

## EL QUÉ, CÓMO Y CUÁNDO DE LOS TEST DE DETECCIÓN DE COVID-19

FAYNA MARÍA GARCÍA MARTÍN<sup>1</sup>

### RESUMEN

Durante estos últimos meses hemos vivido una pandemia global con dimensiones que no nos podríamos haber imaginado unos años atrás. Hemos aprendido nuevos vocablos, nuevas técnicas científicas, interpretar datos epidemiológicos y sobre todo a valorar más el papel fundamental de la ciencia. Una de las claves principales en esta pandemia han sido los test de detección con la finalidad de saber si una persona está infectada y hacer el rastreo. En este artículo, se hace una descripción de los test principales incluyendo información acerca de la información que proporciona, la ventana de detección y los pros y contras. Estas técnicas no sólo se pueden usar para esta enfermedad, sino también para otros muchos casos y tienen diversas aplicaciones. Este artículo tiene la intención de arrojar luz sobre el qué, cómo y cuándo de los test de detección de enfermedades infecciosas para así entender mejor estas técnicas bioquímicas.

*Palabras clave:* Test de detección, PCR, test de antígeno, test serológico, ventana de detección.

*In recent months we have experienced a global pandemic of dimensions that we could not have imagined a few years ago. We have learned new terms, new scientific techniques, how to interpret epidemiological data and, above all, how to appreciate the fundamental role of science. One of the main keys in this pandemic has been detection tests to find out if a person is infected and to be able to trace cases. In this article, a description of the main tests is given, including information on what information they provide, the window of detection and the pros and cons. These techniques can be used not only for this disease, but also for many other cases and for various applications. This article is intended to shed light on the what, how and when of infectious disease screening tests in order to better understand these biochemical techniques.*

*Keywords:* Detection test, PCR, antigen test, serological test, detection window.

---

1. Departamento de Química. Universidad de La Rioja.

\* Autora de correspondencia: fayna.garcia@unirioja.es

La historia de la humanidad ha sufrido numerosas pandemias. Una de las últimas, y más conocida es la mal llamada gripe española, acontecida hace algo más de un siglo (Martini *et al.*, 2019). Desde entonces, han surgido otras enfermedades infecciosas, como pueda ser la infección por el virus del Ébola. Casi todos estos brotes han surgido de manera local o focalizada y los contagios se han conseguido aislar y controlar. Esto ha sido así hasta hoy. En el año 2020 la humanidad y casi cada territorio del planeta ha sido afectado por el virus SARS-CoV-2, responsable de la enfermedad COVID-19 (Organización Mundial de la Salud, 2021).

Uno de los puntos fuertes de este virus es precisamente que no es tan fuerte, y apenas afecta a muchos de los contagiados. Esto hace que las personas infectadas asintomáticas sigan haciendo “vida normal” y puedan transferir de manera silenciosa la enfermedad. Así es como este virus silencioso se transmite hasta que infecta a personas más vulnerables. Este ataque pernicioso puede dejar graves secuelas e incluso hacerse mortal, en los peores y más tristes casos.

Y muchos nos preguntamos ¿Nos creíamos mucho más listos y preparados que hace 100 años? Pero finalmente las medidas preventivas son las mismas de entonces: “Higiene y aislamiento social”.

Pues sí, así es hasta la llegada de la vacuna a gran parte de la sociedad, así como de remedios más efectivos para combatir la enfermedad. Pero hay una salvedad, una tecnología con la que hoy podemos contar y antes no, consistente en el rastreo gracias a las técnicas bioquímicas.

A estas alturas, como todos sabemos, ante un caso positivo, se hace un rastreo de contactos a todos los casos positivos para hacer un cortafuegos.

