

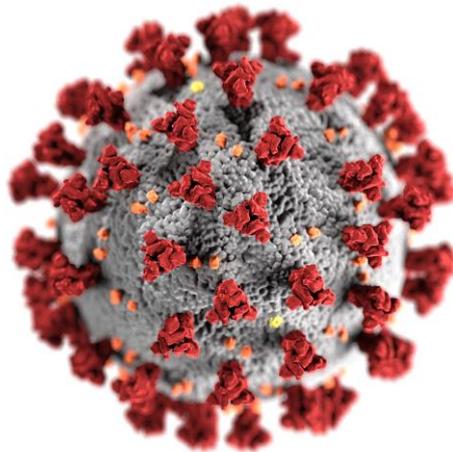


UNIVERSITAT
ROVIRA i VIRGILI

**Estudio de la correlación entre la positividad genética y
antigénica del SARS-CoV-2 en pacientes con COVID-19**

Pablo García Castillo

TRABAJO DE FIN DE GRADO BIOTECNOLOGÍA



Tutor académico: Francisco Algaba Chueca, Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques de la Universitat Rovira i Virgili, francisco.algaba@urv.cat.

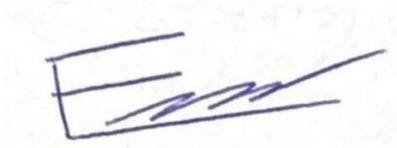
En colaboración con: Eldine Patología SLP.

Supervisor/es: Àngels Fortuño Mar, Doctora en Medicina y Cirugía, Eldine Patología SLP, angelsfortunyo@eldinepatologia.org; Lluís E. Pons Ferrer, licenciado en Medicina y Cirugía, Eldine Patología SLP, llpons@eldinepatologia.com; Francisco Algaba Chueca, Doctor en Biomedicina, Eldine Patología SLP, falgaba@eldinepatologia.com.

Junio 2021

Yo, Pablo García Castillo, con DNI 20239853-Z, soy conocedor de la guía de prevención del plagio en la URV Prevención, detección y tratamiento del plagio en la docencia: guía para estudiantes (aprobada el julio 2017) (<http://www.urv.cat/ca/vidacampus/serveis/crai/que-us-oferim/formacio-competencies-nuclears/plagi/>) i afirmo que este TFG no constituye ninguna de las conductas consideradas como plagio por la URV.

Tarragona, 7 de Junio de 2021



Estudio de la correlación entre la positividad genética y antigénica del SARS-CoV-2 en pacientes con COVID-19

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	15
1.1.	DESCRIPCIÓN ESTRUCTURAL DEL SARS-COV-2	16
1.2.	MECANISMO DE INFECCIÓN.....	17
1.3.	RESPUESTA DEL SISTEMA INMUNITARIO.....	18
1.3.1.	INMUNIDAD HUMORAL.....	19
1.4.	PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	20
1.4.1.	TÉCNICAS DE DETECCIÓN DEL VIRUS	21
1.4.2.	TÉCNICAS SEROLÓGICAS.....	25
2.	HIPÓTESIS Y OBJETIVO/S	25
3.	METODOLOGÍA	26
3.1.	SUJETOS DE ESTUDIO.....	26
3.2.	OBTENCIÓN DE MUESTRAS	26
3.3.	RT-PCR	27
3.4.	TEST DE ANTÍGENO RÁPIDO (TAR)	28
3.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
4.	RESULTADOS.....	30
5.	DISCUSIÓN.....	32
6.	CONCLUSIÓN.....	34
7.	AGRADECIMIENTOS	34
8.	BIBLIOGRAFÍA	35
9.	AUTOEVALUACIÓN	37

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1: Interpretación de resultados de la prueba RT-PCR. Fuente: https://www.credodxbiomed.com/en/ [Consultado: 21/05/2021].....	23
Tabla 2: Interpretación de resultados del test de antígeno rápido (TAR) (16).....	24
Tabla 3: Tabla clínica de los sujetos de estudio. (H= Hombre; M= Mujer).....	30
Tabla 4: Resultados de las pruebas diagnósticas RT-PCR y TAR realizadas a los sujetos de estudio.....	31
Tabla 5: Análisis de Varianza de los datos de correlación de las pruebas RT-PCR y TAR. Tratamiento de los datos realizado con la herramienta de análisis de datos Statgraphics Centurion 18 [versión 18.1.13 (64 bits)]. (GI = grados de libertad; Coef. = coeficiente).....	31

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1: Estructura del SARS-CoV-2 (7).....	17
Figura 2: Representación esquemática del proceso de infección de SARS-CoV-2. Unión del virus, internalización en células epiteliales, replicación del material genético viral y liberación del virus (2).	18
Figura 3: Evolución temporal de las concentraciones aproximadas de ARN viral, antígeno y anticuerpos de tipo M y G después de la aparición de los síntomas en un paciente con COVID-19.	20
Figura 4: Flujo de trabajo para la prueba diagnóstica de COVID-19 por medio de RT-PCR (5). 1. Toma de muestra y obtención del ADNc a partir del ARN vírico. 2. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) 3. Interpretación de los resultados.....	22
Figura 5: Evolución temporal diagnóstica de las pruebas de detección de SARS-CoV-2. Fuente: Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM) - Medicina de Laboratorio.....	25
Figura 6: Toma de muestra de la cavidad nasofaríngea obtenida mediante un hisopo específico. Fuente: Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM) - Medicina de Laboratorio.	27
Figura 7: Protocolo de toma y tratamiento de muestras con el dispositivo Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device (nasopharyngeal) para la posterior detección de SARS-CoV-2. Fuente: <i>Global point of care</i> , Abbott (https://www.globalpointofcare.abbott/en/index.html) [Consultado: 08/05/2021].....	28
Figura 8: Obtención de un valor cuantitativo del TAR mediante el programa ImageJ. A. Cuadro de cuantificación del área bajo la curva del pico. B. Densitograma de la ventana de resultados del dispositivo de prueba del TAR.....	29
Figura 9: Muestra de resultados positivos. A. Gráfico de resultado positivo de la prueba RT-PCR en el termociclador VitaPCRTM donde se representa la carga viral de la muestra (eje Y) frente al Ct (eje X). B. Resultado positivo del dispositivo de prueba de antígeno rápida (TAR). C. Densitograma de la	

ventana de resultados del dispositivo de prueba del TAR donde se muestra la intensidad de la línea control (C) y la intensidad de la línea de prueba (T). 30

Figura 10: Tratamiento de los datos realizado con la herramienta de análisis de datos Statgraphics Centurion 18 [versión 18.1.13 (64 bits)]..... 32

Datos del centro

Este Trabajo Final de Grado fue realizado a partir de las prácticas externas realizadas en la Unidad de Biología Molecular del laboratorio de anatomía patológica Eldine Patología SLP, cuyo coordinador es el Doctor Francisco Algaba Chueca. Iniciadas en abril de 2021 y finalizadas en junio de 2021.



Abreviaciones

- ACE2 (por sus siglas en inglés, Enzima Convertidora de Angiotensina 2)
- ADNc (Ácido DesoxiRibonucleico complementario)
- ARN (Ácido RiboNucleico)
- CMH (Complejo Mayor de Histocompatibilidad)
- CoV (CoronaVirus)
- COVID-19 (del inglés *COronaVirus Disease 2019*)
- CPA (Célula Presentadora de Antígeno)
- Ct (Umbral de ciclo)
- ERGIC (por sus siglas en inglés, Compartimento Intermedio de Golgi del Retículo Endoplasmático)
- HBB (por sus siglas en inglés, beta-globina humana)
- Ig (Inmunoglobulina)
- IL-6 (Interleucina 6)
- LoD (del inglés *Limit of Detection*)
- MERS-CoV (por sus siglas en inglés, Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio)
- ORF1ab (del inglés *Open Reading Frame 1ab*)
- RE (Retículo Endoplasmático)
- RT-PCR (por sus siglas en inglés, Reacción en Cadena de la Polimerasa de transcripción inversa en Tiempo Real)
- SAC (por sus siglas en inglés, Control de Adecuación de la Muestra)
- SARS-CoV-1 (del inglés *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 1*)
- SARS-CoV-2 (del inglés *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*)
- SDRA (Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda)
- TAR (Test de Antígeno Rápido)
- TDR (Test Diagnóstico Rápido)
- TMPRSS2 (por sus siglas en inglés, PRoteína TransMembrana Serina 2)

ABSTRACT

In December 2019, a new respiratory disease was reported in Wuhan (China) caused by the SARS-CoV-2 coronavirus (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), officially named COVID-19 (COroNaVirus Disease 2019). Although it is not the first time that we have faced this type of virus, its great capacity for transmission and the high number of asymptomatic patients (80%) makes it difficult to eradicate the virus, which has been classified as a global pandemic.

