

Características del SARS-CoV-2, COVID-19 y su diagnóstico en el laboratorio

Characteristics of SARS-CoV-2, COVID-19, and laboratory diagnosis

Zayra Montaña-Rivera¹ , Adriana Ximena Muñoz-Bravo² ,
Jhoalmis Sierra-Castrillo³ , Lyz Jenny Gómez-Rave⁴ 

Resumen. La enfermedad COVID-19 es causada por el virus SARS-CoV-2, descrito por primera vez en diciembre del 2019 en Wuhan, China, y declarada en marzo del 2020 como una pandemia mundial. Actualmente existen diversos métodos diagnósticos para COVID-19, siendo el estándar de oro la detección del material genético mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en su variante, la RT-PCR, que detecta el material genético de tipo ARN presente en el virus. Sin embargo, es necesario disponer de pruebas rápidas con alta sensibilidad y precisión para realizarlas a gran escala y brindar un diagnóstico oportuno. Adicionalmente, se debe disponer de otras herramientas que, si bien no van a establecer un diagnóstico, le van a permitir al profesional brindar un mejor manejo clínico y epidemiológico que ayuden a predecir el agravamiento del paciente y su posible ingreso a UCI, destacando entre estas los niveles de dímero D, linfocitos, ferritina, urea y creatinina, entre otras. En esta revisión se evalúa la utilidad y limitaciones de los diferentes métodos diagnósticos para COVID-19, al igual que las características, fisiopatología y respuesta inmune al SARS-CoV-2, así como algunos aspectos preanalíticos de importancia que ayudan a minimizar errores en el diagnóstico como consecuencia de procedimientos incorrectos en la toma, transporte y conservación de la muestra, y que permiten al profesional emitir resultados veraces y confiables. Lo anterior se realizó basado en artículos originales, revisiones y guías clínicas.

¹ Estudiante de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. Medellín, Colombia.

² Química Farmacéutica, MSc en Bioquímica Clínica. Docente, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Grupo Biociencias, Facultad de Ciencias de la Salud, Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. Medellín, Colombia.

³ Bacterióloga y Laboratorista Clínica, MSc en Bioquímica Clínica. Docente, Facultad de Salud, Grupo Biogen, Universidad de Santander, Campus Cúcuta. Cúcuta, Colombia. E-mail: Jho.sierra@mail.udes.edu.co.

⁴ Química Farmacéutica, MSc en Bioquímica Clínica. Docente, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Grupo Biociencias, Facultad de Ciencias de la Salud, Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. Medellín, Colombia.

Conflicto de interés: las autoras declaran que no tienen conflicto de interés.

Medicina & Laboratorio 2022;26:237-259. <https://doi.org/10.36384/01232576.588>.

Recibido el 10 de febrero de 2022; aceptado el 16 de mayo de 2022. Editora Médica Colombiana S.A., 2022[®].

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19, mediadores de inflamación, técnicas, procedimientos, diagnóstico, PCR, ferritinas, lactato deshidrogenasa, bioseguridad.

Abstract. COVID-19 is caused by the SARS-CoV-2 virus, first described in December 2019 in Wuhan, China, and declared a global pandemic in March 2020. Currently there are various diagnostic methods for COVID-19, the gold standard is the detection of genetic material through polymerase chain reaction (PCR) in its variant, RT-PCR, which detects RNA-type genetic material present in the virus. However, it is necessary to have rapid tests with high sensitivity and precision to be performed on a large scale and provide timely diagnosis. Furthermore, other tools must be available, and although they will not establish the diagnosis, will allow the professional to provide better clinical and epidemiological management that will help predict the worsening of the patient and possible admission to the ICU. Among these, levels of D-dimer, lymphocytes, ferritin, urea and creatinine. In this review, the usefulness and limitations of the different diagnostic methods for COVID-19 are evaluated, as well as the characteristics, pathophysiology and immune response to SARS-CoV-2, and some important preanalytical aspects that allow minimizing diagnostic errors as a consequence of incorrect procedures in the collection, transport and conservation of the sample, that allow the professional to yield accurate and reliable results. This article was completed based on original articles, reviews and clinical guidelines.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, inflammation mediators, diagnostic, procedures, techniques, PCR, ferritins, lactate dehydrogenase, biohazards.

Introducción

El primer caso de COVID-19 fue descrito el 8 de diciembre de 2019, en Wuhan (Hubei, China,) como un caso de neumonía de origen desconocido. Luego del aislamiento y estudio del virus, el Ministerio de Sanidad de China indicó que se trataba del SARS-CoV-2, un virus relacionado con la familia de antiguos coronavirus responsables del desarrollo de la gripe común.

Sobre su evolución, se sabe que a finales del 2019 se registró un salto de especie hacia los humanos, causando inicialmente 835 casos de infección reportados en enero del 2020 en China, que posteriormente con el paso de los días, se extendieron a otros países del mundo. Debido a esto, la Organi-

zación Mundial de la Salud (OMS) declaró desde marzo de 2020 una nueva pandemia mundial. Todavía no se conoce el origen del virus, pero al parecer se trataría de una zoonosis, teoría que se refuerza gracias estudios sobre consumo de mamíferos como el pangolín [1].

Ahora bien, debido a la condición de pandemia, es de vital importancia que los servicios de salud dispongan de métodos confiables para la detección del virus. Estos deben brindar un diagnóstico oportuno que contribuya con la reducción de la propagación de la enfermedad. En la actualidad existen diferentes métodos diagnósticos para COVID-19, algunos con ventajas en relación a sensibilidad o especificidad, y otros con desventajas sobre costos,

infraestructura o personal capacitado para su aplicación [2]. A pesar de que el procedimiento de elección es la técnica molecular RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa), se hace necesario disponer de pruebas rápidas más simples, pero con alta sensibilidad y precisión que se puedan realizar a gran escala para brindar un diagnóstico temprano, y un mejor manejo clínico y epidemiológico de los pacientes.

En esta revisión se evalúan las características del SARS-CoV-2, la fisiopatología y la respuesta inmune durante COVID-19, la utilidad y limitaciones de los diferentes métodos diagnósticos, así como algunos aspectos preanalíticos que permiten minimizar errores en esta fase.

Características del SARS-CoV-2

Los coronavirus pertenecen a la familia *Coronaviridae*, que tiene dos subfamilias: *Letovirinae* y *Orthocoronavirinae*. Estos son virus ARN de una sola cadena de sentido positivo. El tamaño de los genomas varía entre 26 a 32 kilonucleótidos, siendo uno de los virus de tipo ARN positivos de mayor tamaño. Tienen una nucleocápside de simetría helicoidal con una envoltura que posee glicoproteínas similares a una corona de puntas, de allí proviene su nombre de coronavirus. El virus puede medir entre 120 nm a 160 nm de diámetro aproximadamente.

La subfamilia *Orthocoronavirinae* se compone de cuatro géneros según su estructura genética: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus*. De estos géneros, solo hay 7 especies que producen enfermedad en el hombre, siendo el séptimo el SARS-CoV-2 [3].

La proteína S (del inglés *spike*, o espícula) es una glicoproteína presente en la envoltura del virus. Esta proteína es la responsable de mediar ante el receptor celular y permitir la entrada del virus a las células blanco. La proteína S posee dos subunidades, S1 y S2; la S1 porta el dominio de unión al receptor encargado de interactuar con la célula blanco, a través del acople a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) [4]. La ACE2 es una aminopeptidasa expresada en diferentes tejidos y se encarga de catalizar la formación de angiotensina II a partir de angiotensina I, desempeñando un papel clave en el control de la función cardiorrenal y en el control de la presión arterial [4,5].

El mecanismo de infección inicia cuando se produce la interacción entre el dominio de unión al receptor (RBD) de la subunidad S1 a la ACE2. En COVID-19, la ACE2 activa la endocitosis, produciendo un endosoma donde la subunidad S1 es escindida, exponiendo el dominio de fusión de la subunidad S2 que, a su vez, se pliega sobre sí misma para unir los bucles de repetición heptada HR1 y HR2, induciendo la fusión de la membrana y la liberación del virión al citoplasma. Esto conlleva a la escisión de diferentes formas de la proteína S. La presencia de la proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2) es esencial para que el SARS-CoV-2 entre en las células del huésped [6].

Variantes del SARS-CoV-2

Aunque el genoma de SARS-CoV-2 parece estable, este virus ARN posee una cadena simple que acumula una alta tasa de mutaciones por ciclo replicativo. Estas mutaciones pueden afectar la interacción del antígeno espicular con el receptor de la célula huésped, modificando la susceptibilidad a la res-

puesta inmune, la agresividad de la infección o la capacidad de transmisión del virus. Las variantes pueden aparecer por deleciones genéticas (pérdida de una porción de la secuencia de ácidos nucleicos), mutaciones sin sentido (aparición de un codón de terminación prematuro), o por mutaciones no sinónimas con cambios en la codificación de aminoácidos [7].

