) a partir del ARN viral. Posteriormente, el ADNc se amplifica utilizando la enzima Taq ADN polimerasa. Este material amplificado luego es detectado mediante sondas fluorescentes específicas de SARS-CoV-2. El flujo de trabajo general de la prueba RT-qPCR (una variante de la técnica original, que además permite cuantificar la carga viral).

La amplificación selectiva del ácido nucleico se logra mediante el diseño de cebadores específicos que flanquean regiones de interés que son exclusivas del genoma del SARS-CoV-2 como el marco de lectura abierta de la replicasa (ORF1a/b), espiga (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N). Es importante resaltar que los resultados de la RT-PCR utilizando cebadores dirigidos a diferentes partes del genoma viral pueden verse afectados por la variación de la secuencia del ARN viral. Además, pueden producirse resultados falsos negativos debido a la evolución viral, o a fallas en la toma de muestra. Otras limitaciones de esta prueba incluyen el almacenamiento de las muestras, la purificación de baja calidad del ácido nucleico, el costo y los tiempos de espera (He Y et al, 2020). En la actualidad, las pruebas de RT-PCR disponibles en el mercado mundial, están destinadas a detectar secuencias de genes ORF1ab, E, N o S en diversas combinaciones. Estas variaciones dependen del fabricante.

El protocolo de la prueba es complejo y costoso, siendo principalmente adecuado para laboratorios de diagnóstico grande y centralizado. Las pruebas suelen tener una duración de 4 a 6 horas. Sin embargo, los requisitos logísticos relacionados con el envío de las muestras, implican que el tiempo de ejecución sea de 24 horas o más en algunos casos (Hosseini ES et al, 2020). A pesar de estas limitaciones, la prueba RT-PCR sigue siendo el método de referencia para el diagnóstico del SARS-CoV-2. Las muestras deben obtenerse utilizando un hisopo flocado, si está disponible, para mejorar la recolección y liberación del material celular. Se prefieren los hisopos con mango de aluminio o plástico. Se deben evitar aquellos que contienen materiales como alginato de calcio, algodón o madera, debido a que pueden contener sustancias que interfieren con los resultados de la prueba (Huang C et al, 2020).

La interpretación adecuada de los resultados de las pruebas de diagnóstico se basa en las manifestaciones clínicas y la historia epidemiológica del paciente. Por lo tanto, un resultado de laboratorio positivo significa en la mayoría de los casos que la persona examinada tiene una infección activa por SARS-CoV-2 (incluso si no hay signos y síntomas clínicos) y por tal motivo, se considera infecciosa para los contactos humanos susceptibles. Por el contrario, dos resultados negativos consecutivos de la prueba indican que el individuo no tiene ARN del SARS-CoV-2 detectable en el momento del muestreo y no se considera infectado o infeccioso²⁵. Sin embargo, es importante aclarar que los resultados de la prueba RT-PCR deben analizarse con cautela y evaluarse conjuntamente con la evolución clínica del paciente, dado que la presencia de material

genético en las secreciones del tracto respiratorio no necesariamente tiene relación directa con la viabilidad o infectividad del virus, ya que se pueden detectar partículas virales inactivas o muertas (Lee S et al, 2020).

Detección de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 El conocimiento de la dinámica de la respuesta inmunitaria frente al virus es esencial para formular pruebas de diagnóstico y estrategias de tratamiento. Los estudios en pacientes con COVID-19 sugieren que la seroconversión, es decir, cuando la concentración de anticuerpos específicos se hace detectable en la sangre, tiene lugar días después de que la carga viral haya alcanzado un incremento importante (Li X et al, 2020). Por lo tanto, las pruebas serológicas serían menos efectivas en las primeras etapas de la COVID-19. Esto ha sido confirmado por algunos estudios que informaron sobre la seroconversión de IgM e IgG en el 50 % de los pacientes una semana después del inicio de los síntomas. Se ha descrito que el tiempo medio para la detección de IgM e IgG en pacientes con COVID-19 es entre 7 y 14 días, respectivamente. Otros estudios también revelaron que los niveles de estas inmunoglobulinas eran significativamente más altos en los casos graves de COVID-19 que en los pacientes con enfermedad leve o moderada, lo cual sugiere que las pruebas serológicas requieren una alta sensibilidad para detectar niveles más bajos de anticuerpos en los casos leves. Los estudios sobre la persistencia de anticuerpos en sangre han revelado que se pueden detectar niveles altos de IgG durante al menos 49 días después del inicio de los síntomas; mientras que, los niveles de IgM disminuyen rápidamente el día 35 después de la infección (OMS, 2020).