The development of new vaccines and sensitive and inexpensive diagnostic tests has become one of the priority goals at the international level. The present study analyses the correlation between the positive results for the detection of SARS-CoV-2 obtained by RT-PCR diagnostic tests and rapid antigen test (RAT). Samples were obtained from a total of 10 Eldine Patología patients who requested both tests simultaneously, and who were positive in at least one of them. Two nasopharyngeal scraping samples were taken from each patient obtaining the cycle threshold (Ct) as a result of the RT-PCR test and a densitogram of the positive bands of the RAT device to obtain a quantitative value.

The results relativized to their corresponding control were correlated showing a high agreement regarding the positivity of both tests. The good correlation of results highlights the role of RAT as a cheaper but reliable alternative to RT-PCR.

Keywords: COVID-19; SARS-CoV-2; diagnosis; RT-PCR; rapid antigen test.

RESUMEN

En diciembre de 2019 se reportó una nueva enfermedad respiratoria en Wuhan (China) ocasionada por el coronavirus SARS-CoV-2 (del inglés *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), oficialmente nombrada COVID-19 (del inglés *COroNaVirus Disease 2019*). Pese a que no es la primera vez que nos enfrentamos a este tipo de virus, su gran capacidad de transmisión y el elevado número de pacientes asintomáticos (80%) dificulta la erradicación del virus, el cual ha sido catalogado como pandemia global.

La elaboración de nuevas vacunas y pruebas diagnósticas sensibles y económicas se ha convertido en una de las metas prioritarias a nivel internacional. En el presente estudio se analiza la correlación entre los resultados positivos para la detección de SARS-CoV-2 obtenidos por medio de las pruebas diagnósticas RT-PCR y test de antígeno rápido (TAR). Las muestras se obtuvieron de un total de 10 pacientes de Eldine Patología que solicitaron ambas pruebas simultáneamente, y que fueron positivos en al menos una de ellas. Se tomaron dos muestras de raspado nasofaríngeo de cada paciente obteniendo el umbral de ciclo (Ct) como resultado de la prueba RT-PCR y un densitograma de las bandas positivas del dispositivo TAR para obtener un valor cuantitativo.

Los resultados relativizados a su correspondiente control se correlacionaron mostrando una elevada concordancia respecto a la positividad de ambas pruebas. La buena correlación de resultados destaca el papel de los TAR como una alternativa más económica pero fiable a la RT-PCR.

Palabras clave: COVID-19; SARS-CoV-2; diagnóstico; RT-PCR; test antígeno rápido.

1. Introducción

En diciembre de 2019 en la ciudad china de Wuhan se detectó un acusado incremento en la incidencia de enfermedades respiratorias asociadas a un nuevo tipo de coronavirus denominado Coronavirus del Síndrome Agudo Respiratorio Severo 2 por los síntomas y complicaciones que ocasionaba, cuya traducción al inglés se resume con las siglas SARS-CoV-2 (1). La Organización Mundial de la Salud (OMS) denominó a la enfermedad provocada por este agente como COVID-19 (del inglés *CO*rona*VI*rus *D*isease 2019) y el 11 de marzo de 2020 la declaró de forma oficial como pandemia (1).

En la actualidad se conocen siete tipos de coronavirus (CoV), de los cuales dos -aparte del anteriormente mencionado- han sido descubiertos en los últimos 19 años y asociados con una elevada patogenicidad para el ser humano (2). En 2002 se describió el llamado SARS-CoV-1 y en 2012 el coronavirus causante del denominado Síndrome Respiratorio de Oriente Medio, cuya traducción se resume con las siglas MERS-CoV. Ambos casos protagonizaron brotes a nivel local que pudieron ser contenidos (2). Sin embargo, hasta la fecha, la COVID-19 ha causado más de 170.051.718 contagios y 3.540.437 fallecidos en todo el mundo (3), desencadenando una tremenda crisis sanitaria, social y económica.

Según la Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM), la gravedad de los casos se puede clasificar en infección asintomática (80%), enfermedad leve (13-16%), enfermedad crítica (1-3%) o casos mortales (1-3%). Los síntomas más comunes son la fiebre (76-93%), la tos (45-82%) y la dificultad respiratoria (1-39%), siendo el Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (SDRA) la principal causa de mortalidad por SARS-CoV-2 (4).

El elevado número de casos asintomáticos dificulta la completa erradicación del virus. Los tratamientos actuales son básicamente sintomáticos o paliativos. Sin embargo, el desarrollo y posterior aprobación de las vacunas eficaces contra el SARS-CoV-2 ha supuesto un horizonte para la superación de la pandemia. Pese a que no es la primera vez que nos enfrentamos a este tipo de virus, el caso de SARS-CoV-2 presenta aspectos exclusivos respecto a otras infecciones virales respiratorias cuyos aspectos se detallarán en los siguientes apartados.

1.1. Descripción estructural del SARS-CoV-2

Los CoV son virus de ácido ribonucleico (ARN) monocatenario de sentido positivo (+ssRNA, del inglés *single-stranded ribonucleic acid*), esféricos, con envoltura basada en una bicapa lipídica (1), no segmentados y de gran tamaño (100-160 nm) (5). Los estudios filogenéticos revelaron que el SARS-CoV-2 muestra una similitud de secuencia del 80% y del 50% con SARS-CoV-1 y MERS-CoV, respectivamente (5).

Aproximadamente, dos tercios del genoma del SARS-CoV-2 codifican para una poliproteína superpuesta denominada marco de lectura abierto ORF1ab (del inglés *Open Reading Frame 1ab*). Esta consiste en una cadena de 16 proteínas que por modificaciones postraduccionales dará lugar al complejo proteico con actividad transcriptasa compuesto por la polimerasa de ARN con actividad fosfatasa dependiente de ARN (RdRp por sus siglas en inglés), una helicasa y catorce proteínas no estructurales asociadas a la síntesis de ARN o relacionadas con la modulación de la respuesta del huésped (5). El genoma restante codifica para cuatro proteínas estructurales (1) (Figura 1):

- **Proteína de la espícula (S, del inglés *spike*):** sobre la superficie del virus, permite la unión a los receptores de la célula huésped.
- **Proteína de la nucleocápside (N):** encargada del empaquetamiento del genoma del virus en partículas víricas. Protege el ARN del virus de la degradación y lo mantiene estable dentro del mismo.
- **Proteína de envoltura (E, del inglés *envelope*):** proteína transmembrana situada en la envoltura viral. Facilita el ensamblaje y la liberación del virus.
- **Proteína de membrana (M):** ayuda a mantener la curvatura de la membrana y facilita la unión con la nucleocápside.
- **Hemaglutinina esterasa (HE):** proteína que se fija a residuos de ácido siálico ampliamente distribuidos en la membrana de las células huésped del sistema respiratorio (4). La esterasa hidroliza grupos acetilo facilitando la internalización del virus (6).

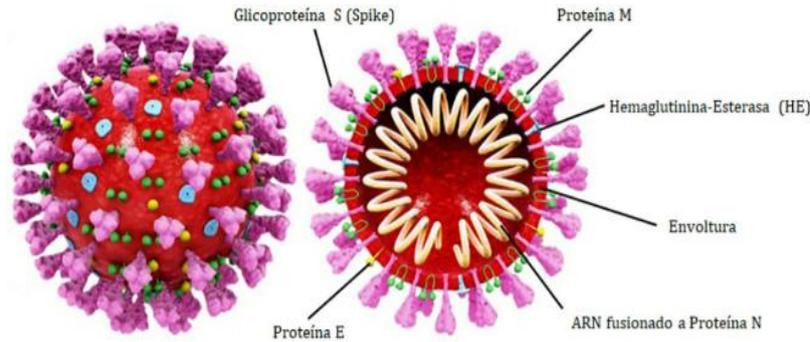


Figura 1: Estructura del SARS-CoV-2 (7).

1.2. Mecanismo de infección

La transmisión del virus se origina por contacto con secreciones respiratorias generadas de la tos o el estornudo de la persona infectada. El contagio tiene lugar cuando una de estas secreciones entra en contacto con mucosas expuestas de una persona sana como los ojos, la boca o la nariz.