En los últimos meses han surgido diferentes variantes que circulan en todo el mundo, y se prevé que en un futuro puedan continuar apareciendo otras nuevas. En la **tabla 1** se resumen las mutaciones que se han presenta-

do hasta la fecha y sus características clínicas.

Transmisión del virus

El SARS-CoV-2 es altamente contagioso y se transmite rápidamente de persona a persona a través de la tos o secreciones respiratorias por contacto cercano. Las gotas de secreciones respiratorias son capaces de transmitirse a una distancia de hasta dos metros. También, las manos o los fómitem contaminados transmiten el virus al hacer contacto con la mucosa de la boca, nariz u ojos [1].

Tabla 1. Mutaciones del SARS-CoV-2 y sus características clínicas. Tomado y adaptado de [7]

Nombre de la variante	Mutación	Características
Cepa salvaje	D614G	Se localiza en el epítopo de la región dominante que codifica la proteína S
Británica (ALFA)	Δ69/70, Δ144 (E484K), (S494P), N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H (K1191N)	Mayor transmisibilidad, gravedad y resistencia a la neutralización por anticuerpos monoclonales frente al antígeno S
Sudafricana (BETA)	D80A, D215G, Δ241/242/243, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V	Mayor gravedad o peor pronóstico. Mayor resistencia a la neutralización por suero de sujetos vacunados
Brasileña (GAMMA)	L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I	Mayor transmisibilidad y tasa de reinfección
California	L452R, D614G, S13I, W152C, L452R, D614G	Menor susceptibilidad a la neutralización por el suero de sujetos convalecientes o vacunados
India (DELTA)	L452R, E484Q, D614G	Mayor transmisibilidad, patogenicidad y potencial de reducción en la neutralización por suero post vacunal
Ómicron	Cerca de 50 mutaciones acumuladas en todo el genoma, 28 sustituciones de aminoácidos, 3 deleciones, 1 inserción y al menos 32 mutaciones en la proteína S	Capacidad de evasión de la inmunidad de infección previa. Se especula que la variante Ómicron podría haberse gestado en individuos, o podría haber evolucionado en una especie no humana y recientemente transmitida de nuevo a los seres humanos

Según lo reportado con otros coronavirus, estos virus tienen la capacidad de sobrevivir en superficies como el aluminio (de 2 a 8 horas), cobre (4 horas), guantes quirúrgicos (8 horas), plástico (72 a 96 horas), cartón (24 a 96 horas), acero inoxidable (48 a 72 horas), papel (4 a 5 días), vidrio y madera (4 días) [8]. También se han reportado otros tipos de transmisión: la fecal-oral, la vertical y la ocular.

Fecal-oral

Ocurre dada la capacidad de infección en las células del epitelio intestinal por la expresión del receptor ACE2 y la proteasa TMPRSS2, esta vía se ha reportado más comúnmente en pacientes asintomáticos [8].

Un estudio realizado por Schmulson y colaboradores [9], describe que los síntomas gastrointestinales en pacientes con COVID-19 se deben a la expresión de ACE2 en el epitelio intestinal. Además, la ACE2 también se expresa en las células epiteliales estratificadas del esófago, enterocitos de íleon y colon, colangiocitos, así como también en las células del miocardio, células tubulares proximales del riñón y células uroteliales.

Vertical

A pesar de que se ha estudiado la transmisión vertical de COVID-19, aún existe la necesidad de hacer más estudios al respecto. Poblete y Bancalari, así como Kyle y colaboradores [10,11], en sus estudios sobre transmisión vertical de COVID-19, describen que es posible, aunque poco frecuente, gracias a que la expresión de ACE2 en el feto durante los primeros tres meses de gestación es reducida, pero aumenta progresivamente, elevando la proba-

bilidad de transmisión vertical del virus en la semana 16 hasta la semana 24, especialmente en placenta y órganos fetales como corazón, hígado y pulmones. Se ha estudiado el paso transplacentario del SARS-CoV-2 a través de la técnica de RT-PCR en tejido placentario, al igual que en otros fluidos, como sangre de cordón, líquido amniótico y leche materna.

Ocular

El globo ocular posee los factores necesarios para la entrada del virus al cuerpo, debido a que expresa receptores ACE2 y TMPRSS2, ambos con expresión en córnea y en conjuntiva, sin embargo, se ha reportado una mayor expresión de receptores ACE2 en el epitelio conjuntival que en el corneal [12].

La presencia de ACE2 y TMPRSS2 en células epiteliales conjuntivales y corneales apoya la hipótesis de que la superficie ocular puede ser un lugar susceptible para la transición de la infección hacia el tracto respiratorio, e incluso que las lágrimas pudieran servir como un reservorio de virus en el tiempo. Además de los problemas relacionados con la transmisión, la vulnerabilidad de la superficie ocular a la infección tiene implicaciones para las manifestaciones oftálmicas de COVID-19. La infección de la célula blanco, bien sea corneal o conjuntival por el SARS-CoV-2, está mediada por la proteína S y el receptor celular del huésped [12].

Existen dos factores que pueden explicar la transmisión ocular del SARS-CoV-2: el dinamismo del sistema de superficie ocular y la distribución tanto de los receptores ACE2 como de la proteína TMPRSS2. El dinamismo de la película lagrimal permite el paso del SARS-CoV-2 de la superficie ocular in-

fectada al tracto respiratorio y digestivo, a través de la porción excretora de la vía lagrimal, independientemente de la presencia más o menos significativa del complejo ACE2/TMPRSS2 en la córnea y conjuntiva. Sin embargo, se ha sugerido que la hipótesis del conducto lagrimal como vía de transmisión viral puede no ser cierta, ya que debido a las características anatómicas de la vía lagrimal excretora, el paso en sentido opuesto de los virus desde la mucosa nasal hasta la conjuntiva es muy poco probable [13]. En un estudio realizado en 38 pacientes confirmados clínicamente con COVID-19, el 31,6% presentó manifestaciones oculares consistentes en conjuntivitis, y el 16,7% de ellos tuvo resultados positivos para SARS-CoV-2 en muestras conjuntivales y nasofaríngeas [14].

Inmunopatología del SARS-CoV-2

El sistema inmune es una compleja red de células, tejidos y órganos que en conjunto contribuyen al equilibrio interno frente a agresiones externas, tales como agentes biológicos, físicos y químicos. Cuenta con dos vías según el tiempo de respuesta ante la infección; el sistema inmune innato y el sistema inmune adquirido [15].

La respuesta inmune innata es aquella que detecta en primera instancia los agentes externos con el potencial de causar daño, y los mantiene al margen impidiendo su entrada mediante barreras inmunológicas como la piel, saliva, mucosa pulmonar y mucosa gástrica, a través de la acción de componentes químicos o celulares. La respuesta inmune adquirida tiene mecanismos de defensa más complejos, conectados con los del sistema inmune innato en forma dinámica, además, el efecto es

duradero en el tiempo, lo que se denomina memoria inmunológica. Esta se genera después de un primer contacto con el patógeno, permitiendo la formación de moléculas específicas que facilitan su destrucción eficazmente ante exposiciones futuras [15].

Una vez que el SARS-CoV-2 se une a las células del huésped e ingresa, los péptidos virales son presentados por las células presentadoras de antígeno mediante las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo I (MHC I), a los linfocitos T CD8+ citotóxicos, los cuales se activan y comienzan a dividirse generando expansión clonal y permitiendo el desarrollo de linfocitos T efectores específicos para dicho virus. Estos linfocitos provocan la lisis de las células tisulares infectadas a través de perforinas y granzimas [6,16,17].

Las partículas virales también son reconocidas y presentadas a los linfocitos T CD4+ mediante moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (MHC II), y una vez activados se convierten en linfocitos T *helper* 1 (Th1) patogénicos, secretores de citocinas del tipo interferón γ (IFN- γ), interleucina 2 (IL-2) y factor de necrosis tumoral beta (TNF- β). Estas sustancias señalizadoras participan en la activación de macrófagos y en la hipersensibilidad retardada [16,18,19]. Posteriormente, los linfocitos T empiezan a producir y a liberar diferentes citocinas, amplificando la respuesta inmune [6,17]. El mecanismo descrito es el que permite entender las complicaciones derivadas en pacientes que presentan COVID-19.

Tormenta de citocinas

Constituye una reacción inmune capaz de inducir una respuesta inflamatoria agresiva. Cursa con una liberación ex-

cesiva de citocinas proinflamatorias con el potencial de ocasionar daño multiorgánico y un pronóstico desfavorable para los pacientes. Pueden actuar como mediadores en esta patología pulmonar difusa, induciendo infiltración excesiva de neutrófilos y macrófagos, daño alveolar severo y síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) [17,18].

La tormenta de citocinas se despliega cuando las células fagocíticas del sistema inmune innato a través de sus receptores de patrones de reconocimiento (PRR), reconocen estructuras virales conocidas como patrones moleculares asociados al patógeno (PAMP). Entre los PRR encontramos a los *Toll-Like Receptors* (TLR) y los *Nod-Like Receptors* (NLR). Unidos el PAMP y el PRR producen una cascada de señalización que conduce a la expresión de citocinas que desempeñan un papel importante en las primeras etapas de la inflamación [6,20].