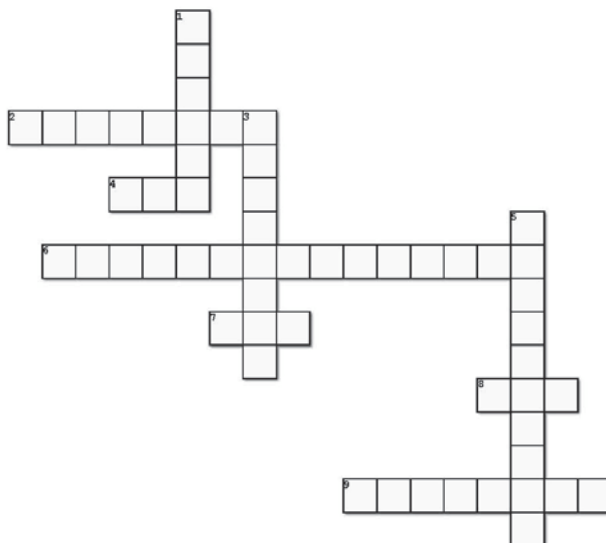
Actualmente, casi todos no sólo hablamos de estadísticas con naturalidad, sino que también hemos incluido en nuestro vocabulario varios tecnicismos así como acepciones nuevas. En esa sopa de letras que son las PCR (*polymerase chain reaction*, Reacción en cadena de polimerasa), IgG (Inmunoglobulina tipo G), IgM (Inmunoglobulina tipo M), antígenos, vacunas de RNA o ARN (*ribonucleic acid*, ácido ribonucleico), DNA o ADN (*deoxyribonucleic acid*, ácido desoxirribonucleico), entre otras.

Vamos a ver en que consiste cada una de las principales técnicas de diagnóstico y sus aplicaciones<sup>2</sup>.

---

2. **Solución al crucigrama:** página 240.

### El crucigrama de la pandemia



#### Cruzada

2. Proteína en el exterior del virus que permite la penetración en las células huésped
4. Ácido desoxirribonucleico
6. Anticuerpo, su abreviación es Ig
7. Ácido ribonucleico, por sus siglas en inglés
8. Reacción en cadena de polimerasa (Por sus siglas en inglés)
9. La enfermedad que provoca el virus de la pandemia actual

#### Abajo

1. Sustancia que provoca una respuesta inmune hacia cierta enfermedad y así la persona o animal queda más protegido
3. Molécula que se une a un anticuerpo al ser reconocida como extraña por el organismo
5. Virus que desató la pandemia en el año 2019

## 1. PCR (*POLYMERASE CHAIN REACTION*, REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA)

Empecemos con un poco de historia. Aunque los científicos y científicas, tienen un perfil de personas serias y una imagen similar a “ratas de laboratorio”, os invito a investigar y conocer la historia del inventor de la tecnología PCR. Además quizás os cambie un poco el retrato del científico. El padre de la tecnología PCR es Kary Mullis, que como él relata en su discurso del premio Nobel en 1993, imaginó la técnica cuando conducía en una salida de campo (Mullis, 1993). Él afirma que sus compañeros pensaban que sería otra de sus ideas locas. Muy a menudo es necesario salirse de lo predeterminado y de la zona de confort para encontrar las más geniales ideas, y ser lo suficientemente inteligente para ver su potencial y, lo más importante, para llevarlo a cabo. A pesar de la genialidad de Mullis –o debido a ella– sus salidas de tono, el haber jugueteado con las drogas y alguna que otra afirmación no muy científica le hizo ganarse la fama de excéntrico.

### 1.1. Pero, ¿en qué consiste la PCR?

Es una técnica que permite hacer copias, o amplificar, una región específica del ADN (ácido desoxirribonucleico) formados por oligonucleótidos (Saiki *et al.*, 1988). Nuestro material genético, nuestro ADN se conserva como una doble cadena con pares de bases complementarias. La naturaleza es tan sabia que usa un método tan simple como la duplicidad para conservar el material genético. Así es más estable y, además, la replicación es sencilla basada en separar ambas cadenas y unir los complementarios. Pues la PCR está basada en la naturaleza: en usar los complementarios para copiar una región específica del ADN. Uno de los motivos que nos puede interesar amplificar una secuencia específica de material genético es para poder ser detectada generando múltiples copias.