La infección por SARS-CoV-2 está mediada por la interacción del dominio de unión al receptor (RBD, del inglés *Receptor Binding Domain*) de la proteína S con la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) expresada en la superficie de las células huésped humanas, mayoritariamente en la superficie de células epiteliales de la nasoy orofaringe aunque también en diversos órganos como el riñón o el intestino (8). La proteína S sufre una escisión proteolítica entre las subunidades S1 y S2 por la proteína transmembrana serina 2 (TMPRSS2) del huésped activando el dominio S2 que consiste en una proteína de fusión. Dicho dominio cuenta con un péptido de fusión interno el cual se inserta en la membrana de la célula huésped facilitando su fusión con la envoltura vírica (8). Como consecuencia de dicho reconocimiento, el virus es internalizado a la célula huésped vía formación de endosomas. La nucleocápside del virus es liberada al espacio citoplasmático donde tendrá lugar su degradación, permitiendo la liberación del material genético al citoplasma (9) (Figura 2). El genoma viral es posteriormente traducido en los ribosomas de la célula huésped gracias a la acción de la transcriptasa RdRp y helicasas virales. La replicación del genoma supone la síntesis de una cadena de ARN de sentido negativo que sirve de molde para generar ARN de sentido positivo listo para ser empaquetado. El genoma viral recién sintetizado se asocia con la proteína N formando la nucleocápside (10), evitando así su degradación. Las proteínas estructurales S, E y M traducidas e insertadas en la membrana del retículo endoplasmático (RE), son posteriormente transportadas al compartimento intermedio de

Golgi del retículo endoplásmico (ERGIC, por sus siglas en inglés) encargado de facilitar la clasificación y distribución de vesículas entre el RE y el aparato de Golgi. En este compartimento las proteínas estructurales interaccionan con la nucleocápside para sintetizar nuevas partículas virales. Las progenies virales son posteriormente transferidas a la membrana celular por gemación y el virus es liberado por exocitosis (2) (Figura 2).

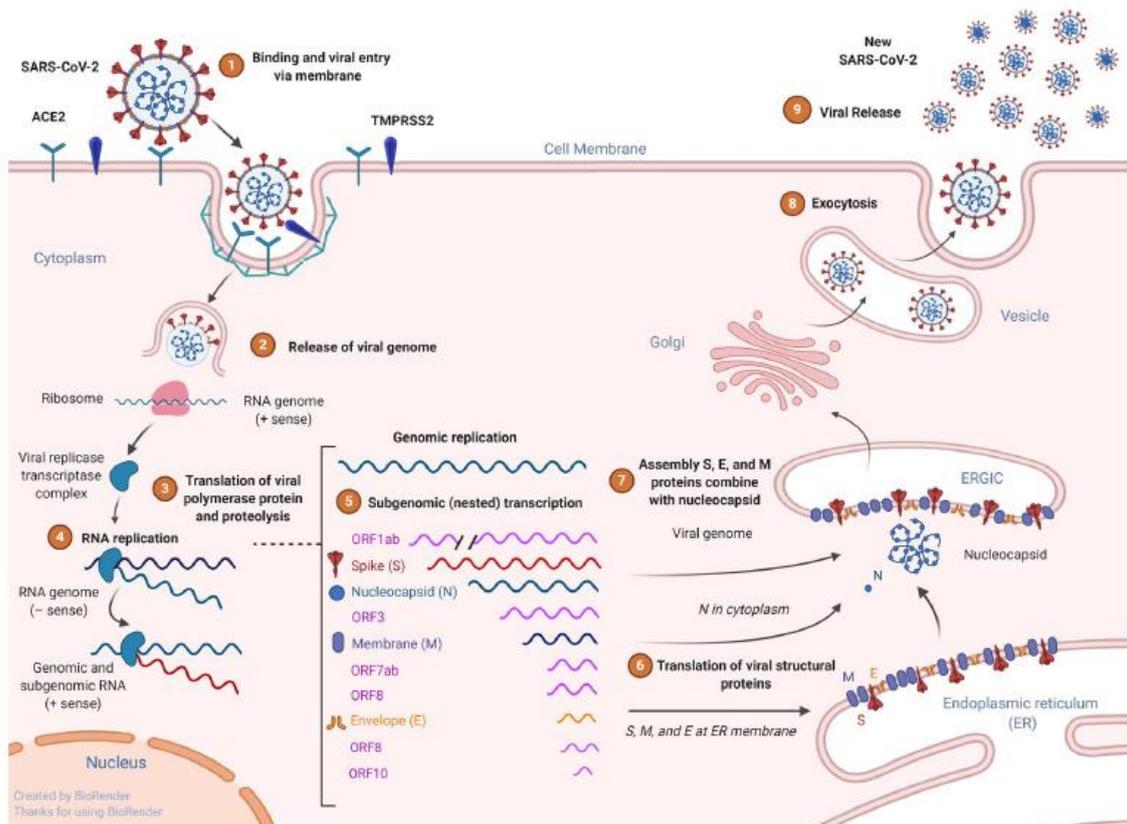


Figura 2: Representación esquemática del proceso de infección de SARS-CoV-2. Unión del virus, internalización en células epiteliales, replicación del material genético viral y liberación del virus (2).

1.3. Respuesta del sistema inmunitario

Una vez que el virus entra en contacto con las células del huésped y es internalizado formando endosomas, ciertas secuencias del ARN viral son reconocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) por receptores denominados de tipo toll (TLR, por sus siglas en inglés) localizados en la membrana de la propia vesícula (10). Este mecanismo propio de la respuesta innata del sistema inmunitario activará varias vías de señalización y factores de transcripción que promueven la producción de citocinas e interferón por parte de las células epiteliales respiratorias, células dendríticas (CD) y macrófagos durante la etapa temprana de la infección (11), entre otros, capaces

de inhibir la replicación viral en fases tempranas de la infección (10). Destaca la secreción de interleucina 6 (IL-6) por parte de las células epiteliales infectadas, aumentando la infiltración de células inmunitarias proinflamatorias activadas particularmente en los pulmones (12).

Por otro lado, los mecanismos de inmunidad adaptativa se activan con la presentación de péptidos virales por parte de las células presentadoras de antígeno (CPA), destacando las células dendríticas abundantes en las superficies mucosas del sistema respiratorio (13). Estas células podrán activar los linfocitos T citotóxicos (CD8+), encargados de la lisis de células infectadas por medio de distintos mecanismos como perforinas y granzimas (2), y a los linfocitos T helper (CD4+), responsables de una respuesta contra la proteína S duradera y persistente (8). Esta presentación se realiza por medio del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), un complejo proteico expresado en la superficie de la célula huésped infectada con capacidad de exponer péptidos cortos del virus que serán reconocidos por otras células del sistema inmunitario. Se trata de la principal vía de activación inmunitaria que dará lugar a la producción de anticuerpos.

1.3.1. Inmunidad humoral

La respuesta humoral es un mecanismo propio de la inmunidad adaptativa basado en la producción de anticuerpos. Los anticuerpos o inmunoglobulinas (Igs) son glucoproteínas secretadas por los linfocitos B con la función de identificar y neutralizar de forma específica elementos extraños conocidos como antígenos. Las células T helper que ya han sido activadas previamente por CPAs, presentan en su superficie moléculas co-estimuladoras capaces de activar a los linfocitos B. De este modo se estimula la diferenciación y proliferación de leucocitos fomentando la producción de anticuerpos específicos contra el antígeno presentado (14). Durante una infección vírica, los isotipos IgM, IgG e IgA son los más relevantes (2):

- **IgA:** Dificulta la unión del virus al epitelio mucoso por medio de una respuesta específica frente a la hemaglutinina del virus (2).
- **IgM:** Encargada de la respuesta humoral temprana. Forma inmunocomplejos junto a su antígeno correspondiente colonizando la superficie del patógeno. Su concentración disminuye a medida que aumenta la de IgG.
- **IgG:** Responsable de la respuesta humoral persistente. Presentes de forma libre en el torrente sanguíneo y en la superficie de los linfocitos B maduros actuando como receptores de antígenos específicos.

Las células epiteliales cuentan con un receptor polimérico en su parte basal con afinidad por la IgA e IgM, las cuales son endocitadas y posteriormente secretadas a la zona de la mucosa generando una barrera química (14). Estos anticuerpos se unen específicamente a la proteína S del SARS-CoV-2, evitando su unión al receptor ACE2 de la célula huésped y la posterior infección, neutralizando así la acción del virus.

La síntesis de IgM e IgA específicas contra el SARS-CoV-2 se ajusta a un rango de entre 3-6 días, mientras que la detección de IgG no se consigue generalmente hasta los 10-18 días después de la aparición de los síntomas (1,2) (Figura 3). Estas últimas proporcionan inmunidad durante un periodo de tiempo relativamente largo, aún por determinar (1).

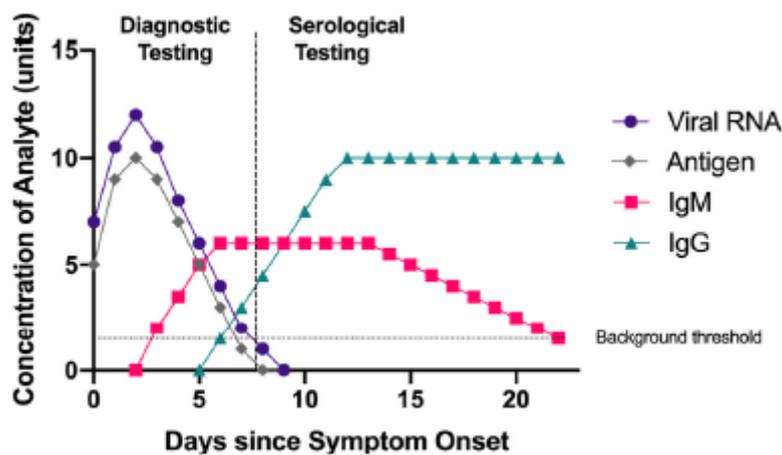


Figura 3: Evolución temporal de las concentraciones aproximadas de ARN viral, antígeno y anticuerpos de tipo M y G después de la aparición de los síntomas en un paciente con COVID-19.