Durante la primera fase de la infección, estas moléculas proteicas actúan como señales para el sistema inmune, regulando la duración y la gravedad de la respuesta frente al daño. Dependiendo de la citocina secretada, el efecto final puede ser activar o inactivar la respuesta del huésped, teniendo un efecto en el primer caso proinflamatorio y en el segundo antiinflamatorio. Posteriormente, las células ruedan atravesando endotelio por el gradiente químico que se facilita en presencia de las quimiocinas hacia el sitio de inflamación, donde transmigran a través de uniones celulares en el tejido infectado [6,21].

La respuesta inflamatoria debe ser regulada para prevenir una inflamación sistémica o tormenta de citocinas [18]. Esta función es llevada a cabo por citocinas antiinflamatorias como la interleucina 10 (IL-10) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β)

[21,22]. La tormenta de citocinas se ha considerado como un predictor de gravedad en pacientes que presentan COVID-19, y esto fue demostrado por Huang y colaboradores [23] en un estudio que describe las características clínicas de pacientes con la enfermedad. En este estudio se evidenció que cantidades aumentadas de citocinas proinflamatorias en suero, como interleucina 1B (IL-1B), interleucina 6 (IL-6), interleucina 12 (IL-12), IFN- γ , proteína 10 inducible por IFN- γ (IP10) y la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP1), se asociaron con inflamación y daño pulmonar extenso, y probablemente llevaron a respuestas de Th1 activadas. Además, los pacientes que requirieron ingreso en la UCI tenían concentraciones más altas de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), IP10, MCP1, proteína inflamatoria de macrófagos 1A (MIP1A) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), en comparación con aquellos que no lo requirieron. Lo anterior sugiere una asociación de la tormenta de citocinas con el deterioro del paciente y su posterior ingreso a UCI. Es de anotar que la infección también promovió una mayor secreción de citocinas antiinflamatorias como IL-4 e IL-10 [23]. En la **figura 1** se observa la respuesta inmune a la infección por SARS-CoV-2.

Daño endotelial

Atribuible al cuadro hiperinflamatorio desencadenado, se genera daño tisular, infiltrados inflamatorios pulmonares, tromboinflamación, hipoxia y SDRA que evoluciona a falla multiorgánica. El daño endotelial también se puede presentar por la acción viral y la respuesta inflamatoria del huésped. Una vez activados el receptor ACE2 del endotelio vascular en diversos órganos y el sistema inmune, se genera el

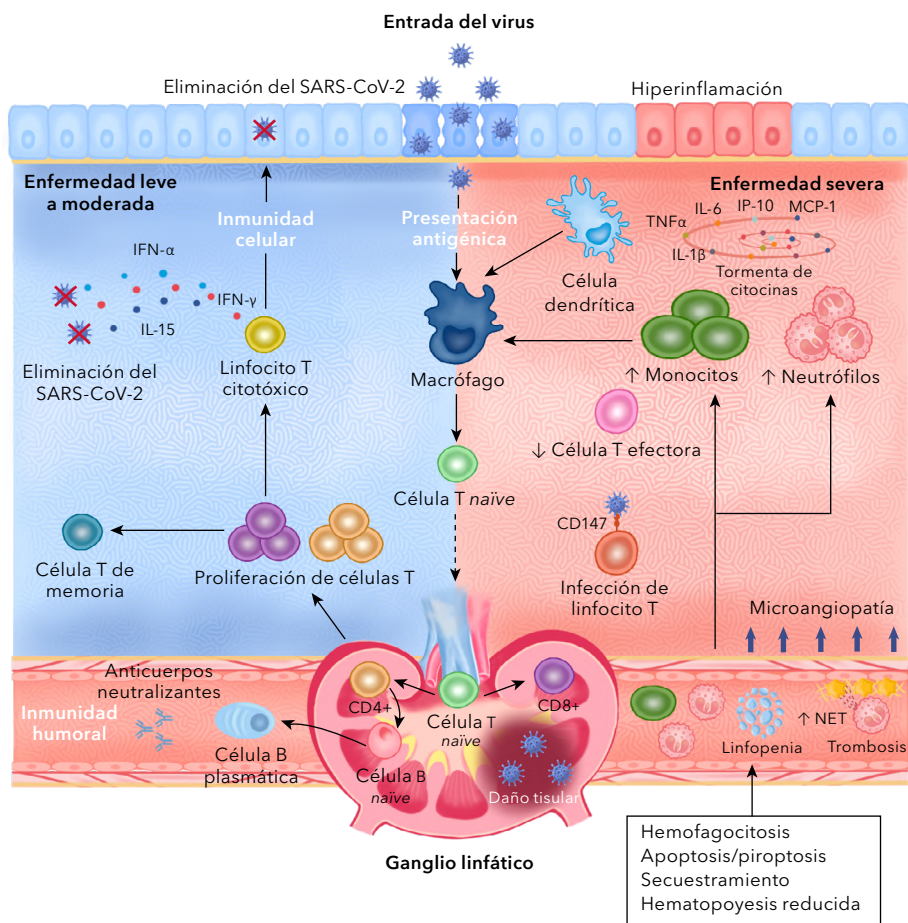


Figura 1. Respuesta inmune a la infección por SARS-CoV-2. Al ingresar el virus a la célula, el sistema inmune innato procesa los antígenos del SARS-CoV-2 a través de las células presentadoras de antígenos (APC), como son las células epiteliales, macrófagos y/o células dendríticas. Posteriormente, el sistema inmune adaptativo se activa mediante la migración de las APC al sistema linfóide. Luego del reconocimiento del antígeno, los linfocitos T proliferan y se diferencian en linfocitos T CD4+ y CD8+ que son responsables de los eventos secuenciales que incluyen la producción de citocinas, la activación de linfocitos B naíves y la eliminación de células infectadas (linfocitos T citotóxicos CD8+). Los linfocitos B proliferan y se diferencian en células plasmáticas que producen un gran número de anticuerpos neutralizantes, lo que representa la inmunidad humoral. La infección por SARS-CoV-2 induce una gran cantidad de citocinas, la mayoría de las cuales contribuyen a la hiperinflamación como parte de la tormenta de citocinas en las enfermedades graves (IL-6, TNF- α , IL-1 β , IP-10, MCP-1, CSF e IL-17A), mientras que otras son particularmente importantes para la eliminación del virus (IL-15, IFN- α , IL-12, IL-21 e IFN- γ) en los casos de enfermedad de leve a moderada. La enfermedad COVID-19 severa se caracteriza por la disfunción de ciertas células inmunes, con abundantes neutrófilos y monocitos, y niveles reducidos de linfocitos T efectoras. Además, hay activación de otros procesos fisiopatológicos, incluido un aumento del estado trombogénico, hemofagocítico, con reducción de la hematopoyesis y aumento de la apoptosis/piroptosis.

proceso de hiperinflamación que lleva a endotelitis en los lechos vasculares, producción excesiva de trombina y de factor de Von Willebrand, inhibición de los procesos fibrinolíticos y activación de las vías del complemento [24].

El resultado es un estado de hipoxia acompañado de hiperviscosidad por sobrerregulación del factor inducido por hipoxia 1 (HIF-1), favoreciendo la formación de trombos. La tromboinflamación lleva a deposición de microtrombos, disfunción microvascular con vasoconstricción, vasculitis, trombosis, isquemia orgánica, edema tisular y aumento de la coagulación, afectando el mantenimiento del tono y la homeostasis vascular [17].

Daño multiorgánico

El SARS-CoV-2 no solo tiene afinidad por el tracto respiratorio, sino también por otros órganos que presentan de igual manera expresión de ACE2 y TMPRSS2. Se han reportado lesiones en tejido renal, miocárdico, neurológico, faríngeo, gastrointestinal, endocrino, piel, en células caliciformes nasales, colangiocitos, colonocitos, queratinocitos esofágicos, epiteliales gastrointestinales, células beta del páncreas, podocitos y células de los túbulos proximales renales [6,18,20,25]. La **tabla 2** resume los principales órganos afectados en el daño multiorgánico por COVID-19 y sus manifestaciones clínicas.

Métodos diagnósticos de COVID-19 en el laboratorio clínico

Para un diagnóstico certero de la enfermedad se dispone de varias técnicas, siendo considerada la RT-PCR el estándar de oro para la detección de la in-

fección por SARS-CoV-2. No obstante, se debe contar con métodos rápidos y sencillos que permitan la detección de la infección a gran escala, y es por esto que han sido diseñadas las pruebas rápidas.

La efectividad de las pruebas y de cualquier método diagnóstico, va a depender de factores como la muestra seleccionada, la técnica utilizada para su recolección, el momento en el ciclo de la infección y la carga viral en el paciente [4]. A continuación, se hará una descripción de las pruebas más utilizadas.

Pruebas rápidas

Las pruebas rápidas son técnicas que detectan la presencia de la infección por diversas metodologías, usualmente a través de la detección de antígenos virales. Todas ellas tienen una característica común, su tiempo de lectura es inferior a 30 minutos [26].

