

Primeras aportaciones de diagnóstico de laboratorio frente al COVID-19 en el Hospital Central de la Defensa “Gómez Ulla”

Simón-Sacristán M.¹, Ybarra-Villavicencio C.², Collazos-Blanco A.³, Zamora-Cintas M.I.⁴, De-Ribera-Pieras P.⁵, Mateo-Maestre M.⁶

Sanid. mil. 2022; 78 (1): 22-27, ISSN: 1887-8571

RESUMEN

Antecedentes y objetivos: La enfermedad por coronavirus-19 se ha extendido por todo el mundo notificándose hasta la fecha 3.446.072 casos en nuestro país. Esto ha supuesto un reto en el Sistema Sanitario Español. El objetivo del estudio es describir las adaptaciones, los parámetros analíticos y microbiológicos de pacientes diagnosticados clínicamente de infección por SARS-CoV-2 en las primeras semanas de la pandemia.

Material y métodos: Estudio retrospectivo observacional, se incluyeron 180 pacientes atendidos por el servicio de Urgencias de nuestro hospital entre el 9 de marzo y el 24 de abril de 2020, clínicamente diagnosticados de COVID19. Se analizaron datos demográficos, analíticos y microbiológicos de ellos.

Resultados: La edad media de los pacientes fue 64 años y el 60,6% eran hombres. El 86,1% tuvo RT-PCR positiva, el 3,9% negativa y en el 10% un resultado no concluyente. Se detectaron anticuerpos IgG en el 84,4% y anticuerpos IgM en el 85,6%. El 26,0% de nuestros pacientes presentó linfopenia y el 13,6% trombocitopenia. El 67,4% y el 77,3% tenían respectivamente niveles de dímero D y fibrinógeno por encima del rango normal. Se notificaron niveles séricos elevados de ALT (45,0%), AST (30,5%), LDH (71,9%), proteína C reactiva (74,5%) y procalcitonina (11,9%). Se encontraron altas concentraciones de ferritina en el 75,2%.

Conclusiones: Las alteraciones observadas en los parámetros analíticos son las más comunes en casos de COVID19. La elevación de estos se han considerado marcadores pronósticos de gravedad y mortalidad.

PALABRAS CLAVE: SARS-CoV2, diagnóstico, Laboratorios Clínicos.

First contributions of laboratory diagnosis against Covid-19 at Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla

SUMMARY:

Antecedents and objectives: The coronavirus disease 2019 (COVID-19) has spread worldwide to be reported to date 3.446.072 cases in Spain which causes a very challenging situation for the Spanish Health Care System.

This study aims to describe the adjustments, analytical and microbiological parameters of patients clinically diagnosed with SARS-CoV-2 infection in the first weeks of the pandemic.

Material and methods: A retrospective observational study. 180 patients have been included in the study since they were treated by our emergency unit for a period beginning on March 9 ending on April 24, 2020. They were clinically diagnosed with COVID-19. The study provides analysis on their demographic, analytical and microbiological data.

Results: The average patient was 64 years old and 60.6 % were men. 86.1 % obtained a positive RT-PCR, 3.9 % a negative one. The 10 % left provided an inconclusive result. IgG antibodies were detected in 84.4 % and IgM antibodies in 85.6 %. 26.0 % of our patients suffered from lymphopenia and 13.6 % thrombocytopenia. 67.4 % and 77.3 % had respectively D-dimer and fibrinogen levels above the normal range. High serum levels of ALT (45.0 %), AST (30.5 %), LDH (71.9 %), C-reactive protein (74.5 %), and procalcitonin (11.9 %) were reported. High ferritin concentrations were found in 75.2 %.

Conclusions: The alterations observed in the analytical parameters are the most common in cases of COVID-19. These high level rates have been considered prognostic markers of severity and mortality.

KEY WORDS: SARS-CoV2, diagnosis, Clinical Laboratories.

¹ Cap. Farmacéutico. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Servicio de Microbiología. Madrid. España.

² Cor. Médico. DISAN EA. Madrid. España.

³ Farmacéutico especialista. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Servicio de Microbiología. Madrid. España.

⁴ Farmacéutico especialista. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Servicio de Microbiología. Madrid. España.