1.4. Pruebas diagnósticas

Contamos con diversas técnicas para determinar la presencia del virus y/o la exposición inmunológica al mismo. Cada uno de ellos cuenta con un grado diferente de especificidad y se basan en diferentes moléculas diana del SARS-CoV-2 en respuesta a la infección (5). Estos métodos incluyen pruebas moleculares y serológicas, las cuales detallaremos a continuación.

1.4.1. Técnicas de detección del virus

1.4.1.1. Técnicas basadas en la detección de ácidos nucleicos

La tecnología de amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) tiene como objetivo la detección cualitativa y cuantitativa de ARN del SARS-CoV-2. La amplificación del material genético viral es necesaria para aumentar el número de copias de ARN del virus y conseguir concentraciones dentro del límite de detección (LoD, por sus siglas en inglés) del termociclador utilizado para realizar la prueba.

Se parte de una muestra de ARN la cual debe ser retrotranscrita a ADN complementario (ADNc) mediante la acción de la enzima transcriptasa inversa (5) (Figura 5). El ADNc resultante se introducirá en un termociclador que aplicará una serie de ciclos de variaciones de temperatura que permitirá su separación en las dos hebras complementarias y posterior amplificación mediante la adición de cebadores específicos. Estos reconocerán una secuencia concreta del material genético viral y servirán como punto de inicio para empezar a sintetizar una nueva copia de la cadena a la que se han unido por acción de la enzima polimerasa (5). El test detecta la ausencia o la presencia (infección) del virus en el paciente en tres pasos principales:

- 1) **Desnaturalización:** Un aumento de la temperatura provoca la separación de la doble cadena de ADNc recién sintetizado.
- 2) **Alineamiento de cebadores:** Una disminución de la temperatura y unión de los cebadores específicos seleccionados previamente a los extremos de las secuencias que se quiere amplificar.
- 3) **Extensión:** Unión de la polimerasa a los cebadores, síntesis de ADN de doble cadena (dsDNA, por sus siglas en inglés) y amplificación de la secuencia de estudio.

Se repite este proceso de amplificación denominado “ciclo” hasta obtener una detección del virus óptima, si es el caso. Dentro de la mezcla de reactivos empleados se encuentra el SYBR-Green, un fluoróforo específico de ADN bicatenario el cual emitirá fluorescencia que podrá ser detectada y cuantificada únicamente cuando se encuentre unido a dsDNA. (5). Pese a que el aumento de fluorescencia es progresivo desde el primer ciclo, no será hasta alcanzar el LoD del instrumento cuando se podrá detectar la presencia del gen de interés. En el caso de infecciones causadas por SARS-CoV-2 el número de ciclos establecido es de 40 (5). El termociclador cuenta con unos láseres activados tras

cada ciclo con la finalidad de detectar la fluorescencia emitida por los fluoróforos en una longitud de onda determinada (Figura 4). Finalmente se procede a la interpretación de los resultados (Tabla 1).

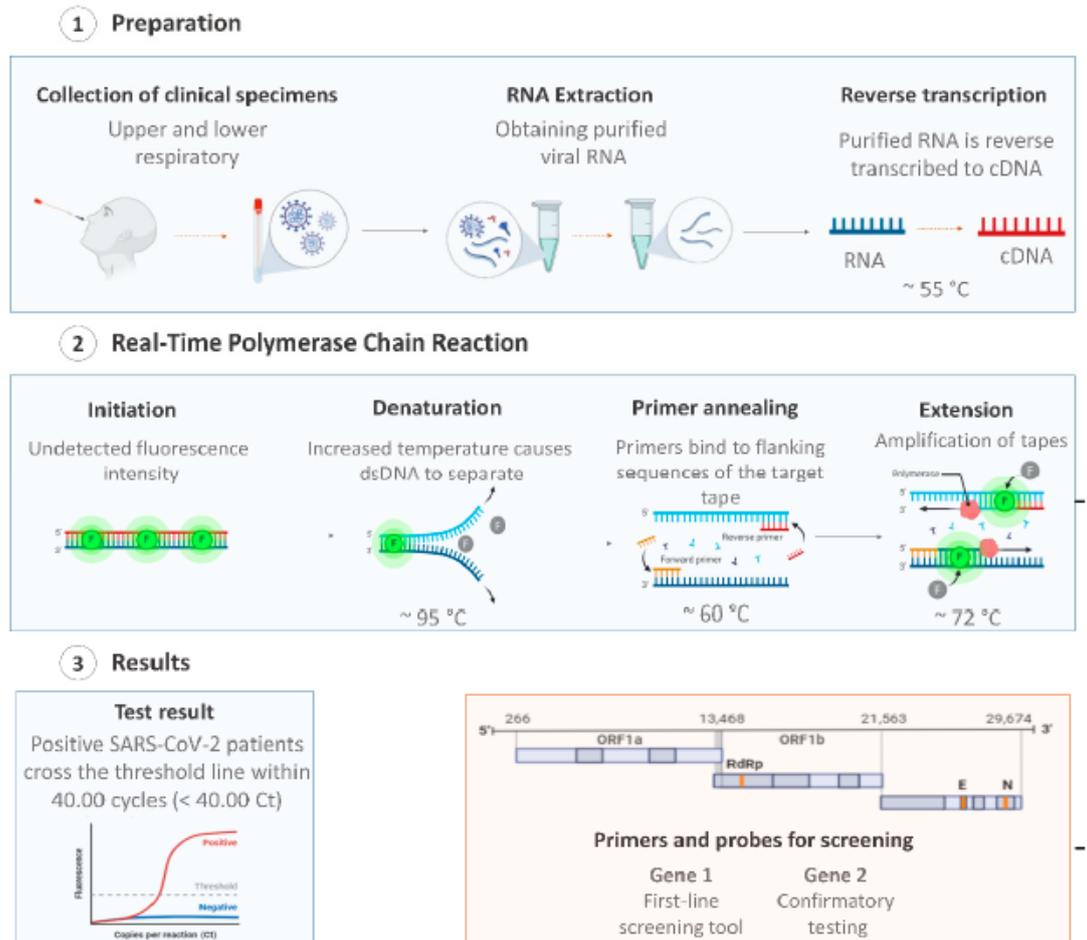


Figura 4: Flujo de trabajo para la prueba diagnóstica de COVID-19 por medio de RT-PCR (5). 1.Toma de muestra y obtención del ADNc a partir del ARN vírico. 2. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) 3. Interpretación de los resultados.

La RT-PCR es considerada la prueba de referencia para la detección de SARSCoV-2. Generalmente se suelen incorporar varios controles como material genético de la familia de los CoV o incluso un control de muestra humana para asegurar la representatividad celular y la calidad de la toma de muestra. Su notable sensibilidad y especificidad son factores a tener en cuenta. No obstante, su considerable precio, el elevado tiempo de respuesta para el análisis de la muestra y la necesidad de personal cualificado impide su uso en pruebas masivas de la población en muchos países (5).

Interpretación de la prueba RT-PCR				
Resultado	Detección de ARN específico de SARS-CoV-2	Detección de ARN universal de la familia de los CoV	Detección del gen control	Interpretación
Positivo	+	+	±	El individuo puede estar infectado.
	+	-	±	La no detección del ARN universal puede ser debido a una baja carga viral o por acumulación de mutaciones.
Negativo	-	+	±	La no detección del ARN específico de SARS-CoV-2 puede ser debido a una baja carga viral o por acumulación de mutaciones.
	-	-	+	Muestra sin niveles de ARN específico de SARS-CoV-2 detectables.
No válido	-	-	-	Muestra recogida de forma inadecuada, inhibición de la RT-PCR o fallo de los reactivos. Tomar una nueva muestra y repetir la prueba.

Tabla 1: Interpretación de resultados de la prueba RT-PCR. Fuente: <https://www.credodxbiomed.com/en/> [Consultado: 21/05/2021]

1.4.1.2. Test de antígeno rápido

El test de antígeno rápido (TAR) está basado en la inmunocromatografía de flujo lateral y permite la detección de proteínas virales específicas de SARS-CoV-2 (16). El resultado de la prueba se basa en la detección de la proteína N del virus así como en la detección de un antígeno epitelial humano que actuará como control, indicando una adecuada obtención de la muestra y el correcto funcionamiento del procedimiento. Este tipo de pruebas constan de una tira de membrana pre-revestida con anti-anticuerpos anti-SARS-CoV-2 inmovilizados en la línea de prueba (T), permitiendo detectar la presencia de antígenos del virus en la muestra. En la banda control (C) se encuentran inmovilizadas Igs donde se unirá el anticuerpo con afinidad por el antígeno humano.