Hasta la fecha se han desarrollado más de 400 pruebas rápidas que detectan la infección por SARS-CoV-2 [27]. Estas pruebas requieren un equipamiento mínimo y pueden realizarse por fuera del laboratorio clínico [28]. Debido a que la detección depende de la carga viral o de los niveles de antígenos o anticuerpos, tienen menos sensibilidad que otras pruebas. Sin embargo, debido a sus resultados rápidos, son una alternativa importante para el análisis masivo inicial de pacientes [3].

Pueden ocurrir casos de falsos negativos por una muestra inadecuada o insuficiente, fallos en los kits de prueba y baja carga viral en estadios iniciales. Los falsos positivos se pueden presentar por reactividad cruzada con otros virus respiratorios [29]. Teniendo en cuenta lo anterior, es valioso el uso de pruebas

Tabla 2. Daño multiorgánico en COVID-19

Órgano	Manifestaciones clínicas
Pulmón	Edema e infiltración celular, exfoliación severa de células epiteliales alveolares, ensanchamiento septal alveolar, infiltración e hiperplasia, daño a las paredes arteriolas intersticiales pulmonares, daño a tabiques alveolares e infiltración organizada del espacio alveolar, formación de membrana hialina y, finalmente, necrosis
Tubo digestivo	Aumento de la permeabilidad de la pared y malabsorción de enterocitos
Corazón	Síndrome coronario agudo debido a rotura de placa o trombosis (infarto de miocardio tipo I) o desajuste de la oferta y la demanda (tipo II), lesión miocárdica debida a coagulación intravascular diseminada y lesión no isquémica (miocarditis, miocardiopatía inducida por estrés o tormenta de citocinas)
Riñón	Proteinuria, hematuria e incremento de los productos nitrogenados y la creatinina, que se consideran factor de riesgo en la mortalidad
Sistema nervioso	Síncope, crisis anóxicas e ictus, edema celular e intersticial, isquemia y vasodilatación en la circulación cerebral

rápidas en casos de brotes, sin dejar de considerar las posibles limitaciones en relación a la sensibilidad diagnóstica, cuyo factor decisivo es la carga viral.

Pruebas serológicas

Se basan en la detección de las inmunoglobulinas M (IgM) y G (IgG) contra SARS-CoV-2. Como se mencionó anteriormente, los anticuerpos son proteínas que produce el sistema inmune para ayudar a combatir infecciones y proteger de futuras infecciones. Los anticuerpos IgM comienzan a ser detectables en sangre después de la primera semana de inicio de la infección, y perduran alrededor de 3 o 4 semanas, en tanto que los anticuerpos IgG aparecen poco después, y perduran en el tiempo (**figura 2**). El punto óptimo para la detección de anticuerpos tipo IgM es entre los 8 a 14 días después del inicio de síntomas [30].

La sensibilidad en la detección de la IgG parece depender del momento de la toma de muestra y puede ser mayor al 90% a partir de la segunda semana

del inicio de los síntomas. Aunque poseen una limitada capacidad para discriminar entre infección actual e infección pasada, su uso podría contribuir de manera significativa al diagnóstico clínico, particularmente en pacientes hospitalizados, en quienes las pruebas moleculares hayan resultado negativas o no se hayan realizado [31].

Si los resultados de las pruebas serológicas son positivos, puede significar que se estuvo expuesto al virus de COVID-19 en el pasado o que se han desarrollado anticuerpos después de la vacunación. Asimismo, es posible que signifique que se tiene cierta inmunidad, sin embargo, tener anticuerpos no significa estar protegido contra una reinfección por el SARS-CoV-2. La presencia de anticuerpos puede ayudar a prevenir la forma grave de la enfermedad. El grado y la duración de la inmunidad todavía se desconocen y siguen siendo objeto de estudio [31].

Dong y colaboradores [32] en su estudio mencionan que la sintomatología de COVID-19 es tan compleja que las pruebas serológicas de IgG e IgM es-

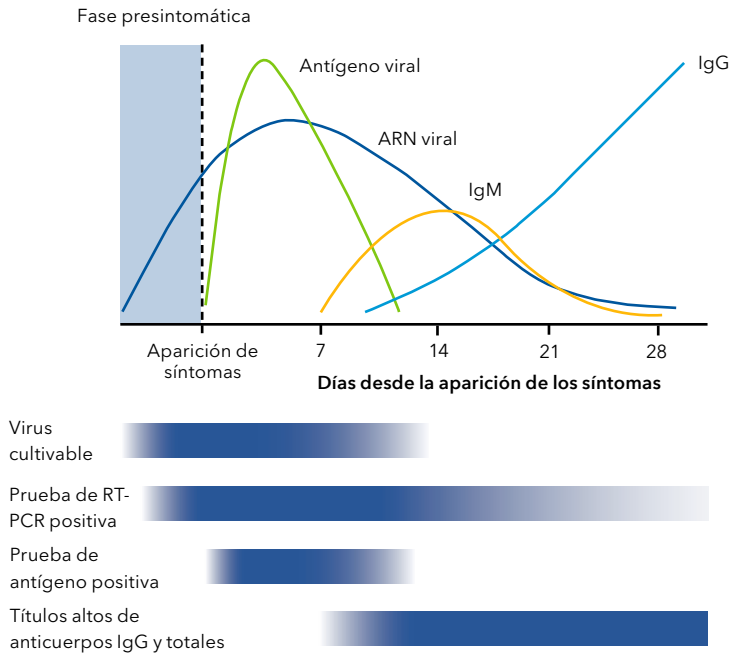


Figura 2. Detección de la viremia, antigenemia y anticuerpos durante la infección aguda por SARS-CoV-2. Tomado y adaptado de [27].

pecíficas para SARS-CoV-2 no deben utilizarse como diagnóstico definitivo, sino que siempre es necesario el análisis molecular genético. Por su parte, Horn y colaboradores [33] indican que las pruebas serológicas representan una poderosa herramienta en el seguimiento de enfermedades infecciosas y en la detección de la inmunidad del huésped, sin embargo, los fabricantes proporcionan datos de precisión diagnóstica sesgados y el rendimiento en la práctica clínica es esencialmente poco claro, lo que conlleva menor precisión y sensibilidad clínica al momento de su aplicación.

Reacción en cadena de la polimerasa

Conocida como PCR, es una técnica genética utilizada para copiar y sinteti-

zar ADN de un organismo objetivo en grandes cantidades [34]. Por su parte, en la RT-PCR, la transcriptasa inversa sintetiza ADNc a partir de una molécula de ARN antes de iniciarse el proceso de amplificación del material genético [34]. Esta prueba se considera el estándar de oro para el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2. Una de las variantes de la RT-PCR es la RT-PCR en tiempo real (RT-qPCR), en la cual se utiliza un marcador fluorescente que permite monitorizar la amplificación del material genético viral en tiempo real [35,36]. Sobre las desventajas de la RT-PCR, está el riesgo de obtener falsos negativos y falsos positivos. De este modo, un resultado negativo puede darse en las fases iniciales de la infección o en presencia de mutaciones en las secuencias a amplificar, además, no excluye la posibilidad de infección y no debe utilizarse como

único criterio para las decisiones de tratamiento, por lo tanto, debe apoyarse en la clínica del paciente [35]. También debe tenerse presente que los pacientes en fase de recuperación de COVID-19 pueden tener una RT-PCR positiva, ya que la prueba no permite discriminar entre partículas virales intactas de ARN viral. Por su parte, la PCR múltiple utiliza la amplificación simultánea de distintos genes en un único tubo de reacción, lo cual aumenta la sensibilidad de la prueba, evitando los falsos negativos [37,38].

Durante la RT-PCR, la detección de la señal fluorescente ocurre cuando hay presencia de la secuencia genómica del virus, y se debe establecer durante los primeros ciclos de amplificación una lectura basal que permita definir un umbral del número ciclos (Ct) de amplificación, a partir del cual se considera que hay presencia del gen blanco viral. El Ct se relaciona inversamente con la cantidad de ARN viral que hay en la muestra, de forma que a un número bajo de Ct, mayor carga viral [38,39]. De esta forma, se ha propuesto que valores de Ct <30 corresponden a un individuo altamente contagioso, valores entre 30 y 40 corresponden a moderadamente contagioso, valores entre 34 y 37 a zona "gris", y valores >37 a no infeccioso. El Ct puede afectarse por factores como la prueba, y el tipo, calidad y manejo de la muestra, por lo que su resultado debe interpretarse en el contexto clínico del paciente [39].

Amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP)

Como se mencionó anteriormente, el estándar de oro para el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 es la RT-PCR, debido a las características del virus,

sin embargo, esta presenta desventajas frente a instalaciones, complejidad y capacitación al personal de salud. Es por esto que se han buscado alternativas diagnósticas frente al virus, y una de ellas es la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP, del inglés, *Loop-Mediated Isothermal Amplification*) [40]. Esta prueba utiliza entre 4 a 6 *primers* o cebadores, diseñados para unirse a diferentes regiones del genoma viral, permitiendo la identificación de secuencias de ARN de interés. A mayor número de *primers* utilizados, mayor especificidad de la prueba. Entre las ventajas de LAMP, está que la amplificación se realiza a una temperatura constante, la exclusión de un termociclador, un resultado de prueba más rápido y mayor capacidad de diagnóstico, mientras mantiene una sensibilidad y especificidad cercanas al 100% [37].