⁵ Tcol. Farmacéutico. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Servicio de Análisis Clínicos. Madrid. España.

⁶ Tcol. Médico. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Servicio de Microbiología. Madrid. España.

Dirección para correspondencia: María Simón Sacristán. Servicio de Microbiología. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla; Glorieta del ejército s/n. 28047 Madrid. España. Tlf: 914222044. msimsac@oc.mde.es

Recibido: 27 de abril de 2021

Aceptado: 19 de enero de 2022

doi: 10.4321/S1887-85712022000100004

INTRODUCCIÓN

El 31 de Diciembre de 2019, la Comisión Municipal de Salud y Sanidad de Wuhan (provincia de Hubei, China) informó a la Organización Mundial de la Salud sobre un grupo de casos de neumonía de etiología desconocida. El agente causante de esta neumonía fue identificado días después como un nuevo virus de la familia *Coronaviridae* que posteriormente se ha denominado SARS-CoV-2¹. Desde este momento este virus se ha ido extendiendo al resto de países y el 11 de Marzo de 2020 fue proclamada por la OMS la situación de pandemia a nivel mundial.

Hasta la fecha se han notificado 141.754.944 casos a nivel mundial².

España es uno de los países europeos más afectados con 3.446.072 casos confirmados y 77.364 fallecidos hasta el 21 de abril de 2021².

El cuadro clínico asociado a la infección por este virus se ha denominado COVID-19. Los síntomas más comunes incluyen fiebre, tos, astenia, disnea y escalofríos^{3,4}, entre otros. En los casos más graves, se desarrolla un cuadro de neumonía con evolución a compromiso de otros órganos, y tormenta de citoquinas, que ponen en compromiso la vida de los pacientes.

La detección de parámetros analíticos y microbiológicos ha sido fundamental para el diagnóstico de la enfermedad, la evaluación del pronóstico, así como el seguimiento y control de los pacientes con sospecha de COVID-19 del modo más preciso posible.

Además de lo anterior, el diagnóstico microbiológico ha sido un punto clave para la confirmación de los nuevos casos. Las técnicas moleculares RT-PCR (*Reverse transcription polymerase chain reaction*) han sido las más empleadas, considerándose "gold standard" en el diagnóstico microbiológico⁵.

La sensibilidad de la RT-PCR es manifiestamente mayor que otros métodos evaluados basados en la detección de antígenos^{6,7}, con la detección de mínima cantidad del ARN del virus presente en las muestras respiratorias del paciente.

En algunas ocasiones se han observado falsos negativos en la RT-PCR en pacientes con un cuadro clínico y radiológico de neumonía, compatible con COVID19. Para completar el diagnóstico microbiológico, a lo largo de la pandemia se han ido desarrollando diversos estudios que evalúan el uso de inmunoensayos de flujo lateral para la detección de anticuerpos con el fin de ayudar en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 y de conocer el estado de seroprevalencia de la población^{8,9}. Distintos métodos serológicos basados en técnicas ELISA o quimioluminiscencia¹⁰, han sido también evaluados mostrando más sensibilidad y especificidad que los inmunoensayos de flujo lateral^{11,12}. La combinación de RT-PCR y técnicas serológicas ayudan a aumentar la sensibilidad del diagnóstico microbiológico del SARS-CoV2^{13,14}.

Asimismo, la adición de parámetros analíticos a la clínica de los pacientes resultó un dato de gran interés para solventar resultados dudosos derivados de las técnicas antes mencionadas, creando una sinergia para el incremento de la sensibilidad diagnóstica.

El objetivo del estudio es describir las adaptaciones, los parámetros analíticos y microbiológicos encontrados en pacientes

diagnosticados clínicamente de infección por SARS-CoV-2 en las primeras semanas de la pandemia.

El Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla (HCDGU), como hospital perteneciente a la red hospitalaria de la Comunidad Autónoma de Madrid (CAM), quedó integrado entre los hospitales sin capacidad de diagnóstico microbiológico inicialmente, y por tanto con la necesidad de derivar las muestras respiratorias de los pacientes atendidos a uno de los cuatro hospitales de referencia: Hospital Gregorio Marañón, Hospital La Paz, Hospital Ramón y Cajal y Hospital Doce de Octubre.