La obtención de la muestra nasofaríngea del paciente se realiza mediante un hisopo esterilizado que posteriormente se introducirá en una solución lisante compuesta por sales de guanidinio. Una alícuota de la muestra tratada se introduce en el dispositivo de prueba donde tendrá lugar la interacción del antígeno del SARS-CoV-2 (en caso de infección) y del antígeno humano con sus respectivos anticuerpos. El inmunocomplejo se desplaza por la membrana por capilaridad reaccionando con los anti-anticuerpos inmovilizados que permitirán la formación de las bandas correspondientes en la ventana de resultados. La línea control siempre debe aparecer indicando el correcto funcionamiento del procedimiento (16) (Tabla 2).

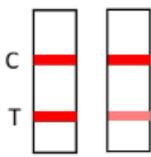
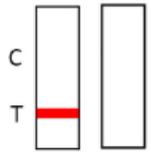
Interpretación de la prueba TAR		
Resultado negativo	Únicamente se observa la línea de control (C) dentro de la ventana de resultados.	
Resultado positivo	Presencia de la línea de control (C) y la línea de prueba (T) dentro de la ventana de resultados, independientemente de la intensidad de esta última.	
Resultado no válido	La línea de control (C) no está visible dentro de la ventana de resultados. Se recomienda revisar de nuevo las instrucciones de uso antes de volver a analizar la muestra con un nuevo dispositivo.	

Tabla 2: Interpretación de resultados del test de antígeno rápido (TAR) (16).

La detección de un antígeno viral está relacionada con la replicación activa del virus lo que implica una infección vigente por SARS-CoV-2 en el momento de toma de muestra en caso de resultado positivo. Esta prueba muestra su mayor eficacia durante los primeros 7 días tras la aparición de los síntomas, coincidiendo con la fase aguda de la infección cuando la carga viral es mayor (17) (Figura 5). Su rapidez (15-20 min), sencillez, facilidad de manipulación y reducido coste permite su uso para el cribado masivo de pacientes en comparación con la RT-PCR. Sin embargo, existe la posibilidad de falsos negativos derivados de una menor sensibilidad. Por este motivo, una prueba

de antígenos negativa no es suficiente para descartar una posible infección en el paciente y se recomienda realizar pruebas posteriores con una fiabilidad mayor.

1.4.2. Técnicas serológicas

Las pruebas de detección de anticuerpos neutralizantes de SARS-CoV-2 basadas en muestras sanguíneas, son una forma indirecta de medir la presencia o exposición previa al virus. Se trata de un test diagnóstico rápido (TDR) basado en tecnología de inmunocromatográfica de flujo lateral, que posibilita obtener resultados en 20 min y permite determinar los anticuerpos sanguíneos (IgM / IgG anti-SARS-CoV-2) producidos en respuesta a la exposición viral.

La Sociedad Española de Inmunología (SEI) afirma que tras la infección se generan anticuerpos de tipo IgM cuyo número empieza a aumentar y ser detectable aproximadamente 5-7 días tras la infección (Figura 5). Es a partir de este momento cuando la prueba presenta su mayor eficiencia. Pese a que muestran ventajas como su precio económico o rapidez, las pruebas serológicas por sí solas no deben utilizarse para diagnosticar la infección (1).

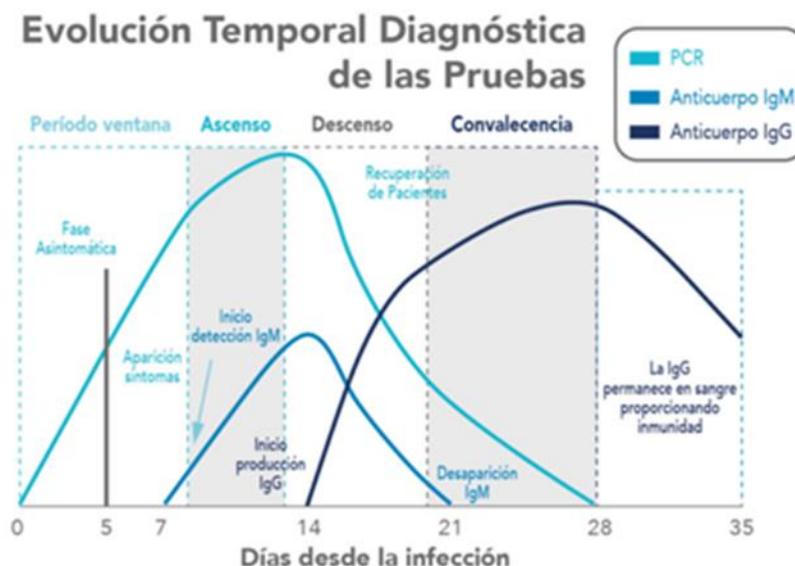


Figura 5: Evolución temporal diagnóstica de las pruebas de detección de SARS-CoV-2. Fuente: Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM) - Medicina de Laboratorio.

2. Hipótesis y objetivo/s

El desarrollo de los test de antígeno ha supuesto una ventaja económica y temporal respecto a la técnica estándar de RT-PCR. No obstante su menor sensibilidad y eficacia,

especialmente en el periodo inicial de la pandemia, ha abierto un debate sobre la fiabilidad de este tipo de pruebas para realizar un correcto diagnóstico de pacientes con COVID-19 (18).

La hipótesis en la que se basa el estudio es la existencia de una correlación entre los resultados positivos para la detección de SARS-CoV-2 obtenidos por medio de las pruebas diagnósticas RT-PCR y TAR realizadas de manera simultánea.

Para validar o descartar dicha hipótesis, el objetivo principal del presente trabajo es explorar y analizar la posible correlación existente entre resultados positivos obtenidos por las pruebas mencionadas anteriormente en pacientes diagnosticados con COVID-19.

3. Metodología

3.1. Sujetos de estudio

Para el presente estudio se incorporaron un total de 10 pacientes que solicitaron tanto una prueba RT-PCR como una prueba TAR de forma simultánea en Eldine Patología, y que mostraron un resultado positivo en al menos una de las dos pruebas.

3.2. Obtención de muestras

Generalmente, para la realización de estas pruebas se obtiene una muestra de raspado naso- u orofaríngeo mediante un hisopo, buscando extraer células epiteliales de las zonas anteriormente citadas siendo estas un gran reservorio del genoma viral en caso de infección. Posteriormente se induce la ruptura de la membrana celular y de la cápside del virus haciendo uso de un tampón de lisis compuesto por sales de guanidinio para obtener el ARN viral purificado.

Las muestras adquiridas de pacientes que cumplieron los requisitos anteriormente citados se correspondían con muestras de raspado nasofaríngeo recogidas con un hisopo homologado por la Comisión Europea (mango de propileno y punta de viscosa). Durante la toma de estas, se hizo uso de un equipo de protección individual (EPI) consistente en bata de bioseguridad, guantes, mascarilla FFP2 y gafas protectoras de laboratorio. Tras sentar al paciente en una silla, se procedió a inclinar la cabeza del mismo entre 45 ° y 70° e introducir con cuidado el hisopo en la fosa nasal siguiendo una trayectoria paralela a la orientación del paladar, sin variar su inclinación para evitar

causar posibles heridas o irritación. Se mantuvo una rotación constante del hisopo a medida que se hizo avanzar hacia la nasofaringe para favorecer la formación de moco que lubricara su paso. Tras alcanzar la zona óptima de recogida de muestra se procedió a la retirada de hisopo sin alterar el movimiento de rotación (Figura 6). Para la realización de las dos pruebas (RT-PCR y detección de antígenos) se obtuvieron un total de dos hisopos de cada paciente.

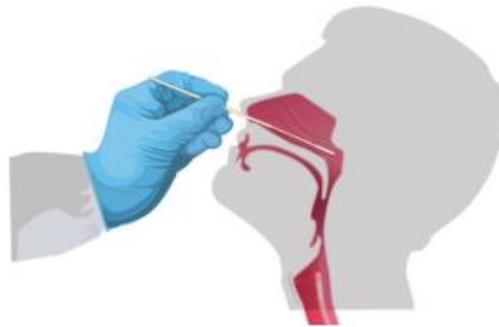


Figura 6: Toma de muestra de la cavidad nasofaríngea obtenida mediante un hisopo específico. Fuente: Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM) - Medicina de Laboratorio.

3.3. RT-PCR

Para la realización de la RT-PCR, cada una de las muestras se introdujo en un vial que contenía 4 mL de buffer de lisis. Tras vortear, la muestra se incubó durante veinte minutos a temperatura ambiente. Una vez transcurrido ese tiempo, una alícuota de 30µL se introdujo en un tubo que contenía la mezcla prefabricada de reactivos de RT-PCR liofilizados (Credo Diagnostics Biomedical, Singapur). La muestra se vorteoó y directamente se introdujo en el termociclador VitaPCR™ (Credo Diagnostics Biomedical, Singapur). Durante todo este procedimiento se trabajó en una cabina Telstar de bioseguridad de clase II (Bio-II-A), manteniendo las adecuadas condiciones de esterilidad.