El uso conjunto de las pruebas serológicas y la detección del ARN viral aumenta la sensibilidad diagnóstica en pacientes con COVID-19, así lo demostró Zhao en su investigación [41], donde la presencia de anticuerpos IgM e IgG fue menor al 40% en la primera semana desde el inicio de la infección, y aumentó rápidamente hasta el 100% para el día 15 con una presencia de IgM e IgG en el 94,3% y el 79,8% de los casos, respectivamente; por otra parte, la detección del ARN disminuyó del 66,7% en las muestras recolectadas antes del día 7, al 45,5% durante los demás días. Esto sugiere que la combinación de detección del ARN y anticuerpos influye positivamente en la sensibilidad diagnóstica, incluso en las fases tempranas de la infección.

En la **tabla 3** se comparan las principales pruebas inmunológicas y moleculares en la detección de la infección por SARS-CoV-2.

Pruebas complementarias en el diagnóstico de COVID-19

Aunque las pruebas de laboratorio de rutina son poco específicas para la infección por SARS-CoV-2, pueden orientar hacia la determinación de la severidad de la enfermedad y su pronóstico, además de facilitar el seguimiento del paciente [42,43]. Las alteraciones encontradas en pacientes infectados son principalmente cambios en el hemograma (linfopenia), aumento de los valores de las enzimas hepáticas, la creatinina y la urea, y de los marcadores inespecíficos de inflamación y lesión, como la proteína C reactiva (PCR), la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), el dímero D y la ferritina [43].

Linfopenia

Surge como resultado de la lisis de linfocitos tras la interacción directa con el virus. Otras vías indirectas hablan de la afectación a órganos linfáticos, inducción de apoptosis, exudación de linfocitos circulantes hacia tejidos pulmonares y desregulación de la respuesta inflamatoria. Se ha propuesto utilizar este parámetro como biomarcador en la identificación de pacientes en condición crítica [44].

En COVID-19, la linfopenia se puede acompañar de agotamiento de los linfocitos T CD4+ y CD8+, esto de la misma manera se encuentra asociado con la severidad del cuadro y su mal pronóstico. En el agotamiento linfocitario está implicada la sobreexpresión del receptor inhibitorio NKG2A en las células NK y T CD8+, llevando a una disminución de la proteína de membrana asociada a lisosomas (CD107a), IFN, IL-2, granzima B y TNF- α , lo cual define al linfocito como exhausto. NKG2A constituye otro punto de control nega-

tivo de la respuesta inmune, junto con las moléculas CTLA-4, PD-1 y TIGIT. Esto sugiere que la alta expresión de NKG2A puede asociarse con el avance de la enfermedad y el agotamiento funcional de los linfocitos citotóxicos en la etapa temprana [45]. Un estudio realizado por Wang y colaboradores y publicado por *The Journal of Infectious Diseases* [46], encontró que el 72% de los pacientes con COVID-19 ingresados de gravedad, presentaron una disminución de linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos B y linfocitos NK. Así mismo, es posible presenciar estas alteraciones en pacientes con MERS-CoV.

Ferritina

Es una proteína que se encuentra presente en el interior de las células y es la encargada del almacenamiento del hierro sérico. Durante COVID-19, la ferritina se ha usado como un factor de mal pronóstico en la evolución de la infección. Galicia y colaboradores [47], aducen que los niveles de ferritina superiores a 1.100 ng/mL en pacientes en UCI, deberían ser considerados como pronóstico para intubación durante el internamiento, sustentados con una sensibilidad del 72,73% y una especificidad del 73,08%. También mencionan que valores superiores a 2.500 ng/mL tienen gran poder de predicción de muerte.

El aumento de ferritina se ha asociado con varias condiciones inflamatorias como sepsis, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, síndrome de disfunción multiorgánica y síndrome de activación de macrófagos, entre otros. Se considera un reactante de fase aguda que en presencia de inflamación eleva su concentración en sangre hasta un 25% [48].

Tabla 3. Principales pruebas moleculares e inmunológicas para la detección de SARS-CoV-2. Tomado modificado de [38]

Pruebas	Moleculares			Inmunológicas		
	RT-PCR	PCR isotérmica	Antígeno	ELISA	Flujo lateral	Quimioluminiscencia
Muestra	Respiratoria superior	Respiratoria superior	Suero sanguíneo o plasma	Suero sanguíneo o plasma	Suero sanguíneo o plasma	Suero sanguíneo o plasma
Objetivo	ARN	ARN	Proteína viral	Anticuerpos contra el virus en la sangre del paciente	Anticuerpos contra el virus en la sangre del paciente	Anticuerpos contra el virus en la sangre del paciente
Diagnóstico de casos asintomáticos	Valor negativo o anticipado inadecuado	Valor negativo o anticipado inadecuado	Valor negativo o anticipado inadecuado	Probable falso negativo en una infección temprana	Probable falso negativo en una infección temprana	Probable falso negativo en una infección temprana
Diagnóstico de casos sintomáticos	Prueba de referencia actual	Probable que se correlacione con la prueba de referencia	En desarrollo o en fase de regulación	Es probable que el diagnóstico de las infecciones agudas sea muy limitado en el momento del inicio de los síntomas	Es probable que el diagnóstico de las infecciones agudas sea muy limitado en el momento del inicio de los síntomas	Es probable que el diagnóstico de las infecciones agudas sea muy limitado en el momento del inicio de los síntomas
Detección de la excreción viral en fase de recuperación	Valor negativo o anticipado inadecuado	Valor negativo o anticipado inadecuado	Probablemente valor negativo o anticipado inadecuado	Generalmente no refleja la actividad del virus, pero detectan los anticuerpos del paciente	Generalmente no refleja la actividad del virus, pero detectan los anticuerpos del paciente	Generalmente no refleja la actividad del virus, pero detectan los anticuerpos del paciente

Continúa

<ul style="list-style-type: none"> Prueba de referencia actual Muy sensible y específica, si se realiza con precisión La RT-PCR rápida puede utilizarse en el lugar de atención 	<ul style="list-style-type: none"> No requiere termociclador Es muy sensible y específica, si se realiza con precisión Costo: muy rentable Es posible que pueda utilizarse en el lugar de atención 	<ul style="list-style-type: none"> Simple y rápida Puede utilizarse como prueba en el lugar de atención 	<ul style="list-style-type: none"> Rápida Más precisa que las pruebas de flujo lateral Costo: no es muy costosa Dan información cuantitativa 	<ul style="list-style-type: none"> Poco costosa Especificidad alta Rápida Fácil de usar Puede utilizarse como prueba en el lugar de atención 	<ul style="list-style-type: none"> Sensible Rápida
<p>Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> Costosa Consume tiempo y es laboriosa Las pruebas todavía tienen que realizarse en un laboratorio centralizado Alto riesgo de falsos negativos debido a mala toma de muestras Posible escasez de reactivos 	<ul style="list-style-type: none"> Posible escasez de reactivos 	<ul style="list-style-type: none"> Es compleja de desarrollar Costo: variable 	<ul style="list-style-type: none"> Costosa Consume tiempo y es laboriosa Las pruebas deben seguir realizándose en el laboratorio centralizado Posible escasez de reactivos Posibles resultados falsos negativos si se realiza demasiado temprano al inicio de la infección Posibles resultados falsos positivos si se mezcla con otras enfermedades 	<ul style="list-style-type: none"> Solo proporciona información cualitativa (presencia o ausencia de anticuerpos) Probable escasez de reactivos (buffer de bloqueo, de lavado y de recubrimiento) Posibles resultados falsos negativos si se realiza demasiado pronto al inicio de la infección Posibles resultados falsos positivos si se mezcla con otras enfermedades 	<ul style="list-style-type: none"> Costosa
<p>Desventajas</p>					

PCR: reacción en cadena de la polimerasa; RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa.

Dímero D

Es el resultado de productos de degradación generados a partir de la digestión de fibrina por plasmina, siendo en esta instancia un biomarcador de activación de la coagulación y la fibrinólisis. Durante la infección por SARS-CoV-2, se postula que el dímero D aumenta debido a la fibrinólisis sistémica de coágulos formados en la microvasculatura pulmonar, trombos venosos y depósitos de fibrina presentes en el espacio aéreo alveolar, estos últimos en el caso de pacientes con cuadros severos de COVID-19 [49]. Su valor de referencia es inferior a 100 ng/mL, mientras que valores superiores a 500 ng/mL son sugestivos de coagulación intravascular diseminada [48].