Pronto se observó que debido a las necesidades operativas del HCDGU como ROLE 4 (máximo exponente de la Sanidad Militar) era necesario evitar esta dependencia de un hospital civil, ya saturado por la situación crítica de toda la CAM, y por la previsible necesidad de dar cobertura diagnóstica al personal militar procedente de distintas unidades ubicadas en cualquier punto del territorio español o de zona de operaciones, como posteriormente ha sucedido.

El 9 de Marzo de 2020 se obtuvo la capacidad de diagnóstico microbiológico del COVID-19.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Adaptaciones logísticas

Disponer de capacidad diagnóstica microbiológica de COVID 19 supuso la introducción de reactivos y de los equipos necesarios para llevar a cabo la determinación (extractores de ác. nucleicos y termocicladores), haciendo necesaria una ampliación de las áreas de trabajo (separación física de la zona de inactivación, áreas de extracción y amplificación), el aumento de la jornada laboral del personal así como la comisión de personal militar de otras Unidades a principios de abril de 2020. De la misma manera, durante la última semana de marzo se pusieron a disposición de los clínicos parámetros bioquímicos de interés (ferritina e IL-6) en el laboratorio de Urgencias de Análisis Clínicos para apoyar una toma de decisiones más adecuada a nivel asistencial. Para el aumento de estas capacidades no fue necesaria ninguna adaptación en las instalaciones o en el personal.

Diseño del estudio y participantes

Se ha realizado un estudio retrospectivo observacional en el que se incluyeron 180 pacientes mayores de 18 años atendidos por el servicio de Urgencias de nuestro hospital entre el 9 de marzo y el 24 de abril de 2020, con un diagnóstico clínico presuntivo de COVID-19. Estos criterios clínicos comprendían la presencia de alguno de los siguientes síntomas respiratorios: dolor de garganta, congestión, tos, disnea, disminución o pérdida del gusto y / u olfato, síntomas digestivos (diarrea), así como la presencia de infiltrados intersticiales uni/bilaterales en la radiografía de tórax¹⁵.

En todos los pacientes (n = 180) se realizó una RT-PCR a partir de muestra tomada con hisopo nasofaríngeo.

En el mismo día del diagnóstico de infección por COVID-19 a estos pacientes se les realizó una analítica con los principales

parámetros bioquímicos y hematológicos: linfocitos, recuento de plaquetas, fibrinógeno, ferritina, dímero D, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), lactato deshidrogenasa (LDH), Proteína C reactiva, interleuquina-6 (IL-6) y procalcitonina. Estas determinaciones fueron realizadas por el Servicio de Análisis Clínicos de HCDGU, para valorar el criterio de gravedad del paciente y también como apoyo al diagnóstico clínico de COVID-19, a veces de sospecha, si el resultado de la RT-PCR no había sido concluyente o resultaba negativo.

De entre la gran variedad de parámetros bioquímicos, hematológicos y de coagulación que han sido propuestos como predictores de la gravedad de Covid-19, se incluyeron los que pudieran ser útiles, en la elaboración del informe urgente de laboratorio, para predecir la gravedad de la enfermedad y anticiparse al empeoramiento clínico. Para ello se incluyen parámetros hasta entonces realizados en rutina, como la ferritina (26/03/20) e IL-6 (27/03/20), en el laboratorio de Urgencias del Servicio de Análisis Clínicos.

Con los sueros almacenados de dichos pacientes correspondientes a su periodo de convalecencia (entre 10-25 días desde el inicio de los síntomas) se llevó a cabo un ensayo inmunológico (quimioluminiscencia) para detección de IgG e IgM frente al SARS-CoV2 cuando se dispuso de dicho ensayo, en el mes de mayo. Todas estas determinaciones fueron realizadas en el Servicio de Microbiología del HCDGU.

Procedimientos microbiológicos (técnicas microbiológicas empleadas):

RT-PCR:

Para el diagnóstico molecular de la infección por SARS-CoV2, se utilizaron tres tipos de extractores automáticos para la obtención del ARN viral a partir de muestras respiratorias: MagCore HF16 (RBC bioscience, Taipei, Taiwán), Nimbus Microlab Seegene (Hamilton Company, Bonaduz, Suiza) y sistema m2000 (Abbott Molecular Inc. Des Plaines, IL).