Los cebadores utilizados en este kit están diseñados para detectar una secuencia del gen de la nucleocápside (N) presente en el material genético (ARN) propio del SARS-CoV-2. También se utilizaron cebadores específicos para la detección de una región genética del mismo gen muy conservada en la familia de los coronavirus como control. De forma complementaria también se emplearon cebadores para detectar el gen de la beta-globina humana (HBB, por sus siglas en inglés), un gen constitutivo que permite asegurar la presencia de células humanas en la muestra, asegurando una correcta toma de muestra (control de muestra).

La técnica de detección del dispositivo se basa en tres canales de fluorescencia (FAM™, VIC® y ROX™) activados tras cada uno de los cuarenta ciclos de amplificación que permiten la detección del material genético específico de SARS-CoV-2, de la familia de los CoV y de la HBB. La duración de la reacción es de aproximadamente veinte minutos. Una vez trascurrido este tiempo, se procedió a extraer y almacenar los datos de umbral de ciclo (Ct) de cada uno de los genes analizados en una base de datos. Para eliminar la variación entre las pruebas individuales, los datos fueron relativizados dividiendo el Ct de SARS-CoV-2 entre el Ct de la HBB, la cual actúa como control de adecuación de la muestra (SAC, por sus siglas en inglés).

3.4. Test de antígeno rápido (TAR)

Para el presente estudio se utilizó el TAR nasofaríngeo Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device (Abbott, Estados Unidos).

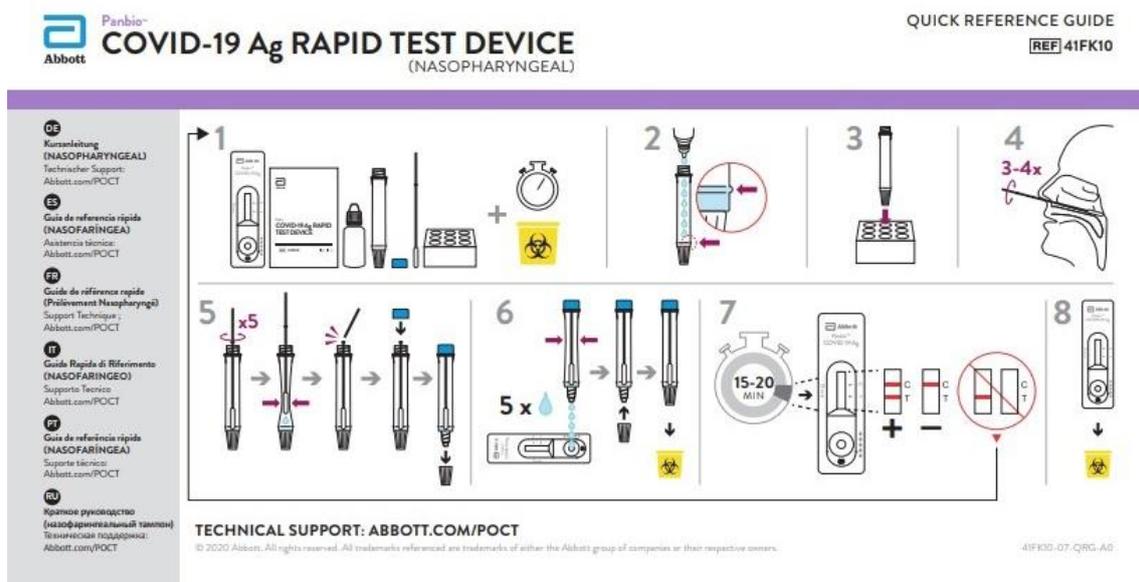


Figura 7: Protocolo de toma y tratamiento de muestras con el dispositivo Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device (nasopharyngeal) para la posterior detección de SARS-CoV-2. Fuente: *Global point of care*, Abbott (<https://www.globalpointofcare.abbott/en/index.html>) [Consultado: 08/05/2021].

Se colocó el dispositivo de prueba sobre una superficie plana y se preparó un tubo de extracción con 300µL del buffer de lisis (Figura 7). Inmediatamente después de la recogida de la muestra (Figura 6), se introdujo el hisopo en el tubo de extracción de tal forma que el extremo entrara en contacto con el buffer. Se realizaron movimientos rotatorios al menos cinco veces, se aplicó presión sobre las paredes del tubo con los dedos exprimiendo el hisopo y se quebró el mango de propileno por el punto de ruptura. Se depositaron cinco gotas de su contenido en el pocillo de prueba (S) que se encuentra

en el dispositivo (Figura 7). El tiempo de reacción del TAR es de quince minutos. Pasado el tiempo se interpretó el resultado de la prueba (Tabla 2) y se procedió a extraer y almacenar los resultados en una base de datos.

Concretamente, el dispositivo de prueba del paciente se escaneó mediante la impresora multifunción Brother MFC-J5330DW y el archivo PDF generado se guardó en un dispositivo USB. El documento PDF se modificó a extensión JPG haciendo uso de un convertidor en línea y la imagen se exportó al programa ImageJ (<https://wsr.imagej.net/distros/win/ij153-win-java8.zip>). La intensidad de banda que aparece en la línea control y en la línea de prueba en caso de obtener un resultado positivo fue cuantificada por densitometría. Se generó un densitograma donde se observó un primer pico que hace alusión a la intensidad de la línea control (C) y un segundo pico correspondiente a la intensidad de la línea de prueba (T) (Figura 8). Los valores del área bajo la curva de cada uno de los picos fueron calculados y almacenados en una base de datos. Para eliminar la variación entre las pruebas individuales, los datos fueron relativizados dividiendo el valor del área bajo la curva del pico de la línea de prueba entre el valor del área bajo la curva del pico de la línea control.

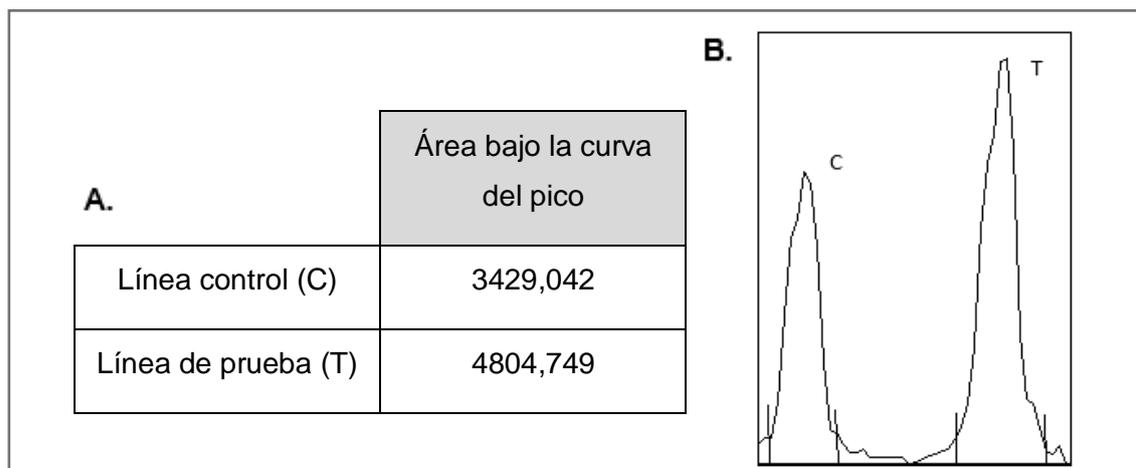


Figura 8: Obtención de un valor cuantitativo del TAR mediante el programa ImageJ. **A.** Cuadro de cuantificación del área bajo la curva del pico. **B.** Densitograma de la ventana de resultados del dispositivo de prueba del TAR

3.5. Análisis estadístico

Los datos de correlación de las pruebas RT-PCR y TAR se analizaron haciendo uso de la herramienta de análisis de datos Statgraphics Centurion 18 [versión 18.1.13 (64 bits)].

4. Resultados

La media de edad de los sujetos de estudio fue de $41 \pm 13,75$ años de los cuales ninguno de ellos reportó factores de riesgo previos conocidos. No obstante, todos mostraron sintomatología compatible con la infección por SARS-CoV-2 como fiebre, dolor de cabeza, tos seca y en algunos casos pérdida del olfato y/o gusto (Tabla 3).

n = 10		
Edad (años)	41 ± 13,75	
Sexo	H: 5/10 (50%)	M: 5/10 (50%)
Sintomáticos	10/10 (100%)	
Factores de riesgo	0/10 (0%)	

Tabla 3: Tabla clínica de los sujetos de estudio. (H= Hombre; M= Mujer)

El 50% de los pacientes analizados fueron mujeres y mostraron en todos los casos una correlación en cuanto la positividad de ambas pruebas realizadas. El 50% restante de los casos corresponden a varones mostrando una correlación en cuanto la positividad de ambas pruebas (Figura 9) excepto en uno de los pacientes, el cual presentó un diagnóstico RT-PCR positivo y un diagnóstico TAR negativo en la detección de SARS-CoV-2 (Tabla 4). La media del Ct de detección del SARS-CoV-2 en la cohorte completa fue de $25,7 \pm 4,001$, sin existir diferencias significativas al separar a los pacientes por sexo.