En un estudio donde se evaluaron los parámetros de coagulación anormales en pacientes con neumonía por COVID-19, se demostró que los niveles de dímero D y productos de degradación de la fibrina fueron significativamente altos en pacientes que fallecían por dicha enfermedad [50].

Proteína C reactiva

Es un marcador fiable de inflamación aguda producido por el hígado y regulado por las citocinas IL-6 e IL-1. En el estudio realizado por Poggiali y colaboradores [51], se demuestra que niveles altos de PCR en simultáneo con niveles altos de lactato deshidrogenasa (LDH), podrían ser útiles para la identificación temprana de pacientes con alto riesgo de insuficiencia respiratoria aguda, incluso en sujetos que no se quejan de disnea o que presentan insuficiencia respiratoria leve. Bajo estas condiciones, los pacientes podrían beneficiarse de una hospitalización corta, una observación más cercana y tratamientos correctos.

Lactato deshidrogenasa (LDH)

Es una enzima involucrada en la producción de energía mediante la conversión de lactato en piruvato, que está presente en casi todas las células del cuerpo, con niveles más altos en corazón, hígado, pulmones, músculos, riñones y células sanguíneas. En general, es un indicador de daño tisular agudo o crónico y se considera marcador inflamatorio [51]. Fan y colaboradores [52] determinaron niveles de LDH en pacientes ingresados a UCI, y 4 de 9 presentaron un valor promedio de LDH de 1.684 U/L, teniendo como valor de referencia 270 U/L a 550 U/L. Comparativamente, los pacientes que no se encontraban en la UCI presentaron una LDH normal, con un valor promedio de 401 U/L. Por otra parte, en una investigación realizada con 123 pacientes en el norte de Italia, se halló una fuerte correlación inversa entre valores de LDH y el indicador presión arterial de oxígeno/fracción inspirada de oxígeno (PaO_2/FiO_2) ($r=0,62$; $R^2=0,38$; $p<0,0001$), permitiendo concluir que estas variables actúan como predictores de falla respiratoria en pacientes con COVID-19 [53].

Creatinina

Es un producto del metabolismo de la fosfocreatinina excretada por el riñón a través de la filtración glomerular, por lo que tradicionalmente es utilizada como indicador de la filtración glomerular. Si disminuye la filtración glomerular, se verá afectada la excreción de esta molécula, elevando los valores en sangre [53].

Yang [54] encontró que la prevalencia de insuficiencia renal aguda fue unas 30 veces mayor en pacientes graves en UCI, en comparación con los casos no graves/no UCI. Al parecer, aumentos de la creatinina, proteinuria y hematuria son

factores de riesgo que pueden llevar a la muerte en pacientes con COVID-19. Esto se justifica en parte por la presencia de ACE2 en las células del riñón y fragmentos de SARS-CoV-2 en sangre y orina que van a favorecer la exacerbación de la enfermedad en el sistema renal [23].

Urea

Se genera en el hígado y posteriormente es secretada hacia la sangre, luego es captada por los riñones para finalmente ser eliminada en la orina, conociéndose este mecanismo como el ciclo de la urea que permite la eliminación del nitrógeno [55]. En conjunto con la creatinina es utilizada como indicador de insuficiencia renal aguda en pacientes con COVID-19. Hachim y colaboradores [56] mencionan que valores de urea superiores a 6,5 mmol/L, pueden predecir positivamente el ingreso a UCI en pacientes con COVID-19 [57].

La enfermedad renal preexistente al ingreso o el desarrollo de lesión renal aguda durante la hospitalización, en pacientes con COVID-19, es frecuente y se asocia con mortalidad intrahospitalaria. Generalmente, la lesión renal aguda se resuelve dentro de las 3 semanas posteriores al inicio de los síntomas, pero las complicaciones renales conducirán específicamente a una mayor mortalidad [58].

Enzimas de función hepática

Los receptores de ACE2 también se expresan en las células de los conductos biliares, y en menor cantidad, en los hepatocitos. Se plantean varias hipótesis patogénicas de COVID-19 en el hígado, como inflamación mediada por el sistema inmune debido a la respuesta grave después de la infección, citotoksi-

cidad directa debida a la replicación viral activa en las células y lesión hepática inducida por medicamentos [59].

Una de las hipótesis más fuertes sobre el origen del daño hepático en pacientes con COVID-19 es el daño inducido por los fármacos, lo que podría explicar la gran variación observada entre los pacientes. Además, la inflamación mediada por el sistema inmune, la tormenta de citocinas y la hipoxia asociada a la neumonía, también podrían contribuir de manera significativa a la lesión hepática, incluso convertirse en insuficiencia hepática en pacientes que estén gravemente enfermos [60].

Investigaciones demuestran que los pacientes que necesitaron ingreso en UCI mostraron una aspartato aminotransferasa (AST) más alta y una albúmina más baja, en comparación con pacientes no UCI, indicando posible lesión hepática. Se han informado síntomas digestivos y daño hepático durante el curso de COVID-19 [58]. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, no está claro si el daño o disfunción hepática están relacionados con la infección viral directa o si es consecuencia del uso de fármacos potencialmente hepatotóxicos o parte de la disfunción multiorgánica [59]. La gamma glutamil transferasa (GGT), un biomarcador de diagnóstico para la lesión de los colangiocitos, también se ha informado que aumenta en los estudios de casos existentes de COVID-19 [61].

Muestras utilizadas para la detección del SARS-CoV-2

Hisopado nasofaríngeo

Es la muestra de elección para realizar RT-PCR, sin embargo, a lo largo de la pandemia se ha sugerido el uso de otro

tipo de muestras, algunas de recolección menos invasiva para el paciente y de fácil manejo por parte del personal de salud. Otras muestras pueden ser saliva, esputo, aspirado traqueobronquial, hisopados rectales y muestras fecales [34].

Espuito

La toma de esta muestra es dificultosa, ya que algunos pacientes no presentan tos con expectoración. Se ha observado que la carga viral suele ser superior en muestras de esputo que en aquellas obtenidas con hisopos nasofaríngeos y orofaríngeos [36].

Saliva

La detección en este fluido se da gracias a la expresión de ACE2 en las glándulas salivales [36]. Es de fácil recolección, no invasiva y presenta un menor riesgo de contagio para el personal de salud encargado de la toma de la muestra. Se ha demostrado que la carga viral en saliva alcanza su punto máximo al inicio de los síntomas, en la primera semana, y luego disminuye con el tiempo [62].

Aspirado traqueobronquial

Este tipo de muestra solo es posible en pacientes con ventilación mecánica o traqueostomía. Aunque la carga viral detectada es alta, este procedimiento puede suponer un riesgo importante para el personal de salud encargado de la recolección [63].

Hisopados rectales y muestras fecales

La detección es posible debido a la expresión de ACE2 en el epitelio gas-

trointestinal. Se puede realizar en estadios tardíos de la infección e incluso en ausencia de síntomas gastrointestinales, donde se puede evidenciar la presencia del virus [64].

Toma y manejo de muestras para diagnóstico de COVID-19

Las pruebas moleculares se hacen a partir de muestras del tracto respiratorio superior. Es en este sitio donde el virus se replica en mayor cantidad, por lo que los hisopados nasofaríngeos son la muestra de elección. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, se pueden utilizar otras muestras para la detección del SARS-CoV-2. Conforme la infección avanza, se pueden considerar muestras del tracto respiratorio inferior, como el lavado bronquio alveolar, particularmente en pacientes con manifestaciones severas o neumonía [4].

Bioseguridad

Las muestras deben ser tomadas por personal capacitado, cumpliendo todas las instrucciones de bioseguridad, protección personal, de contacto y de transmisión aérea. Se debe usar bata, mascarillas (N95 o FFP2), protección para los ojos o facial y guantes, además de aplicar una correcta higiene de las manos [65].

Toma de muestra

Es de elección el hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo, preferiblemente ambos. Se transportan en un mismo tubo con medio de transporte viral o universal. Si los hisopos son un factor limitante, se puede usar un hisopo único, pero priorizando el barrido nasofaríngeo. Las muestras del tracto respiratorio inferior,

incluidos el esputo, lavado broncoalveolar y aspirado traqueal, también son útiles, pero deben tomarse de acuerdo con criterios médicos y garantizando todas las medidas de bioseguridad. Se deben usar hisopos hechos con materiales sintéticos como nailon, dacrón o poliéster, evitando los hisopos de algodón. Si el medio de transporte no está disponible, se podría optar por solución salina estéril o solución estabilizadora de ácidos nucleicos [65].

El procedimiento recomendado para recoger una muestra nasofaríngea es insertar el hisopo y frotar en la fosa nasal paralela al paladar, manteniendo el hisopo en su lugar durante unos segundos para permitir la secreción y la absorción. Inmediatamente después, se coloca el hisopo en un tubo estéril que contiene 2 mL a 3 mL de medio de transporte. Para la recolección de muestras orofaríngeas, se debe frotar la faringe posterior evitando la lengua, e inmediatamente colocar el hisopo en otro tubo estéril separado con 2 mL a 3 mL de medio de transporte viral [66].