Para la amplificación del ARN se utilizaron dos plataformas de RT-PCR en tiempo real para la detección cualitativa de distintos genes del SARS-CoV-2: qCOVID-19 (Genómica, Madrid, España) que detecta el gen *N* y el gen *ORF1ab*; y el kit Allplex 2019-nCoV (Seegene, Seúl, Corea del Sur), que detecta tres genes: el gen *E*, el gen *RdRP* y el gen *N*.

Como sistema de detección se empleó el CFX96™ (Bio-Rad) Real-Time, en el que se integraron las plataformas de RT-PCR ya mencionadas.

Se consideró resultado negativo cuando no se detectaba ninguno de los genes; resultado no concluyente cuando solo se detectaba uno de los genes (gen *N* o el gen *ORF1ab*) utilizando el kit qCOVID-19 (Genómica, Madrid, España), o se detectaba solo el gen *E* usando el kit Allplex 2019-nCoV (Seegene, Seúl, Corea del Sur).

El resultado positivo correspondía a la detección de los dos genes (gen *N* y el gen *ORF1ab*) con el kit qCOVID-19 o a los tres genes simultáneamente (gen *E*, el gen *RdRP* y el gen *N*), o dos de ellos (gen *RdRP* y el gen *N*) o uno solo siempre que no fuese el gen *E*, utilizando el kit Allplex 2019-nCoV (Seegene, Seúl, Corea del Sur).

Ambos kits se utilizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante, tanto para el manejo como para la interpretación de los resultados.

Immunoensayo de quimioluminiscencia SARS-CoV-2 IgGIgM (Abbott Laboratories Inc. Illinois, EE.UU.):

Los ensayos SARS-CoV-2 IgG y SARS-CoV-2 IgM son inmunoanálisis quimioluminiscentes de micropartículas (CMIA) para la detección cualitativa de anticuerpos IgG o IgM frente al virus del SARS-CoV-2.

El ensayo SARS-CoV-2 IgM se ha diseñado para detectar anticuerpos IgM frente a la proteína de la espícula del virus, mientras que el kit SARS-CoV-2 IgG detecta anticuerpos IgG frente a la proteína de la nucleocápside. Se precisa un mínimo de 100 µl de muestra (suero o plasma) para realizar la determinación.

Ambas pruebas están automatizadas y se realizan en el equipo ARCHITECT i System (Abbott Laboratories Inc. Illinois, EE.UU).

La reacción quimioluminiscente resultante se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación proporcional entre la presencia de anticuerpos IgG o IgM frente al virus SARS-CoV-2 en la muestra y las URL detectadas por el sistema óptico. Esta relación se refleja en el Index (S/C) calculado, un índice muestra/punto de corte. La presencia o la ausencia de anticuerpos IgG o IgM frente al virus SARS-CoV-2 en la muestra se determina comparando las URL quimioluminiscentes presentes en la reacción con las URL del calibrador.

Procedimientos analíticos:

La detección de parámetros hematológicos y bioquímicos se llevó a cabo en el laboratorio de Urgencias del Servicio de Análisis Clínicos. Para su determinación se utilizaron los analizadores de electroquimioluminiscencia (ECLIA) Cobas 6000 (Roche diagnostics. F. Hoffmann-La Roche Ltd.).

Análisis estadístico:

El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico STATA / IC versión 13.1 (StataCorp, Texas, EE. UU.). Las variables cuantitativas continuas se expresan como media y desviación estándar (DS), mientras que las variables categóricas se expresan en forma de porcentajes y de valores absolutos. Las variables categóricas se compararon usando el test exacto de Fisher. Se consideraron como significativas las diferencias con una $p < 0,05$.

RESULTADOS:

En este estudio se incluyeron 180 pacientes clínicamente diagnosticados de COVID-19. La edad media de los pacientes fue 64 años (DS: 18,52) y el 60,6% eran hombres.

