

Aportes de la biotecnología en el diagnóstico de COVID-19

Adriana M. Carlucci¹, Camila E. Antonelli², Juan C. Ermocida², Sofía C. Raventos² y Aída E. Sterin Prync³

1. Departamento Farmacia, Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

2. Carrera de Farmacia, Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

3. Departamento de Bioquímica aplicada, Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Introducción: en diciembre del año 2019 surgió en China una neumonía viral; el virus fue identificado como un coronavirus SARS-CoV-2, que se propagó rápidamente de tal manera que se convirtió en pandemia. La alta contagiosidad y la presencia de portadores asintomáticos dificultaron el diagnóstico de la infección y la toma de decisiones sanitarias.

Objetivo: el objetivo de esta revisión bibliográfica es presentar y describir las principales técnicas utilizadas actualmente para el diagnóstico de COVID-19 y establecer su relación con los conocimientos de distintas disciplinas y tecnologías emergentes que confluyen en la Biotecnología bioquímico-farmacéutica orientada a la Salud humana.

Metodología: se realizó una revisión de la bibliografía disponible en PubMed a partir de enero de 2020 sobre las pruebas diagnósticas que se encuentran actualmente en uso, en el ámbito sanitario, para la detección y seguimiento de la enfermedad COVID-19. También se realizaron búsquedas a través de Google y Google Académico para publicaciones de organismos de Salud en referencia a métodos diagnósticos.

Resultados: se presenta una importante cantidad de pruebas diagnósticas, basadas en diferentes tecnologías, que desempeñan un papel clave en la pandemia de COVID-19. Algunas de ellas muy sofisticadas, como la secuenciación genómica de próxima generación, otras más estándar, pero igualmente robustas, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). También otras adaptadas para el brote pandémico, como la amplificación isotérmica de ácidos nucleicos mediada por bucle. Todas las mencionadas se consideran de tipo molecular, pero también existen las pruebas serológicas, como ELISA, que incluyen ensayos en plasma o de tipo inmunológico. Estas sirven para detectar anticuerpos frente a la exposición al virus o antígenos en personas potencialmente infectadas.

Conclusiones: los procesos de investigación y desarrollo biotecnológicos aplicados al diagnóstico y los conocimientos científicos previos permitieron una respuesta tanto nacional como internacional rápida y eficaz en medio de una inédita pandemia global. En esta revisión destacamos las principales técnicas, en qué estadio se deben usar y qué información nos aportan.

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19, biología molecular, biotecnología, técnicas diagnósticas, bioinformática, sensibilidad, biomarcadores.

Autor para correspondencia: aida.sterin@hospitalitaliano.org.ar, Sterin Prync AE.

Recibido: 16/12/21 Aceptado: 06/04/22 En línea: 30/09/2022

DOI: <https://doi.org/10.51987/revhospitalbares.v42i3.204>.

Cómo citar: Carlucci AM, Antonelli CE, Ermocida JC, Raventos SC, Sterin Prync AE. Aportes de la biotecnología en el diagnóstico de COVID-19. Rev. Hosp. Ital. B.Aires. 2022;42(2):143-151.

Biotechnology contributions in COVID-19 diagnosis

ABSTRACT

Introduction: in December 2019, a viral pneumonia emerged in China, identifying the virus as a SARS-CoV-2 coronavirus, which spread rapidly in such a way that it became a pandemic. The high contagiousness and the presence of asymptomatic carriers make difficult to diagnose the infection and to make health decisions.

Target: the objective of this review is to present and describe the main techniques currently used for the diagnosis of COVID-19, and to establish their relationship with the knowledge of different disciplines and emerging technologies that converge in biochemical-pharmaceutical biotechnology oriented to human health.

Methodology: a review of the literature available in Pubmed from January 2020 on the diagnostic tests that are currently in use in the health field, for the detection and monitoring of COVID-19 disease, was carried out. Searches were also carried out through Google and Google Scholar for publications of Health organizations in reference to diagnostic methods.