En nuestro vial para la PCR se añaden entre otros: la muestra purificada, los *primers* (la secuencia de ADN específica que quieres amplificar), bases de oligonucleótidos y una polimerasa termoestable. El trabajo de las polimerasas es unir y crear nuevas copias de ADN. Esta polimerasa no se desnaturaliza a altas temperaturas, como la mayoría de proteínas, porque proviene generalmente de una bacteria termófila que habita en aguas termales. La PCR consiste en la repetición de un ciclo de cambios de temperatura.

Cómo vemos en la figura 1, el ADN es de doble cadena a temperatura fisiológica o ambiente. Al calentar a 95°C (paso 1), las cadenas se separan, y al ir enfriando a los 60°C, los *primers* se van uniendo si encuentran el ADN complementario (paso 2). Entonces, se aumenta a 72°C, que es la temperatura óptima de la polimerasa, y empieza a copiar el ADN de la región de interés (paso 3). De nuevo se calienta a 95°C para separar las cadenas y así sucesivamente. Este ciclo se repite unas 40 veces, para así conseguir millones de copias de la secuencia específica.

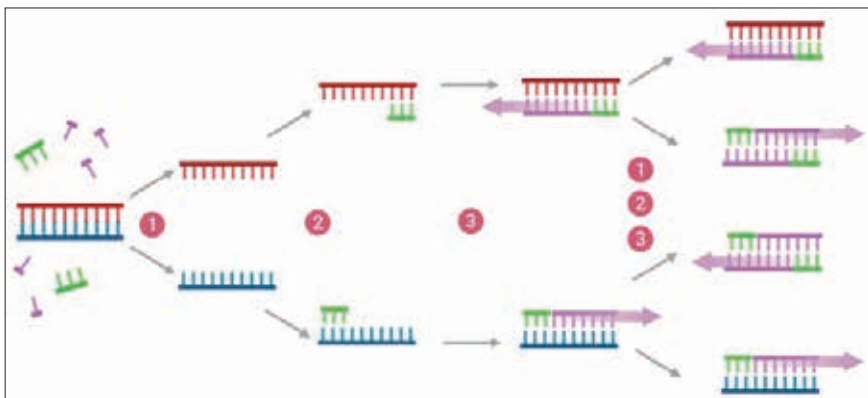


Fig. 1. Esquema de la técnica PCR<sup>3</sup>.

3. Las 4 figuras del artículo han sido creadas en "BioRender".

## 1.2. Y ... ¿cómo se puede usar para medir la presencia de un virus?

Y no sólo para detectar la presencia de una infección viral o bacteriana, también para las pruebas de paternidad e incluso para la ciencia forense que permite cotejar las pruebas de la escena del crimen con los sospechosos. Y otras utilidades bioquímicas como poder crear una vacuna de ADN o clonar en plásmidos para posteriores experimentos como expresar proteínas.

Centrémonos en el caso del virus SARS-CoV-2 (Corman *et al.*, 2020). Sabemos la secuencia del material genético del virus, basada en una cadena de ARN. Se coge una muestra de la persona que pueda tener COVID-19 mediante frotis de las secreciones nasales o faríngeas, que son dos de las regiones de replicación de este virus. Ya nos podemos figurar que la primera limitación de la técnica es la calidad de la muestra obtenida. A continuación, las muestras son analizadas en un laboratorio de microbiología, debidamente acreditado y con personal especializado. En un vial pequeño, se tienen muestras de ADN y ARN humanas, de otros virus, de bacterias, ... En este laboratorio, la muestra se purifica, el ARN del virus –si lo hubiera– se transforma en una cadena de ADN mediante una enzima llamada retrotranscriptasa. La técnica de retrotranscripción en PCR (RT-PCR) se utiliza cuando el material genético a analizar es de RNA (generalmente una hebra simple) y hay que transformarla en el complementario de DNA (hebra doble) ya que la técnica de PCR está diseñada para hebras dobles. Una vez se ha transformado en el ADN complementario, en el vial se introduce una secuencia oligonucleotídica específica del virus (el *primer*), sólo se amplificará el material genético del SARS-CoV-2. Además, en la variante técnica PCR cuantitativa (qPCR) se suele incluir este ADN específico con una sonda que emite fluorescencia y así es posible cuantificar en el tiempo, cuantas copias se están amplificando, si es positivo (Figura 2, línea roja). No se verá un cambio en la señal si la muestra no contiene material genético del virus (Figura 2, línea azul).