Resultados microbiológicos:

Un total de 155 pacientes tuvieron RT-PCR positiva (86,1%), 7 tuvieron un resultado no detectable, considerado como negativo (3,9%) y en 18 pacientes su resultado fue no concluyente (10,0%). (Tabla 1)

Tabla 1. Parámetros microbiológicos (N=180)

	No (%)	IC 95%
Resultados RT-PCR		
Positivo	155 (86,1)	80,2-90,5
Negativo	7 (3,9)	1,9-8,0
No concluyente	18 (10,0)	6,4-15,4
Resultados quimioluminiscencia		
IgG positiva	152 (84,4)	78,3-89,1
IgM positiva	154 (85,8)	79,6-90,0
IgG o IgM positiva	159 (88,3)	82,7-92,3

En el total de los pacientes (n=180), se detectaron anticuerpos tipo IgG en 152 (84,4%) y anticuerpos IgM en 154 (85,6%) de ellos. En un 88,3% (159/180) de pacientes se detectaron anticuerpos IgG o IgM (Tabla 1).

En los pacientes microbiológicamente confirmados de COVID 19 (RT-PCR positiva) el 81,9% (127/155) de ellos desarrollaron anticuerpos IgG y en el 84,5% (131/155) se detectaron anticuerpos IgM.

Si seleccionamos al grupo de pacientes de nuestra serie cuyo suero se analizó 7-10 días después del inicio de los síntomas (n=22), un 72,7% de ellos (16/22) presentaban anticuerpos IgM. Si seleccionamos a los pacientes cuyo suero se analizó con 14-21 días desde el inicio de los síntomas, presentan IgG en un 95,0% (57/60).

De aquellos pacientes cuyo resultado de PCR fue negativa o no concluyente (n=25) se detectaron anticuerpos IgG en el 100% de los pacientes (25/25) y anticuerpos IgM en el 92,0%(23/25).

Resultados analíticos:

Los parámetros analíticos iniciales se recogen en la tabla 2, en donde se definen los puntos de corte establecidos como aceptables o dentro de la normalidad.

Tabla 2. Parámetros hematológicos y bioquímicos

MARCADOR-[Rango de referencia]	N (%)	IC 95%
Linfopenia [$<1,0010^3/\mu\text{L}$]	46 (26,0)	20,0-33,0
Trombocitopenia [$<150,00 \times 10^3/\mu\text{L}$]	24 (13,6)	9,2-19,5
Dímero D elevado [$>500,00\text{ng/mL}$]	91 (67,4)	59,0-74,9
Fibrinógeno elevado [$>450,00\text{mg/dL}$]	119 (77,3)	69,9-83,3
PCR-reactiva elevado [$>0,50\text{mg/dL}$]	123 (74,5)	67,3-80,7
Procalcitonina elevada [$>0,50\text{ng/mL}$]	15 (11,9)	7,3-18,9
Ferritina elevada [$>400,00\text{ng/mL}$ (Hombre) y >150 (Mujer)]	82 (75,2)	72,1-93,9
AST elevado [>40 U/l (Hombre) y >32 U/l (Mujer)]	51 (30,5)	21,9-44,9
ALT elevado [>41 U/l (Hombre) y >33 U/l (Mujer)]	76 (45,0)	35,2-49,6
LDH elevado [>225 U/l (Hombre) y >214 U/l (Mujer)]	120 (71,9)	61,0-82,6

Las anomalías en los parámetros analíticos más comunes se observan en los recuentos sanguíneos tales como linfopenia (26,0%) y trombocitopenia (13,6%).

El 67,4% y el 77,3% de los pacientes tenía respectivamente niveles de dímero D y fibrinógeno por encima del rango considerado normal. Se notificaron niveles séricos elevados de ALT (45,0%), AST (30,5%), LDH (71,9%), proteína C reactiva (74,5%) y procalcitonina (11,9%).

Se encontraron altas concentraciones de ferritina en el 75,2 %.

En el periodo de tiempo en el que se basa el estudio, la IL-6 se determinó en un número limitado de pacientes (n=50) con concentraciones elevadas en el 78,0% de ellos (39/50).