Results: a significant number of diagnostic tests are presented, based on different technologies, which play a key role in the COVID-19 pandemic. Some of them are very sophisticated, such as next-generation genomic sequencing, others more standard, but equally robust, such as polymerase chain reaction. Also others adapted for the pandemic outbreak such as loop-mediated isothermal amplification of nucleic acids. All of the aforementioned are considered molecular, but there are also serological tests, such as ELISA, which include plasma or immunological tests. These serve to detect antibodies against exposure to the virus or antigens in potentially infected people.

Conclusions: biotechnological research and development processes applied to diagnosis and previous scientific knowledge allowed a rapid and effective national and international response in the midst of an unprecedented global pandemic. In this review we highlight the main techniques, at what stage they should be used and what information they provide us.

Key words: SARS-CoV-2, COVID19, molecular biology, biotechnology, diagnostic techniques, bioinformatics, sensitivity, biomarkers.

INTRODUCCIÓN

En diciembre del año 2019 surgió en la ciudad de Wuhan (provincia de Hubei, China) una epidemia de neumonía viral llamada COVID-19 que, debido a su alta tasa de transmisión y a la globalización, se ha convertido en *pandemia*.

En ese momento, la relación entre los nuevos conocimientos provenientes de la Biotecnología y muchas de las actuales estrategias utilizadas en Salud Humana, era una cuestión no muy difundida.

La Biotecnología aplicada a la Salud ha podido dar respuestas para la prevención, el diagnóstico, el seguimiento y la terapéutica de diferentes patologías. En relación con COVID-19 demostró en poco tiempo todo su potencial, su inmensa capacidad de generar y renovar conocimientos, permitiendo una acelerada traslación al paciente.

Resulta útil, entonces, tomar a COVID-19 como patología de referencia para señalar algunos de estos aportes, que fueron dando respuestas a las necesidades que se planteaban en cada una de las distintas fases de la pandemia.

A. Transmisión Zoonótica: se identifica el agente causal → el 11/01/2020 se publica el genoma de referencia

del SARS-CoV-2, basándose en los fundamentos de la genética molecular, la filogenética computacional y la bioinformática.

B. Difusión global → el 30/03/2020 se publican las secuencias completas del genoma viral en la base de datos *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID, por sus siglas en inglés)¹.

C. Brote → a) se comienzan a contener los contactos estrechos a través del método de referencia diagnóstica recomendado, la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, por sus siglas en inglés).

b) la progresión y dimensión de los brotes con pruebas más rápidas, capaces de dar resultados inmediatos y precisos en el punto de atención (*point of care*).

c) necesidad de identificar proteínas antigénicas para ensayos serológicos como las proteínas estructurales del SARS-CoV-2, S, E, M y N, y su optimización productiva para uso como reactivo.

D. Brote regional o estacional → necesidad de detectar variantes emergentes, lo que se logró con nuevas secuenciaciones genómicas.

E. Pandemia en curso

a) Vacunas profilácticas: las proteínas antigénicas se transforman en blanco para los distintos tipos de vacunas

(23/08/2021 la Food and Drug Administration [FDA] de los Estados Unidos aprueba la primera vacuna basada en ácidos nucleicos de la historia y primera para COVID-19 de Pfizer-BioNTech).

b) Detección de anticuerpos neutralizantes: determinación de títulos de anticuerpos en plasma y cinética de disminución de estos.

c) Biofármacos e inmunomoduladores: se realizan ensayos clínicos de anticuerpos monoclonales comercializados como nueva indicación para esta patología.

d) Bioterapias: se realizan ensayos clínicos con plasma de convalecientes, suero hiperinmunitario equino, células madre mesenquimales y sus derivados.

e) Microbiota intestinal: se la evalúa como potencial blanco terapéutico para modular la respuesta inmunológica y el daño tisular^{2,3}.

Para terminar de presentar el estado de arte de la Biotecnología bioquímico-farmacéutica en relación con sus aportes en COVID-19, es interesante analizar lo realizado a través de la Bioinformática. Las herramientas y técnicas bioinformáticas que se implementaron han permitido la interpretación de la secuenciación del genoma del virus, la identificación y el seguimiento de sus variaciones genéticas.