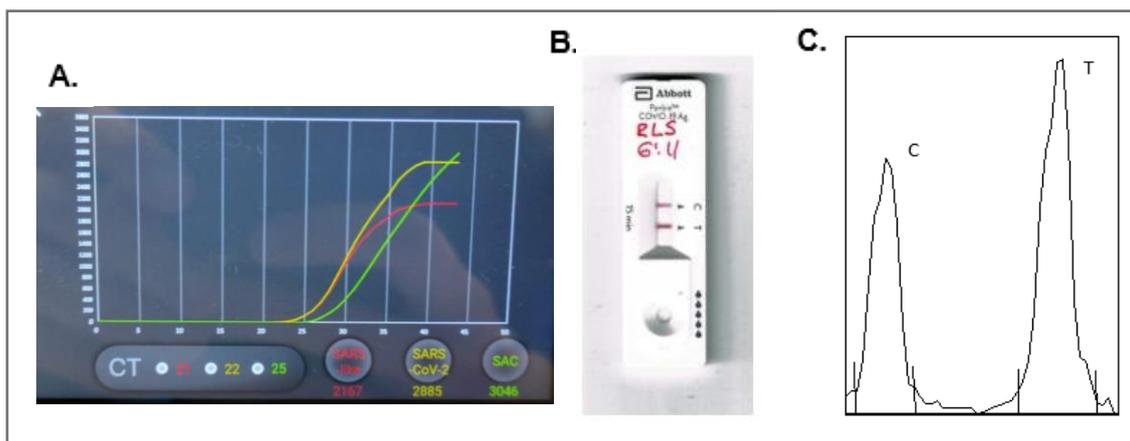


Figura 9: Muestra de resultados positivos. **A.** Gráfico de resultado positivo de la prueba RT-PCR en el termociclador VitaPCRTM donde se representa la carga viral de la muestra (eje Y) frente al Ct (eje X). **B.** Resultado positivo del dispositivo de prueba de antígeno rápido (TAR). **C.** Densitograma de la ventana de resultados del dispositivo de prueba del TAR donde se muestra la intensidad de la línea control (C) y la intensidad de la línea de prueba (T).

Del mismo modo, no se detecta una franja de edad en la que se obtenga una correlación de la positividad de ambas pruebas mayor. Cinco de los pacientes se encuentran en la franja de edad de 41-53 años (50%), cuatro de ellos en la franja de 24-29 años (40%) y el último de los sujetos cuenta con una edad de 65 años (10%).

Resultado de la prueba	Número de casos
RT-PCR positiva	10/10 (100%)
TAR positivo	9/10 (90%)
RT-PCR positiva – TAR negativo	1/10 (10%)
RT-PCR negativa – TAR positivo	0/10 (0%)

Tabla 4: Resultados de las pruebas diagnósticas RT-PCR y TAR realizadas a los sujetos de estudio.

Los datos relativizados de RT-PCR y test de antígeno rápido de cada paciente se correlacionaron mediante la herramienta de análisis de datos Statgraphics Centurion 18 y se obtuvo un valor de R^2 de 27,159%, un coeficiente de regresión de -0,521 y un P-valor de 0,12 (Tabla 5), indicando una tendencia moderadamente fuerte entre las variables sin llegar a ser estadísticamente significativa.

Análisis de Varianza							
Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Coef. de correlación	R-cuadrada (%)	P-valor
Modelo	0,0726481	1	0,0726481	2,98	-0,521145	27,1592	0,1224

Tabla 5: Análisis de Varianza de los datos de correlación de las pruebas RT-PCR y TAR. Tratamiento de los datos realizado con la herramienta de análisis de datos Statgraphics Centurion 18 [versión 18.1.13 (64 bits)]. (Gl = grados de libertad; Coef. = coeficiente)

Un ratio menor de RT-PCR se relaciona con una carga viral mayor, mientras que el ratio del TAR es directamente proporcional a la carga viral existente. Es decir, la concentración del virus es mayor cuando se detecta el SARS-CoV-2 a un Ct más bajo (RT-PCR) indicando un menor número de ciclos necesarios para amplificar el ARN viral hasta niveles detectables. Por otro lado, cuanto mayor sea la intensidad de la banda de prueba en el dispositivo diagnóstico del TAR mayor será la carga viral de la muestra.

Por este motivo la recta resultante de la correlación entre los resultados RT-PCR y TAR muestra una pendiente negativa (-0,145) (Figura 10).

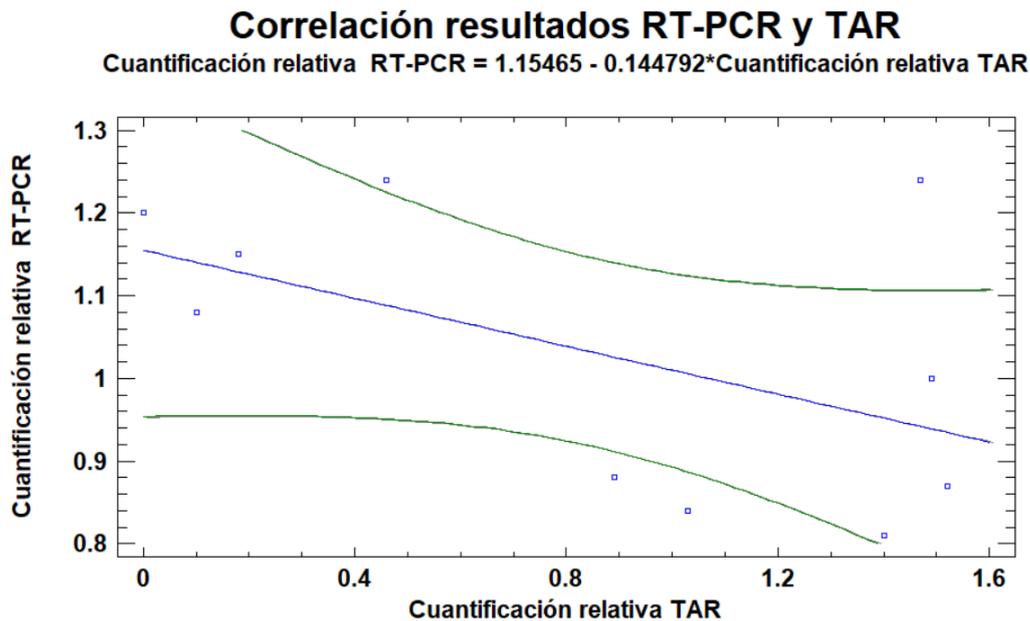


Figura 10: Tratamiento de los datos realizado con la herramienta de análisis de datos Statgraphics Centurion 18 [versión 18.1.13 (64 bits)]

5. Discusión

En el contexto de pandemia actual de COVID-19, las pruebas diagnósticas para el SARS-CoV-2 son cruciales para limitar la propagación del virus y controlar adecuadamente a los pacientes infectados. La mejora global continua de las pruebas de detección del virus es esencial para una identificación más rápida de los individuos afectados a ser posible en el lugar de atención, tanto en los países industrializados como en los entornos con recursos más limitados.

En nuestro estudio se han evaluado y correlacionado los resultados simultáneos de RT-PCR y TAR de 10 pacientes que acudieron a las instalaciones de Eldine Patología. Nuestros resultados demuestran una correlación moderadamente fuerte pero sin llegar a ser estadísticamente significativa, probablemente por el reducido tamaño muestral.

Schoy A. et al. (2020) (18) demostraron una menor especificidad de los TAR durante el periodo inicial de la pandemia respecto a la técnica estándar de RT-PCR. En una cohorte de 148 muestras nasofaríngeas se determinó que 106 (71,62%) fueron positivas para SARS-CoV-2 por RT-PCR, mientras que únicamente 32 muestras fueron positivas en los TAR (21,62%). Respecto a las 74 muestras discordantes (RT-PCR positiva con

TAR negativo), cabe destacar que estas cuentan con una media de Ct de 35, un valor que indica una carga viral relativamente baja. Existe una relación directamente proporcional entre la sensibilidad de esta prueba y la carga viral del paciente. Aquellas muestras con un Ct menor a 25 muestran correlación en cuanto la positividad de ambas pruebas, mientras que las muestras que cuentan con un Ct por encima de 30 muestran discordancia en los resultados de las pruebas diagnósticas (RT-PCR positiva con TAR negativo) indicando una disminución considerable de la sensibilidad del TAR (30,2%). Teniendo en cuenta dichas conclusiones y sabiendo que el Ct medio obtenido en el presente estudio ($25,7 \pm 4,001$) se asocia a cargas virales relativamente elevadas, se explica la buena correlación de resultados con los test de antígeno. La sensibilidad de los dispositivos TAR empleados durante el estudio es del 90%. Estos datos evidencian que actualmente los TAR suponen una buena opción para reemplazar a la técnica RT-PCR en cribados masivos de la población.