Cuando analizamos los datos por grupos de edad (grupo 1: <60 años; grupo 2: 60-80 años; grupo3:>80años) se observaron diferencias estadísticamente significativas en los siguientes parámetros analíticos: linfopenia (16,5%; 33,3%; 36,6% respectivamente, $p = 0,012$), trombocitopenia (7,1%; 15,7%; 24,4% respectivamente, $p = 0,014$) y dímero D elevado (50,8%; 83,8%; 84,4 respectivamente, $p = 0,001$).

DISCUSIÓN

El HCDGU, como el resto de hospitales de nuestro país ha sufrido las graves consecuencias de la pandemia. Esto ha provocado la mayor adaptación logístico-sanitaria, como nunca antes se había vivido en la historia del ROLE 4 español.

Desde el inicio de la pandemia el diagnóstico de laboratorio ha estado en continuo movimiento, sufriendo una evolución cambiante a lo largo de los meses, adaptando las técnicas ya disponibles e introduciendo otras nuevas en función de las necesidades y de la evolución de la crisis sanitaria a la que nos enfrentábamos.

Nuestra cohorte describe las características demográficas y algunos resultados de laboratorio de 180 pacientes con COVID-19 atendidos en nuestro hospital en las primeras semanas de la pandemia.

Respecto al género de los pacientes, al igual que en otros estudios publicados anteriormente^{16, 17} hay un mayor predominio de hombres sobre mujeres; sin embargo la edad en nuestro estudio es relativamente mayor que los incluidos en las primeras series publicadas en China^{17, 18} y semejante a la edad media de los pacientes en España¹⁶. La detección de ARN de SARS-CoV-2 en más del 86% de los pacientes de nuestro estudio posicionó a la técnica molecular (RT-PCR) como la principal herramienta diagnóstica microbiológica, pero se objetivó la necesidad de introducir nuevas técnicas para complementar dicho diagnóstico, como las técnicas serológicas.

La RT-PCR es más sensible y específica que otros métodos basados en detección de antígenos⁶. Sin embargo la interpretación del resultado se debe hacer con prudencia dentro del contexto clínico, sobre todo cuando ésta es negativa o se obtiene un resultado no concluyente como ocurre en nuestra serie, donde en un porcentaje de nuestros pacientes no se pudo detectar la presencia de virus en el exudado nasofaríngeo. Estos resultados fueron considerados como falsos negativos, puesto que eran pacientes con una clínica compatible con infección por SARS-CoV-2. Este error diagnóstico puede deberse a una toma inadecuada de la

muestra (frotis nasofaríngeo), o a que la muestra no fuera la adecuada para el cuadro clínico del paciente, como puede darse en pacientes con diagnóstico de neumonía (infección respiratoria de vías inferiores) en los que la muestra más indicada es el lavado broncoalveolar o el broncoaspirado, y en los que la probabilidad de detección del agente causal es mayor.

Otra circunstancia que lleva a la aparición de falsos negativos es un retraso en el transporte de la muestra o una mala conservación de la misma que facilita la degradación del ARN, dificultando su detección. Por último existe la posibilidad de una escasa eliminación de virus por el paciente en función del estadio del proceso o de la gravedad del mismo.

Deben tenerse en cuenta asimismo los errores analíticos derivados de todo procedimiento de laboratorio ya sea bajo un procesado automático, con menor posibilidad de variabilidad debida al operador, o manual.

Hasta el mes de mayo no dispusimos del inmunoensayo de quimioluminiscencia, para detección de anticuerpos IgG frente a SARS-CoV-2 por lo que la confirmación microbiológica del diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 de los 25 pacientes con PCR negativa o no concluyente se pudo hacer a posteriori. La capacidad diagnóstica para la detección de la IgM con una sensibilidad superior al 80% no se consiguió hasta el mes de julio de 2020, lo cual era fundamental para un diagnóstico precoz, por lo que tampoco se pudo utilizar esta determinación para nuestra población a estudio en ese periodo de tiempo, sino a posteriori.

La elección de la técnica serológica se fundamentó en los resultados obtenidos en un estudio basado en la comparación de distintas técnicas serológicas rápidas disponibles en el mercado en ese momento, en el que concluimos que las técnicas de quimioluminiscencia eran más sensibles y específicas que las comercializadas en aquel momento. Los resultados de dicho estudio han sido publicados recientemente¹⁹.