La Metagenómica, por ejemplo, permite la identificación de patógenos, y se la utilizó para una rápida identificación y caracterización de los primeros casos de COVID-19, utilizando programas informáticos y bases de datos. Además, las secuencias de SARS-CoV-2 obtenidas por nueva generación de secuenciación (NGS, del inglés *next generation sequencing*) y la secuenciación del genoma completo (WGS, del inglés *whole genome sequencing*) disponibles en varias bases de datos en línea brindan información adicional para ofrecer mejor atención a los pacientes y para determinar la tasa y el grado de variabilidad mutacional asociado con el SARS-CoV-2⁴. Esta herramienta esencial también se emplea para identificar cepas emergentes del virus, lo que permite categorizarlos según su peligrosidad, y desarrollar vacunas más eficaces³.

En la Argentina, las variantes de SARS-CoV-2 se monitorizan por secuenciación NGS del genoma viral, a través de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud ANLIS- MALBRÁN en colaboración con el consorcio proyecto PAÍS (Proyecto Argentino Interinstitucional de genómica de SARS-CoV-2). Se analiza la trayectoria evolutiva de las cepas que circulan en la Argentina para estudiar su origen, su dispersión y las mutaciones que pudieran afectar el diagnóstico, transmisión y virulencia.

Las secuencias son analizadas en el ámbito local y enviadas a la base de datos GISAID, donde son analizadas a nivel global en tiempo real. Luego se monitorizan los cambios nucleotídicos y aminoácidos de las cepas secuenciadas y se identifican los linajes virales presentes en pacientes con antecedente de viaje.

En cuanto a la circulación viral autóctona se evalúan los factores poblacionales y virales, mediante análisis multivariados de asociación que integren información genética y datos epidemiológicos. La diseminación viral

se analiza a través de análisis filogeográficos continuos, por regiones geográficas, a fin de trazar mapas de dispersión viral en el tiempo⁵.

Lo antedicho permite encuadrar los aportes de la biotecnología en todo el contexto de la pandemia. En el presente trabajo, profundizamos uno de ellos: el diagnóstico de COVID-19. Describiremos las plataformas tecnológicas utilizadas que han permitido un desarrollo crítico, en tiempo récord. Un método de detección fiable de la infección por SARS-CoV-2 ha sido fundamental tanto para la prevención y el control de la pandemia, como también porque un diagnóstico temprano facilita una rápida intervención en pacientes de alto riesgo y con posibilidades de desarrollar serias complicaciones por la infección del SARS-CoV-2.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión de la bibliografía dedicada a biomarcadores, pruebas diagnósticas, tecnologías y herramientas diagnósticas de COVID-19 disponible en PubMed utilizando artículos en inglés y español publicados entre enero de 2020 y diciembre de 2021. Se analizaron 30 artículos de los cuales se especifican 8 en la bibliografía. También se hicieron búsquedas a través de Google y Google Académico para publicaciones de organismos de Salud con referencia a políticas de salud establecidas para dicha pandemia y acceso a la información de los laboratorios fabricantes de insumos o pruebas diagnósticas, datos estos que completan el total de citas bibliográficas.

RESULTADOS

Correlación entre el desarrollo de la enfermedad y los biomarcadores

El tiempo de incubación del SARS-CoV-2 es de 2 a 14 días (media = 6 días)². Como puede apreciarse en la figura 1, la carga viral comienza a aumentar rápidamente y los pacientes empiezan a liberar partículas virales 3-5 días antes de la aparición de los síntomas⁶. Después de 5-6 días del comienzo de estos, el RNA viral llega a su pico; luego disminuye gradualmente hasta desaparecer, aproximadamente 2 semanas más tarde⁷. Simultáneamente al aumento del RNA viral, también son detectables en plasma las proteínas virales. Durante este período de tiempo, el biomarcador de elección es el RNA viral.

Tras la infección viral se produce la respuesta inmunitaria celular y humoral: al día 5 del inicio de los síntomas se generan anticuerpos de tipo IgM. La seroconversión (el aumento de los anticuerpos IgG y la disminución progresiva de los IgM) se produce hacia el día 14⁸. Por lo tanto, del día 5 hasta el 14, el biomarcador apropiado son los anticuerpos IgM; a partir de entonces se deben medir los anticuerpos IgG.