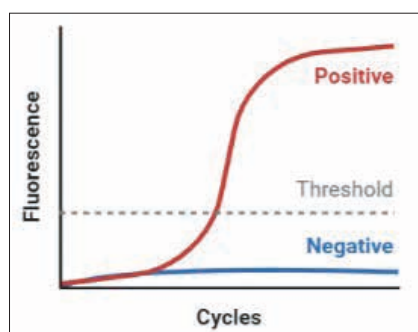


Fig. 2. Gráfica simplificada del resultado de la técnica PCR.

No sólo en muestras de pacientes, sino que la PCR es uno de los métodos que se está usando en aguas residuales como estudio epidemiológico

para así anticipar la prevalencia del virus en una zona determinada (Bivins *et al.*, 2020; Randazzo *et al.*, 2020).

**1.3. ¿Qué mide?** Si la infección está activa, o se ha pasado recientemente (cuando quedan restos de ARN viral).

**1.4. Ventana de detección:** Máxima dentro de los primeros 7 días de la infección.

**1.5. Pros:** Es una técnica muy fiable y precisa con alta sensibilidad. Uso para aguas residuales.

**1.6. Contras:** Es una técnica más costosa, requiere más tiempo, personal cualificado y es más laboriosa que otras.

## 2. TEST DE ANTÍGENO DE RÁPIDO DIAGNÓSTICO

Un antígeno es una molécula que se une a un anticuerpo al ser reconocida como extraña por el organismo (enhorabuena si lo escribiste en “Abajo 3” en el crucigrama). Un test de antígeno es un ensayo de diagnóstico que detecta proteínas virales. Por lo tanto, detecta una infección activa normalmente dentro de los primeros siete días tras los primeros síntomas, sobre todo es recomendada en el caso de sintomáticos (Peeling *et al.*, 2021). Al no haber amplificación, es un método menos sensible y fiable que la PCR.

La muestra se recoge de manera nasal o salival. A continuación, la muestra se coloca en la plataforma del test (parecido a uno de embarazo) y en menos de 30 minutos se tiene el resultado.

Es una herramienta muy útil si se usa apropiadamente y siempre conociendo que su margen de error puede ser mayor que en otras técnicas de diagnóstico.

**2.1. ¿Qué mide?** Si la infección está activa y normalmente en personas con alta carga vírica.

**2.2. Ventana de detección:** Máxima entre los primeros 5 o 7 días tras la infección.

**2.3. Pros:** Es una técnica muy rápida y barata. Permite actuaciones más rápidas y cribados masivos. En ocasiones no requiere de personal cualificado.

**2.4. Contras:** Es una técnica menos sensible que la anterior, en ocasiones, se debe complementar con otras pruebas diagnósticas. Debe evitarse reactividad cruzada con otros virus.

## 3. TEST SEROLÓGICO O DE ANTICUERPO

Estos son otros términos que también hemos incluido en nuestro vocabulario pandémico. Veamos en que consiste el test de anticuerpo y qué información proporciona. Es una prueba indirecta de inmunidad, por lo tanto no va a medir directamente el material genético o proteínas del virus

sino la respuesta inmune de nuestro organismo a una enfermedad (Lee *et al.*, 2020). Cuando se produce una infección, nuestro sistema inmunológico se activa y, entre otros varios mecanismos de defensa, segrega unas proteínas llamadas anticuerpos, que se unen de manera específica a una región de las proteínas del patógeno. En el caso de SARS-CoV-2, el antígeno al que se unen los anticuerpos es a una de las proteínas del virus. Al inicio de la respuesta inmunitaria, se expresan anticuerpos tipo IgM, y tras varios días se reduce la cantidad de IgM y se expresan los IgG, que normalmente se mantienen durante meses en sangre como parte de la memoria inmunológica. Si tras una infección, o vacuna, no se detectan IgG no hay que preocuparse por si hemos perdido la ansiada memoria. Puede ser debido a que está a niveles no detectables. Aun así, hay otras células de memoria inmunológica (linfocitos T de memoria) que pueden seguir proporcionando inmunidad al virus en nuestro organismo, pero son más complejas de detectar.