En nuestra serie se observa que no en todos los pacientes aparecen los anticuerpos IgM precozmente (un 72,7% entre los 7-10 días después del inicio de los síntomas) aunque su presencia puede contribuir sin duda al diagnóstico microbiológico, especialmente en ausencia de confirmación molecular (PCR negativa) y sospecha clínica. La mayoría de los estudios sugieren que es conveniente realizar las pruebas serológicas entre 14 y 21 días desde el inicio de los síntomas con el fin de evitar falsos negativos²⁰. Este intervalo de tiempo concuerda con nuestros hallazgos, dado que en dicho periodo los anticuerpos IgG estaban presentes en el 95,0% de nuestra serie.

Las alteraciones que hemos observado en los parámetros analíticos son las más comunes en las diferentes series publicadas en casos de COVID-19 y sugieren peor evolución clínica del paciente^{1,21}. El patrón alterado de los parámetros de coagulación está asociado a fenómenos trombóticos y daño tisular^{22,23}, lo que explica el alto porcentaje de pacientes con dímero D, fibrinógeno y ferritina mayores que en población general y en menor medida la linfopenia y la trombocitopenia.

La proteína C reactiva estaba elevada en un número significativo de nuestros pacientes. Este parámetro también se ha relacionado con casos graves de la enfermedad^{1,24} y a pesar de su inespecificidad, podría sugerir, junto con los valores de procal-

citonina, que los cuadros neumónicos vengan acompañados de una infección bacteriana. Su utilidad, al igual que la de la ferritina, pasaría por la monitorización de la infección y la respuesta inflamatoria, donde se encuadra la fase de la cascada de citoquinas descrita en la introducción.

Los valores de alanina transaminasa (ALT), aspartato transaminasa (AST) y lactato deshidrogenasa (LDH) elevados podrían explicar que la enfermedad por coronavirus sea un factor de riesgo de afectación hepática y renal, aunque dada la inespecificidad de dichos parámetros, su elevación pueda explicarse por la ubicuidad del receptor de la enzima convertidora de angiotensina en los distintos tejidos, como puerta de entrada del virus.

Cuando agrupamos a nuestros pacientes en grupos de edad observamos que el grupo de mayor edad (>80 años) presentaba niveles más elevados en todos los parámetros analíticos lo cual se relaciona con peor pronóstico del paciente²⁴, con diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos en el caso de linfopenia, trombocitopenia y dímero D.

Un D-dímero (>500,00ng/mL) podría ayudar a los facultativos clínicos a identificar a aquellos pacientes con peor pronóstico en una fase precoz ya que su elevación está ligada a la activación de la coagulación y/o coagulación diseminada.

En las primeras muestras analíticas no estaban aún definidos los parámetros que debían identificarse en este tipo de enfermos, por lo que estos datos no constan en todos los pacientes de esta serie.

Sabemos que este estudio tiene algunas limitaciones. En primer lugar el propio diseño de estudio, ya que el enfoque retrospectivo observacional no implica necesariamente relaciones de causalidad. En segundo lugar, el número de pacientes incluidos en el estudio es reducido. También, la imposibilidad de hacer determinaciones analíticas como la IL-6 así como de otros parámetros a todos los pacientes incluidos en el estudio y, por último, los sueros para la determinación serológica fueron obtenidos y realizados ya a posteriori, puesto que no se disponía de la técnica desde el inicio de la pandemia.

Debido a esto no ha sido posible analizar a aquellos pacientes con evolución fatal y resultado de muerte en los primeros días de su ingreso, ni tampoco a algunos pacientes que fueron derivados a otros hospitales o a hoteles medicalizados. Además, no podemos calcular con exactitud el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta el desarrollo de dichos anticuerpos, dado que no se hizo una determinación de anticuerpos seriada.