Ante todo, cabe aclarar que la detección exitosa de la enfermedad depende de varios factores, como el momento de la prueba desde el inicio de la enfermedad, la concentración del virus en la muestra, la calidad de la

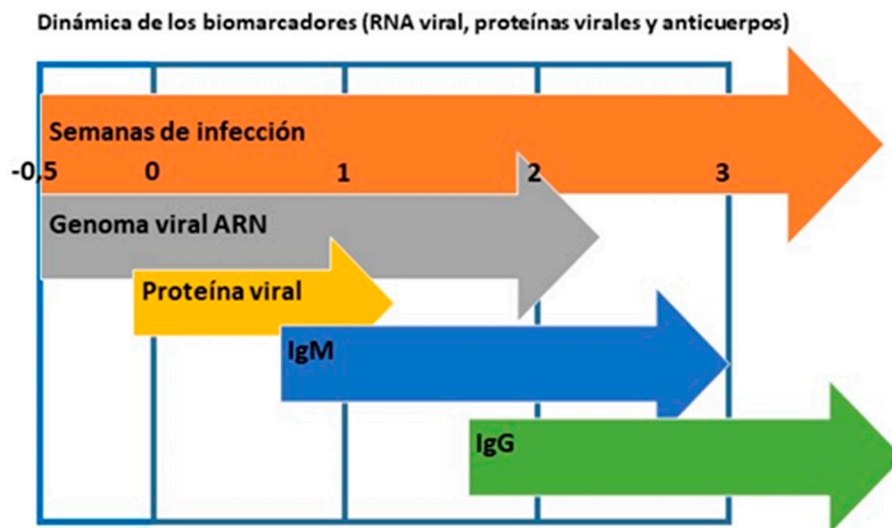


Figura 1. Tiempo de aparición de biomarcadores de acuerdo con las semanas de infección⁶.

muestra recolectada de una persona y cómo se procesan los reactivos en los kits de prueba³.

Los métodos de diagnóstico disponibles para las pruebas de COVID-19 se clasifican en dos tipos:

1) **Moleculares:** los métodos basados en RT-PCR y otros como los de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos mediada por bucle (RT-LAMP, del inglés *Loop-mediated isothermal amplification*), incluida la amplificación mediada por transcripción, están siendo comercializados. De acuerdo con la estructura de SARS-CoV-2 se analizan diversos genes como la proteína envoltura (E), la nucleocápside (N), la espiga (S) y la RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp).

2) **Serológicas:** se basan en la detección de anticuerpos producidos por el individuo en respuesta a la exposición al virus; se pueden realizar mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) e inmunoensayo de flujo lateral. Los inmunológicos, por su parte, se basan en la detección de proteínas antigénicas en individuos infectados³.

Plataformas tecnológicas empleadas para el diagnóstico de COVID-19

La prueba ideal debería cumplir con una serie de requerimientos: ser sensible y específica, rápida, fácil de procesar, económica y factible de conseguir y distribuir, entre otros. A continuación, se desarrollarán las más destacadas.

Pruebas moleculares

- **RT-PCR:** es una variante de la PCR convencional en la que la hebra molde utilizada es RNA y, al realizarse en tiempo real, combina en un mismo paso la amplificación de los fragmentos de los genes RdRp, E, S y/o N del virus (de acuerdo con el kit empleado) con la detección, al utilizar marcadores fluorescentes. El uso de PCR multiplex

dirigida a dos o más regiones del genoma del virus reduce la posibilidad de falsos negativos como resultado de la evolución del virus. Tiene una sensibilidad del 99% y se considera la prueba de referencia para el diagnóstico.

- **RT-LAMP:** realiza la amplificación de ácidos nucleicos de manera isotérmica, sin emplear termociclador y de forma más rápida que la RT-PCR (1 hora vs. 6-8 horas), pero es de menor sensibilidad; la detección puede ser colorimétrica o turbidimétrica, o por detección por tiras reactivas inmunocromatográficas.