Esta revisión ofrece un enfoque de la enfermedad desde el punto de vista del laboratorio clínico, y aporta claridad al creciente conjunto de pruebas de diagnóstico disponibles y en desarrollo; así como la comprensión de los parámetros bioquímicos que se alteran durante la misma. La identificación de biomarcadores de laboratorio eficaces capaces de clasificar a los pacientes en función de su riesgo es imprescindible para poder garantizar un tratamiento oportuno y sirve como guía para científicos, médicos, estudiantes y el público en general (Pedrañez A et al, 2021).

Los protocolos de seguridad para la obtención, traslado, manejo y utilización de la muestra son de suma importancia para proporcionar resultados precisos e interpretables. Complementar las fortalezas de pruebas moleculares que permiten la detección específica del SARS-CoV-2 con ensayos inmunológicos que valoran la respuesta inmune del hospedero será crucial para el diagnóstico certero, y a tiempo, de los pacientes. Adicionalmente, estas mismas técnicas ofrecen alternativas para la determinación de marcadores moleculares con valor pronóstico, los que serán especialmente valiosos para diferenciar el manejo de los pacientes menores de 60 años sin comorbilidades preexistentes (Aguilar P et al, 2020).

Conclusiones

El papel del laboratorio clínico es determinante en el manejo de esta pandemia. Actualmente, existe una variedad de pruebas basadas en ácidos nucleicos, antígenos y anticuerpos disponibles para la detección de la infección por SARS-CoV-2. Si bien las pruebas basadas en ácidos nucleicos o las pruebas de detección de antígenos se utilizan con fines diagnósticos, las pruebas de detección de anticuerpos pueden utilizarse para evaluar la exposición al virus o para la serovigilancia poblacional. Estas pruebas varían ampliamente en cuanto a sensibilidad, y es clave comprender la evolución de la enfermedad y la distribución del virus en los

diferentes tejidos. Actualmente, RT-PCR sigue siendo la técnica de primera línea y el método de referencia para la detección de la infección por SARSCoV-2. Sin embargo, debido a la capacidad limitada de los laboratorios para la realización de pruebas moleculares, aunado al elevado tiempo de respuesta, otras pruebas pueden servir como una modalidad de detección alternativa para el cribado de la infección por SARS-CoV-2. Por otra parte, la identificación y cuantificación de biomarcadores que permitan predecir rápidamente la progresión de la enfermedad es de especial importancia, pues mejoraría el manejo clínico y la prevención de complicaciones graves.

Referencias

- Aguilar P et al. (2020). Pruebas diagnósticas para la COVID-19: la importancia del antes y el después. *Horizonte Médico (Lima)*, <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2020.v20n2.14> .
- Charlton C et al. (2018). Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Viruses Causing Acute Respiratory Tract Infections. *Clin Microbiol Rev*, 32(1):e00042-18. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/CMR.00042-18>.
- Erensoy S. (2020). COVID-19 Pandemisinde SARS-CoV-2 ve Mikrobiyolojik Tanı Dinamikler [SARS-CoV2 and Microbiological Diagnostic Dynamics in COVID-19 Pandemic. *Mikrobiyol Bul*, 54(3):497-509. Disponible en: <https://doi.org/10.5578/mb.69839>.
- He Y et al. (2020). Value of Viral Nucleic Acid in Sputum and Feces and Specific IgM/IgG in Serum for the Diagnosis of Coronavirus Disease 2019. *Front Cell Infect Microbiol* , 10:445. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00445>.
- Hosseini ES et al. (2020). The novel coronavirus Disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. . *Virology*, 551:1-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.08.011>.
- Huang C et al. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* , 395(10223):497-506. Disponible en:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).
- Lee S et al. (2020). Asymptomatic carriage and transmission of SARS-CoV-2: What do we know? . *Can J Anaesth*, 67(10):1424-1430. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12630-020-01729-x>.
- Li X et al. (2020). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal* , 10(2):102-108. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>.
- Machhi J et al. (2020). The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *J Neuroimmune Pharmacol*, 15(3):359-386. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11481-020-09944-5>.
- OMS. (2020). Alocución de apertura del Director General de la OMS en la rueda de prensa sobre la COVID-19 celebrada el 11 de marzo de 2020. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
- Pedrañez A et al. (2021). Laboratorio clínico y COVID-19. Diagnóstico y biomarcadores asociados con la progresión de la. *QhaliKay*, file:///C:/Users/PC/Downloads/3572-Art%C3%ADculo-14114-2-10-20210922.pdf.
- Tang S et al. (2020). Aerosol transmission of SARS-CoV-2? Evidence, prevention and control. . *Environ Int* , 144:106039. Disponible en:<https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106039>.

- Tu Het al. (2020). Current epidemiological and clinical features of COVID-19; a global perspective from China. *J Infect* , 81(1):1-9. Disponible en:<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.011>.
- Wang W et al. (2020). Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA* , 323(18):1843-1844. Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>.
- Zou L et al. (2020). SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med* , 382(12):1177-1179. Disponible en: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2001737>.