Envío de muestras

Las muestras deben mantenerse refrigeradas entre 4 °C y 8 °C, y enviarse en un plazo de 24 a 72 horas después de la toma. Si no se pueden enviar las muestras dentro de este período, se recomienda congelarlas por debajo de -70 °C hasta que se envíen, conservando en todo momento la cadena de frío. Si los hisopos se colocaron en solución salina estéril en lugar de medio de transporte viral, el envío debe ser inmediato. El envío de muestras sospechosas debe cumplir con las reglamentaciones nacionales y utilizar, como mínimo, un sistema de triple empaque básico. Además, los envíos a laboratorios de referencia o centros colaboradores

fuera del país deben cumplir todas las normas internacionales para sustancias biológicas de categoría B [65].

Conclusión

La RT-PCR es la prueba por excelencia para la determinación de la infección por SARS-CoV-2, sin embargo, su aplicación requiere tiempo, infraestructura y altos costos. Es por esto que el apoyo con las pruebas rápidas cobra una gran utilidad, donde, si bien no son tan fiables, ayudan a una primera aproximación en el diagnóstico, atención y manejo epidemiológico de la actual pandemia por COVID-19. El laboratorio clínico también puede hacer uso de otras herramientas complementarias que permitan explorar la gravedad del paciente, las posibles complicaciones o su ingreso a UCI. Cabe resaltar que el éxito del diagnóstico de las pruebas de laboratorio, dependerá en mayor medida del adecuado manejo de la muestra por parte del personal encargado.

Referencias

1. **Maguiña-Vargas C, Gastelo-Acosta R, Tequen-Bernilla A.** El nuevo coronavirus y la pandemia del COVID-19. *Rev Med Hered* 2020;31:125-131. <https://doi.org/10.20453/rmh.v31i2.3776>
2. **Meza-Calvache JM, Estrada-Rodríguez AD, Chabusa-Martínez CB, Velasco-Paucar VA.** Utilidad de pruebas de cadena de polimerasa, pruebas rápidas y tomografías en pacientes con COVID-19. *J Am Health* 2020;3:32-39. <https://doi.org/10.37958/jah.v3i2.28>.
3. **Salas-Asencios R, Iannacone-Oliver J, Guillén-Oneeglio A, Tantaléan-Da Fieno J, Alvaríño-Flores L, Castañeda-Pérez L, et al.** Coronavirus COVID-19: Conociendo al causante de la pandemia. *Biologist* 2020;18. <https://doi.org/10.24039/rtb2020181442>.
4. **Ramírez-Truque M, Herrera-Morice M.** Rol del laboratorio clínico ante la epidemia del CO-

- VID-19: revisión de los métodos diagnósticos disponibles y sus limitaciones. *Rev Med Cos Cen* 2020;86:73-80.
5. **Pastrian-Soto G.** Presencia y expresión del receptor ACE2 (target de SARS-CoV-2) en tejidos humanos y cavidad oral. Posibles rutas de infección en órganos orales. *Int J Odontostomat* 2020;14:501-507. <https://doi.org/10.4067/S0718-381X2020000400501>.
 6. **Sanz JM, Gómez-Lahoz AM, Martín RO.** Papel del sistema inmune en la infección por el SARS-CoV-2: inmunopatología de la COVID-19. *Medicine* 2021;13:1917-1931. <https://doi.org/10.1016/j.med.2021.05.005>.
 7. **Pérez-Abeledo M, Sanz-Moreno JC.** Variantes de SARS-CoV-2, una historia todavía inacabada. *Vacunas* 2021;22:173-179. <https://doi.org/10.1016/j.vacun.2021.06.003>.
 8. **Aguilar-Gómez NE, Hernández-Soto AA, Ibanes-Gutiérrez C.** Características del SARS-CoV-2 y sus mecanismos de transmisión. *Rev Latin Infect Pediatr* 2020;33 143-148. <https://doi.org/10.35366/95651>.
 9. **Schmulson M, Dávalos MF, Berumen J.** Alerta: los síntomas gastrointestinales podrían ser una manifestación de la COVID-19. *Rev Gastroenterol Mex* 2020;85:282-287. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2020.04.001>.
 10. **Kyle MH, Hussain M, Saltz V, Mollicone I, Bence M, Dumitriu D.** Vertical transmission and neonatal outcomes following maternal SARS-CoV-2 infection during pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 2022;65:195-202. <https://doi.org/10.1097/grf.0000000000000667>.
 11. **Poblete C, Bancalari M.** Transmisión vertical de COVID-19. ¿Qué dice la evidencia? *Andes Pediatr* 2021;92:790-798. <https://doi.org/10.32641/andespediatr.v92i5.3488>.
 12. **Durán-de la Colina J, Acera-Osa A, Vecino-Cordero E.** COVID-19. Su impacto en oftalmología. *Gac Med Bilbao* 2020;117:134-136.
 13. **Negrín-Caceres Y, Cárdenas-Monzón L, Lima-León CE.** Manifestaciones oftalmológicas de la COVID-19 y bases de su transmisión ocular. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2021;40:e1141.
 14. **Wu P, Duan F, Luo C, Liu Q, Qu X, Liang L, et al.** Characteristics of ocular findings of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Hubei province, China. *JAMA Ophthalmol* 2020;138:575-578. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2020.1291>.
 15. **Justiz-Vaillant AA, Sabir S, Jan A.** Physiology, immune response. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Acceso 08 de enero de 2022. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539801/>.
 16. **Wong LR, Perlman S.** Immune dysregulation and immunopathology induced by SARS-CoV-2 and related coronaviruses - are we our own worst enemy? *Nat Rev Immunol* 2022;22:47-56. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00656-2>.
 17. **Rincón M, Carvallo D, Martínez E, Cristancho M.** COVID-19: Fisiopatología e inmunopatología. *Med Interna* 2021;37:3-12.
 18. **Pourgholaminejad A, Pahlavanneshan S, Basiri M.** COVID-19 immunopathology with emphasis on Th17 response and cell-based immunomodulation therapy: Potential targets and challenges. *Scand J Immunol* 2022;95:e13131. <https://doi.org/10.1111/sji.13131>.
 19. **López-Moreno HS.** Cestodiasis tisulares: participación de los linfocitos T cooperadores 1 y 2. *Salud Pública Méx* 2002;44:145-152.
 20. **van Eijk LE, Binkhorst M, Bourgonje AR, Offringa AK, Mulder DJ, Bos EM, et al.** COVID-19: immunopathology, pathophysiological mechanisms, and treatment options. *J Pathol* 2021;254:307-331. <https://doi.org/10.1002/path.5642>.
 21. **Gustine JN, Jones D.** Immunopathology of hyperinflammation in COVID-19. *Am J Pathol* 2021;191:4-17. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.08.009>.
 22. **Parra-Izquierdo V, Florez-Sarmiento C, Romero-Sanchez MC.** Inducción de "tormenta de citocinas" en pacientes infectados con SARS-CoV-2 y desarrollo de COVID-19. ¿Tiene el tracto gastrointestinal alguna relación en la gravedad? *Rev Colomb Gastroenterol* 2020;35:21-29. <https://doi.org/10.22516/25007440.539>.
 23. **Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al.** Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).
 24. **Vardeny O, Madjid M, Solomon SD.** Chapter 94. Endemic and pandemic viral illnesses and cardiovascular disease: Influenza and