Es un test que únicamente precisa de una muestra de sangre (Figura 3) o de saliva, y detecta los anticuerpos tras varios días tras el contagio, o tras haber superado la infección. Sus resultados están disponibles en 10-15 minutos.

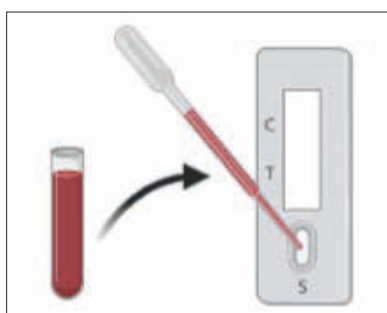


Fig. 3. Dispositivo del test serológico.

**3.1. ¿Qué mide?** Una infección activa después de varios días desde el contagio (IgM) o pasada (IgG) (hasta varios meses tras el contagio).

**3.2 Pros:** Es una técnica sensible, muy rápida y barata. En ocasiones no requiere de personal cualificado. Permite hacer estudios seroepidemiológicos de la población.

**3.3. Contras:** No da información de la fase temprana de la infección. Debe ser un test muy específico que evite reactividad cruzada con otros virus.

#### 4. CONCLUSIONES Y PERCEPCIONES FINALES

La figura 4 muestra la estructura esquematizada del virus SARS-CoV-2. A la derecha, hay una gráfica de días tras el inicio de los síntomas en relación con la carga vírica.

Asimismo, está relacionado con las ventanas de detección de los test de la enfermedad infecciosa descritos en este artículo.

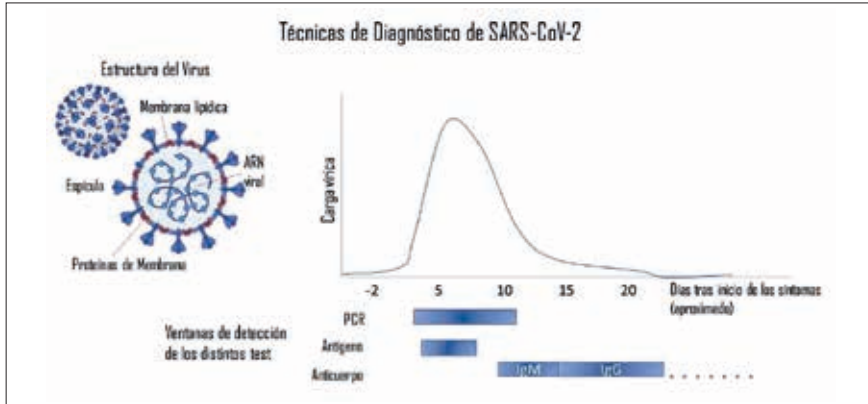


Fig. 4. Izquierda: Estructura del virus. Derecha: Ventanas de detección del virus.

Aparte de las expuestas, existen otras posibles técnicas de análisis como la secuenciación (muy útil sobre todo para casos de reinfecciones y estudio de las mutaciones), uso de la tecnología CRISPR (que permite amplificar la señal para una mayor sensibilidad), empleo de amplificación de material genético isotérmicamente mediante la técnica LAMP y otras múltiples variables para poder rastrear el virus.

El estudio de antígenos y anticuerpos es válido para otros muchos campos de investigación. En este sentido, en nuestro grupo de investigación de la Universidad de La Rioja se desarrollan diversas estrategias para la obtención de antígenos que generan respuesta inmune frente a células tumorales. El sistema inmune no sólo nos defiende de los patógenos, sino que detecta y elimina las células malignas. De este modo, al igual que en una vacuna de un virus entrenamos al sistema inmunológico para que detecte y acabe con infecciones, una de nuestras líneas de investigación es desarrollar vacunas terapéuticas del cáncer para que sean nuestras propias células de defensa las que contribuyan a eliminar el tumor. Como algunos tipos de cáncer expresan antígenos que no se encuentran en las células sanas, durante mi carrera investigadora y en nuestro equipo de la Universidad de La Rioja, estudiamos desarrollar vacunas basadas en péptidos y glicopéptidos. Optimizamos la efectividad de las vacunas mediante el estudio de estos antígenos a nivel molecular e incorporamos motivos no naturales para mejorar la actividad y biodisponibilidad (Coelho *et al.*, 2015; Somovilla *et al.*, 2017; Bermejo *et al.*, 2020; Guillén-Poza *et al.*, 2020; Asín *et al.*, 2021).