Como hemos expuesto, existen diferentes parámetros analíticos que se han visto relacionados con COVID-19 a lo largo de los meses de pandemia, especialmente útiles como marcadores pronósticos, de gravedad del paciente o incluso como marcadores para toma de decisiones epidemiológicas; estos parámetros se han ido conociendo y se han ido incorporando según ha evolucionado la pandemia. Su conocimiento desde el inicio hubiera sido de gran utilidad para el manejo de estos pacientes en el primer pico de esta. La combinación inicial de distintas técnicas microbiológicas podría haber contribuido a la detección precoz de un mayor número de pacientes infectados por COVID-19 así como la monitorización de la evolución de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA:

- Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, Liu L, Shan H, Lei CL, Hui DSC *et al*: Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020, 382(18):1708-1720.
- <Actualizacion_358_COVID-19.pdf>.
- Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, Qiu Y, Wang J, Liu Y, Wei Y *et al*: Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020, 395(10223):507-513.
- <who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>.
- Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, Bleicker T, Brunink S, Schneider J, Schmidt ML *et al*: Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020, 25(3).
- <seimc-rc-2020 Posicionamiento _SEIMC_diagnostico_microbiologico_COVID19 .pdf>.
- Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, Sun R, Wang Y, Hu B, Chen W *et al*: Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol* 2020.
- Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang, Yang F, Dela Cruz CS, Wang Y, Wu C, Xiao Y *et al*: Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis* 2020.
- Montesinos I, Gruson D, Kabamba B, Dahma H, Van den Wijngaert S, Reza S, Carbone V, Vandenberg O, Gulbis B, Wolff F *et al*: Evaluation of two automated and three rapid lateral flow immunoassays for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies. *J Clin Virol* 2020, 128:104413.
- Infantino M, Grossi V, Lari B, Bambi R, Perri A, Manneschi M, Terenzi G, Liotti I, Ciotta G, Taddei C *et al*: Diagnostic accuracy of an automated chemiluminescent immunoassay for anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies: an Italian experience. *J Med Virol* 2020.
- Bryan A, Pepper G, Wener MH, Fink SL, Morishima C, Chaudhary A, Jerome KR, Mathias PC, Greninger AL: Performance Characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and Seroprevalence in Boise, Idaho. *J Clin Microbiol* 2020.
- Jaaskelainen AJ, Kekalainen E, Kallio-Kokko H, Mannonen L, Kortela E, Vapalahti O, Kurkela S, Lappalainen M: Evaluation of commercial and automated SARS-CoV-2 IgG and IgA ELISAs using coronavirus disease (COVID-19) patient samples. *Euro Surveill* 2020, 25(18).
- Pan Y, Li X, Yang G, Fan J, Tang Y, Zhao J, Long X, Guo S, Zhao Z, Liu Y *et al*: Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J Infect* 2020.
- Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B, Wang YY, Xiao GF, Yan B, Shi ZL *et al*: Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect* 2020, 9(1):386-389.
- Jin YH, Cai L, Cheng ZS, Cheng H, Deng T, Fan YP, Fang C, Huang D, Huang LQ, Huang Q *et al*: A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Mil Med Res* 2020, 7(1):4.
- Berenguer J, Ryan P, Rodriguez-Bano J, Jarrin I, Carratala J, Pachon J, Yllescas M, Arriba JR, Group CO-SS, Fundacion S-G *et al*: Characteristics and predictors of death among 4035 consecutively hospitalized patients with COVID-19 in Spain. *Clin Microbiol Infect* 2020, 26(11):1525-1536.
- Clinical features and laboratory inspection of novel coronavirus pneumonia (COVID-19) in Xiangyang, Hubei .Cao W, Shi L, Chen L, Xu X, Wu Z: 2020.
- Incidence, clinical characteristics and prognostic factor of patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis .Ma C, Gu J, Hou P, Zhang L, Bai Y, Guo Z, Wu H, Zhang B, Li P, Zhao X: 2020.
- Sacristan MS, Collazos-Blanco A, Cintas MIZ, Garcia AS, de Villavicencio CY, Maestre MM: Comparison of various serological assays for novel SARS-CoV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020.
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, Wang X, Yuan J, Li T, Li J *et al*: Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020.
- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X *et al*: Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020, 395(10223):497-506.
- Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Cattaneo M, Levi M, Clark C, Iba T: ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020, 18(5):1023-1026.
- Yin S, Huang M, Li D, Tang N: Difference of coagulation features between severe pneumonia induced by SARS-CoV2 and non-SARS-CoV2. *J Thromb Thrombolysis* 2020.
- Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, Huang H, Zhang L, Zhou X, Du C *et al*: Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020, 180(7):934-943.