- COVID-19. In: Libby P, Bonow RO, Mann DL, Tomaselli GF, Bhatt D, Solomon SD, et al., eds. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. 12th ed. Amsterdam, Países Bajos: Elsevier; 2022. p. 1751-1765.
25. **Lopez G, Ramírez M, Torres M.** Fisiopatología del daño multiorgánico en la infección por SARS-CoV-2. *Acta Pediatr Mex* 2020;41:S27-41.
 26. **Rodríguez F, Durán M.** Un acercamiento a las pruebas rápidas para la determinación de antígenos de SARS-CoV-2 en muestras de hisopado nasofaríngeo. *Rev Colegio de Microb Quím Clín de Costa Rica* 2021;26:146-157.
 27. **Drain PK.** Rapid diagnostic testing for SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 2022;386:264-272. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp2117115>.
 28. **Gestoso-Pecellín L, García-Flores Y, González-Quintana P, Marrero-Arencibia JL.** Recomendaciones y uso de los diferentes tipos de test para detección de infección por SARS-CoV-2. *Enferm Clin* 2021;31:S40-S48. <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2020.10.001>.
 29. **Soldevila-Langa L, Sallent LV, Roure-Díez S.** Interpretación de las pruebas diagnósticas de la COVID-19. *FMC* 2021;28:167-173. <https://doi.org/10.1016/j.fmc.2021.01.005>.
 30. **Vizcaino-Carruyo JC, Tangarife-Castaño VJ, Campuzano-Zuluaga G, Toro-Montoya AI.** COVID-19 anticuerpos IgM/IgG por ensayo inmunocromatográfico (prueba rápida). *Med Lab* 2020;24:255-257. <https://doi.org/10.36384/01232576.302>.
 31. **Vidal-Anzardo M, Solis G, Solari L, Minaya G, Ayala-Quintanilla B, Astete-Cornejo J, et al.** Evaluación en condiciones de campo de una prueba serológica rápida para detección de anticuerpos IgM e IgG contra SARS-CoV-2. *Rev Perú Med Exp Salud Publica* 2020;37:203-209.
 32. **Dong X, Cao Y-y, Lu X-x, Zhang J-j, Du H, Yan Y-q, et al.** Eleven faces of coronavirus disease 2019. *Allergy* 2020;75:1699-1709. <https://doi.org/10.1111/all.14289>.
 33. **Horn MP, Jonsdottir HR, Brigger D, Damonti L, Suter-Riniker F, Endrich O, et al.** Serological testing for SARS-CoV-2 antibodies in clinical practice: A comparative diagnostic accuracy study. *Allergy* 2022. <https://doi.org/10.1111/all.15206>.
 34. **Salazar-Carranza L, Maldonado-Santacruz F, Cruz-Villegas J.** La PCR como prueba para confirmar casos vigentes de COVID-19. *Recimundo* 2020;4:64-74. [https://doi.org/10.26820/recimundo/4.\(2\).mayo.2020.64-74](https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(2).mayo.2020.64-74).
 35. **Tahamtan A, Ardebili A.** Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. *Expert Rev Mol Diagn* 2020;20:453-454. <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1757437>.
 36. **Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q.** Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis* 2020;20:411-412. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4).
 37. **Habibzadeh P, Mofatteh M, Silawi M, Ghavami S, Faghihi MA.** Molecular diagnostic assays for COVID-19: an overview. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2021;58:385-398. <https://doi.org/10.1080/10408363.2021.1884640>.
 38. **Dhar BC.** Diagnostic assay and technology advancement for detecting SARS-CoV-2 infections causing the COVID-19 pandemic. *Anal Bioanal Chem* 2022;414:2903-2934. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-03918-7>.
 39. **Serrano-Cumplido A, Ruiz Garcia A, Segura-Fragoso A, Olmo-Quintana V, Micó Pérez RM, Barquilla-García A, et al.** Application of the PCR number of cycle threshold value (Ct) in COVID-19. *Semergen* 2021;47:337-341. <https://doi.org/10.1016/j.semereg.2021.05.003>.
 40. **Thompson D, Lei Y.** Mini review: Recent progress in RT-LAMP enabled COVID-19 detection. *Sens Actuators Rep* 2020;2:100017. <https://doi.org/10.1016/j.snr.2020.100017>.
 41. **Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al.** Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020;71:2027-2034. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>.
 42. **Zhu A, Zakusilo G, Lee MS, Kim J, Kim H, Ying X, et al.** Laboratory parameters and outcomes in hospitalized adults with COVID-19: a scoping review. *Infection* 2022;50:1-9. <https://doi.org/10.1007/s15010-021-01659-w>.
 43. **Minh LHN, Abozaid AA, Ha NX, Le Quang L, Gad AG, Tiwari R, et al.** Clinical and laboratory factors associated with coronavirus disease 2019 (Covid-19): A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol* 2021;31:e2288. <https://doi.org/10.1002/rmv.2288>.
 44. **Calvo-Arrieta K, Chinchilla-Ureña AL, Orozco-Barquero A, Ibarra-Ureña R, Navarro-Solis**

- AJ.** Mecanismos subyacentes a la linfopenia en la infección por SARS CoV-2, y su relación con la severidad de la enfermedad. *Ciencia y Salud* 2021;5:87-94. <https://doi.org/10.34192/cienciaysalud.v5i3.263>.
- 45. Suárez-Reyes A, Villegas-Valverde CA.** Características y especialización de la respuesta inmunitaria en la COVID-19. *Rev Fac Med* 2020;63:7-18.
- 46. Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L, et al.** Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J Infect Dis* 2020;221:1762-1769. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa150>.
- 47. Galicia GC, Santana HGP, Vega S.** Asociación de ferritina con deterioro ventilatorio y mortalidad debido a COVID-19 en terapia intensiva. *Med Crit* 2021;35:121-129. <https://doi.org/10.35366/100000>.
- 48. Reyes-Reyes E.** Inmunopatogenia en la evolución del paciente grave por la COVID-19. *Rev Elect Dr Zoilo E* 2020;45.
- 49. Rosa CM.** Dímero D y COVID-19. Buenos Aires, Argentina: Grupo Argentino Colaborativo de Hemostasia y Trombosis (CAHT); 2020. Día Mundial de la Trombosis. Artículo de divulgación. Acceso 15 de enero de 2022. Disponible en <https://www.grupocaht.com/wp-content/uploads/2020/10/DD-y-COVID-19-DMT-Set-2020.pdf>.
- 50. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z.** Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020;18:844-847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>.
- 51. Poggiali E, Zaino D, Immovilli P, Rovero L, Losi G, Dacrema A, et al.** Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in COVID-19 patients. *Clin Chim Acta* 2020;509:135-138. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.012>.
- 52. Fan BE, Chong VCL, Chan SSW, Lim GH, Lim KGE, Tan GB, et al.** Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol Oncol* 2020;95:E131-134. <https://doi.org/10.1002/ajh.25774>.
- 53. Hirsch JS, Ng JH, Ross DW, Sharma P, Shah HH, Barnett RL, et al.** Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney Int* 2020;98:209-218. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.05.006>.
- 54. Yang Q, Yang X.** Incidence and risk factors of kidney impairment on patients with COVID-19: A meta-analysis of 10180 patients. *PLoS One* 2020;15:e0241953. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241953>.
- 55. Ramírez F.** Influencia del aumento de urea y creatinina en la mortalidad por COVID-19. Riobamba, Ecuador: Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico; 2021. Trabajo de Titulación. Acceso 06 de enero de 2021. Disponible en <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/7970/1/5.-TESIS%20Fernando%20Carlos%20Ram%c3%a9rez%20Paguay-LAB-CLIN.pdf>.
- 56. Hachim MY, Hachim IY, Naeem KB, Hannawi H, Salmi IA, Hannawi S.** D-dimer, troponin, and urea level at presentation with COVID-19 can predict icu admission: A single centered study. *Front Med (Lausanne)* 2020;7:585003. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.585003>.
- 57. Pei G, Zhang Z, Peng J, Liu L, Zhang C, Yu C, et al.** Renal involvement and early prognosis in patients with COVID-19 pneumonia. *J Am Soc Nephrol* 2020;31:1157-1165. <https://doi.org/10.1681/asn.2020030276>.
- 58. Suárez S.** Daño hepático por la COVID-19. Actualización médica del SAR-CoV-2. *Boletín científico del CIMEQ* 2020;1:7.
- 59. Chai X, Hu L, Zhang Y, Han W, Lu Z, Ke A, et al.** Specific ACE2 expression in cholangiocytes may cause liver damage after 2019-NCov infection. *bioRxiv* 2020:2020.2002.2003.931766. <https://doi.org/10.1101/2020.02.03.931766>.
- 60. Lee IC, Huo TI, Huang YH.** Gastrointestinal and liver manifestations in patients with COVID-19. *J Chin Med Assoc* 2020;83:521-523. <https://doi.org/10.1097/jcma.0000000000000319>.
- 61. McGrowder DA, Miller F, Anderson-Cross M, Anderson-Jackson L, Bryan S, Dilworth L.** Abnormal liver biochemistry tests and acute liver injury in COVID-19 patients: Current evidence and potential pathogenesis. *Diseases* 2021;9:50. <https://doi.org/10.3390/diseases9030050>.
- 62. Iwasaki S, Fujisawa S, Nakakubo S, Kamada K, Yamashita Y, Fukumoto T, et al.** Comparison of SARS-CoV-2 detection in nasopharyngeal

swab and saliva. *J Infect* 2020;81:e145-147. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.05.071>.

- 63. Zuo MZ, Huang YG, Ma WH, Xue ZG, Zhang JQ, Gong YH, et al.** Expert recommendations for tracheal intubation in critically ill patients with novel coronavirus disease 2019. *Chin Med Sci J* 2020;35:105-109. <https://doi.org/10.24920/003724>.
- 64. Kipkorir V, Cheruiyot I, Ngure B, Misiani M, Munguti J.** Prolonged SARS-CoV-2 RNA detection in anal/rectal swabs and stool specimens in COVID-19 patients after negative conversion in nasopharyngeal RT-PCR test. *J Med Virol* 2020;92:2328-2331. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jmv.26007>.
- 65. Organización Panamericana de la Salud (PAHO).** Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19. Washington, Estados Unidos de América: Organización Panamericana de la Salud; 2020. Acceso 15 de enero de 2022. Disponible en <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52471>.
- 66. Aguilar-Ramírez P, Enriquez-Valencia Y, Quiroz-Carrillo C, Valencia-Ayala E, de León-Delgado J, Pareja-Cruz A.** Pruebas diagnósticas para la COVID-19: la importancia del antes y el después. *Horizonte Médico (Lima)* 2020;20:e1231. <https://doi.org/10.24265/horiz-med.2020.v20n2.14>.