Respecto al resultado discordante obtenido (RT-PCR positiva con TAR negativo), cabe mencionar que reflejó un valor de Ct de 30, un valor a partir del cual la prueba de antígeno rápido deja de ser tan sensible, pudiendo dar lugar a un falso negativo (18). Otra de las posibles explicaciones para este caso es la región de toma de muestra, ya que la muestra sometida a RT-PCR se obtuvo de la región orofaríngea por recomendación médica, mientras que la muestra analizada con el TAR se obtuvo de la zona nasofaríngea.

El estudio presentado cuenta con una serie de puntos fuertes a tener en cuenta. Entre ellos, destaca el poder disponer de información simultánea de RT-PCR y TAR del mismo sujeto, lo cual no es habitual en la mayoría de los centros públicos. Así mismo, el reducido tamaño del laboratorio permitió analizar mucho más detalladamente cada uno de los casos de estudio en comparación con otras instalaciones con una carga asistencial más masiva. Sin embargo, una de las principales limitaciones del estudio es el reducido tamaño muestral que no ha permitido obtener resultados estadísticamente significativos. Sería conveniente ampliar el número de sujetos de estudio para constatar los resultados.

6. Conclusión

La correlación en cuanto a la positividad de resultados de las pruebas RT-PCR y TAR destaca el papel de los test de antígeno como una alternativa más económica pero fiable a la técnica RT-PCR. La continua mejora de la sensibilidad de los TAR reduce cada vez más las dudas sobre la fiabilidad de este tipo de pruebas para realizar un diagnóstico correcto de pacientes con COVID-19. Ampliar el corte de estudio sería interesante para constatar los resultados obtenidos y así poder facilitar la lucha contra la propagación del SARS-CoV-2.

7. Agradecimientos

Me gustaría reconocer el excelente trabajo de asesoramiento del Doctor Francisco Algaba Chueca durante la realización de este Trabajo Final de Grado (TFG). Su amplio ámbito de conocimientos ha permitido dotar al estudio de rigurosidad científica y un formato del que estoy agradecido. Del mismo modo agradecer al equipo de Eldine Patología SLP por poner a completa disposición sus instalaciones para la elaboración del presente estudio.

8. Bibliografía

1. Ravi N, Cortade DL, Ng E, Wang SX. Diagnostics for SARS-CoV-2 detection: A comprehensive review of the FDA-EUA COVID-19 testing landscape. *Biosens Bioelectron.* 2020 Oct 1;165:112454.
2. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brüggem MC, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. Vol. 75, *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology.* Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 1564–81.
3. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data [Internet]. [cited 2021 Jun 1]. Available from: <https://covid19.who.int/>
4. Accinelli R, Zhang Xu C, Ju Wang J, Yachachin-Chávez J, Cáceres-Pizarro J, Tafur-Bances K, Flores-Tejada R P-A. COVID-19: la pandemia por el nuevo virus SARS-CoV-2. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2020;37 (2):302–11.
5. Machado BAS, Hodel KVS, Barbosa-Júnior VG, Soares MBP, Badaró R. The Main Molecular and Serological Methods for Diagnosing COVID-19: An Overview Based on the Literature. Vol. 13, *Viruses.* NLM (Medline); 2020. p. 40.
6. Yüce M, Filiztekin E, Gasiä Ozkaya K. COVID-19 diagnosis-A review of current methods. Vol. 172, *Biosensors and Bioelectronics.* 2021. p. 956–5663.
7. Maguiña Vargas C, Gastelo Acosta R, Tequen Bernilla A. The new Coronavirus and Covid-19 pandemic. *Rev Med Hered.* 2020;31:125–31.
8. Vellingiri B, Jayaramayya K, Iyer M, Narayanasamy A, Govindasamy V, Giridharan B, et al. COVID-19: A promising cure for the global panic. Vol. 725, *Science of the Total Environment.* Elsevier B.V.; 2020.
9. Zipeto D, Palmeira J da F, Argañaraz GA, Argañaraz ER. ACE2/ADAM17/TMPRSS2 Interplay May Be the Main Risk Factor for COVID-19. Vol. 11, *Frontiers in Immunology.* Frontiers Media S.A.; 2020. p. 2642.
10. PASTRIAN-SOTO G. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *Int J Odontostomatol.* 2020 Sep;14(3):331–7.

11. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19.' Vol. 80, Journal of Infection. W.B. Saunders Ltd; 2020. p. 607–13.
12. Fara A, Mitrev Z, Rosalia RA, Assas BM. Cytokine storm and COVID-19: a chronicle of pro-inflammatory cytokines: Cytokine storm: The elements of rage! Vol. 10, Open Biology. Royal Society Publishing; 2020.
13. Vázquez MB, Sureda M, Rebollo J. Dendritic cells I: Basic biology and functions. Vol. 31, Inmunologia. Elsevier Doyma; 2012. p. 21–30.
14. Abbas AK. Cellular and molecular immunology - NLM Catalog - NCBI. 1992. 305 p.
15. Zitek T. The appropriate use of testing for Covid-19. Vol. 21, Western Journal of Emergency Medicine. eScholarship; 2020. p. 470–2.
16. Home | Abbott U.S. [Internet]. [cited 2021 May 22]. Available from: <https://www.abbott.com/>
17. Onoda, Mamico, Martínez Chamorro MJ. Pruebas diagnósticas de laboratorio de COVID-19. Asociación Española de Pediatría de atención primaria. 2020;
18. Scohy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. J Clin Virol. 2020 Aug 1;129:104455.

9. Autoevaluación

La realización de este TFG y las conclusiones derivadas del mismo suponen un punto de inflexión respecto a la forma de afrontar la crisis mundial asociada al SARS-CoV-2. La sustitución de las pruebas RT-PCR por los test de antígeno rápido conllevaría un ahorro económico y una mayor rapidez en el diagnóstico de pacientes con COVID-19 con una elevada fiabilidad. De este modo se cumplen las expectativas propuestas al inicio del trabajo, la búsqueda de una correlación de los resultados de las pruebas diagnósticas RT-PCR y TAR con la finalidad de ayudar a controlar la transmisión del virus.

El haber escogido este tema de gran interés en la actualidad, me ha permitido experimentar la situación pandémica vigente mucho más de cerca. Aprender a realizar la obtención de muestras nasofaríngeas a pacientes y analizarlas haciendo uso de pruebas diagnósticas me ha concedido la oportunidad de entender en profundidad los fundamentos de las pruebas RT-PCR y TAR. La manipulación de las muestras en el laboratorio me ha permitido conocer la metodología de trabajo en este tipo de pruebas, desde el adecuado uso del equipo de protección individual (EPI) hasta el protocolo de eliminación de desechos biológicos pasando por el trabajo bajo la cabina de flujo laminar.

Tratar un tema como la COVID-19 del cual se conocen nuevos conceptos diariamente me ha posibilitado conocer la rápida evolución del mundo científico. Me ha sorprendido encontrar nuevos artículos relacionados con la temática publicados cada pocos días durante la elaboración del trabajo, mostrando el gran interés a nivel internacional de encontrar una solución a la situación actual. Por mi parte he intentado informarme sobre cualquier novedad relacionada con el tema para aportar datos actualizados al estudio, cumplir con los plazos de entrega previamente consensuados con el tutor académico y estar dispuesto a realizar cualquier cambio oportuno. Por tanto, puedo decir que estoy contento tanto con el nivel de trabajo que he aportado como con la ayuda obtenida por parte de mi tutor académico.

Anexos

*Normativa de Treball Fi de Grau Facultat d'Enologia
Aprovada per Junta de Facultat d'Enologia del dia 30 d'octubre de 2014*

ANNEX 2

FITXA DE SEGUIMENT DEL TUTOR/A del TFG

Nom i Cognoms de l'Alumne/a: Pablo García Castillo

Nom i Cognoms del Tutor/a: Francisco Algaba Chueca

Data de la entrevista amb l'alumne: 18 maig 2021

Recomanacions durant el seguiment: Pablo se encuentra terminando de estructurar y completar cada uno de los apartados del Trabajo, así como analizando resultados y revisando la bibliografía disponible para la discusión.

Observacions: Su desarrollo es perfectamente adecuado y está cumpliendo con los plazos establecidos de Trabajo.

Observacions Darrera revisió: Todo correcto

Signatura del Tutor/a

Signatura del Alumne/a

Tarragona a 18 de maig 2021