**Solución al crucigrama:** **Cruzadas:** (2) Espícula; (4) DNA; (6) Inmunoglobulina; (7) RNA; (8) PCR; (9) COVID-19. **Abajo:** (1) Vacuna; (3) Antígeno; (5) SARS-CoV-2



***Tras leer este artículo científico se le invita al lector a volver a ver el grafismo y leer el poema de María Ángeles Martín en las primeras páginas de esta revista.***

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Asín, A., García-Martín, F., Busto, JH., Avenzoza, A., Peregrina, JM., Corzana, F. (2022). Structure-based Design of Anti-cancer Vaccines: The Significance of Antigen Presentation to Boost the Immune Response. *Current Medicinal Chemistry*, 29(7), 1258-1270.
- Bermejo, IA., Navo, CD., Castro-López, J., *et al.*, (2020) Synthesis, conformational analysis and: In vivo assays of an anti-cancer vaccine that features an unnatural antigen based on an sp<sup>2</sup>-iminosugar fragment. *Chemical Science*, 11, 3996–4006.
- Bivins, A., North, D., Ahmad, A., *et al.*, (2020) Wastewater-Based Epidemiology: Global Collaborative to Maximize Contributions in the Fight against COVID-19. *Environmental Science and Technology*, 54, 7754–7757.
- Coelho, H., Matsushita, T., Artigas, G., (...), García-Martín, F., Marcelo, F. (2015) The Quest for Anticancer Vaccines: Deciphering the Fine-Epitope Specificity of Cancer-Related Monoclonal Antibodies by Combining Microarray Screening and Saturation Transfer Difference NMR. *Journal of the American Chemical Society*, 137, 12438–12441.
- Corman, V.M., Landt, O., Kaiser, M., *et al.*, (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25, 2000045.
- Guillen-Poza, PA., Sánchez-Fernández, EM., Artigas, G., (...), García-Martín, F. (2020). Amplified Detection of Breast Cancer Autoantibodies Using MUC1-Based Tn Antigen Mimics. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63, 8524–8533.
- Lee, CYP., Lin, RTP., Renia, L., *et al.*, (2020). Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. *Frontiers in Immunology*, 11, 879.
- Martini, M., Gazzaniga, V., Bragazzi, NL., *et al.*, (2019). The Spanish Influenza Pandemic: A lesson from history 100 years after 1918. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 60, E64–E67.
- Mullis, K.B. (1993). Nobel Lecture: The Polymerase Chain Reaction, <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/mullis/lecture/> (accessed May 11, 2021).
- Organización Mundial de la Salud (2021). Nuevo coronavirus 2019. <https://www.who.int/es/emergencias/diseases/novel-coronavirus-2019> (accessed Nov 24, 2021).

- Peeling, R.W., Olliaro, P.L., Boeras, D.I., *et al.*, (2021). Scaling up COVID-19 rapid antigen tests: promises and challenges. *The Lancet Infectious Diseases*, 21, E290–E295.
- Randazzo, W., Truchado, P., Cuevas-Ferrando, E., *et al.*, (2020). SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Research*, 181, 115942.
- Saiki, R., Gelfand, D., Stoffel, S., *et al.*, (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487–491.
- Somovilla, VJ., Bermejo, IA., Albuquerque, IS., *et al.*, (2017). The Use of Fluoroproline in MUC1 Antigen Enables Efficient Detection of Antibodies in Patients with Prostate Cancer. *Journal of the American Chemical Society*, 139, 18255–18261.