Pruebas serológicas

Al detectar la presencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en la sangre, producidos por la respuesta inmunitaria humoral, pueden indicar el alcance y la duración de la protección inmunitaria, tanto en casos de posinfección como de vacunados⁹. Hay diferentes técnicas que pueden utilizarse, entre las que se destacan:

- **Ensayo enzimático de unión a ligando. ELISA:** inmunoensayo realizado en placas para la detección y cuantificación de anticuerpos o antígenos. Las placas contienen un antígeno, proteína recombinante del virus que es reconocido por anticuerpos presente en el suero del paciente. La reacción de unión entre antígeno y anticuerpo se revela agregando un segundo anticuerpo antiinmunoglobulina humana conjugado con una enzima, que –al agregar un sustrato cromogénico– genera una reacción colorimétrica detectable por espectrofotometría. Esto permite evidenciar la presencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en tres horas.

- **Inmunoensayo por quimioluminiscencia:** comparte el mismo fundamento técnico que los ensayos ELISA, con la diferencia de que la enzima que se acopla al anticuerpo cataliza una reacción quimioluminiscente que emite fotones; se determina, entonces, la producción de luz aumentando la sensibilidad de los resultados de los ELISA.

- **Ensayos rápidos:** estos pueden ser usados para detectar anticuerpos como antígenos.

- **Detección de anticuerpos:** son ensayos rápidos inmunocromatográficos de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos IgG/IgM anti-SARS-COV-2. Estos requieren poco equipamiento y son fáciles de usar, pero presentan un importante porcentaje de falsos negativos, y posibilidad de falsos positivos. Se basan en la migración de un fluido por tiras de nitrocelulosa usando complejos de anticuerpo y antígeno como medio para generar un resultado perceptible.

- **Pruebas de antígeno:** también son ensayos rápidos inmunocromatográficos de flujo lateral pero esta vez, a la inversa que en el caso anterior, se basan en la interacción de los antígenos presentes en la muestra del tracto respiratorio del paciente y los anticuerpos inmovilizados que se pueden unir a la proteína S del SARS-CoV-2 o a la proteína N de la nucleocápside, en la superficie del cartucho o tira reactiva. Dan resultados en alrededor de 10-15 minutos.

¿Cuándo usar cada prueba?

Estas diferentes técnicas se utilizan dependiendo del estadio de la enfermedad en el organismo ya que, según la fase de la infección, serán los componentes de mayores concentraciones que podrán ser detectados (Fig. 2).

El genoma del RNA del SARS-CoV-2 puede detectarse durante todas las etapas hasta mediados/finales de la convalecencia, por RT-PCR, NGS y RT-LAMP.

Por otro lado, desde la incubación hasta los primeros síntomas se puede utilizar la prueba de antígeno para

detectar las proteínas del virus, que proporcionan resultados rápidos en el punto de atención y son económicos, aunque con menor especificidad y sensibilidad que las pruebas basadas en ácidos nucleicos.

A mediados de la producción de síntomas y hasta el período de convalecencia se utiliza la prueba serológica de IgM. Y por último, desde la convalecencia en adelante, las pruebas de IgG.

Por lo tanto, las autoridades nacionales decidieron que:

- A todos los casos sospechosos se les hará detección RT-PCR⁹.

- Las pruebas rápidas de anticuerpos no reemplazan el diagnóstico por RT-PCR; su uso queda restringido, pues, para entornos de estudios de investigación epidemiológica¹⁰.

- Las pruebas serológicas de tipo ELISA o quimioluminiscencia serán autorizadas solo para seguimiento de pacientes para estudios epidemiológicos¹¹.

- Las pruebas rápidas de antígenos confirman el diagnóstico si el resultado es positivo, pero deberá realizarse una RT-PCR con un segundo hisopado, en caso de que el resultado sea negativo^{12,13}.

Sensibilidad, especificidad de las técnicas de diagnóstico, valores predictivos y prevalencia

Sensibilidad es la capacidad de una prueba de detectar correctamente a los individuos enfermos. Una prueba altamente sensible arroja pocos resultados falsos negativos porque pocas personas infectadas escapan a la detección (Fig. 3).

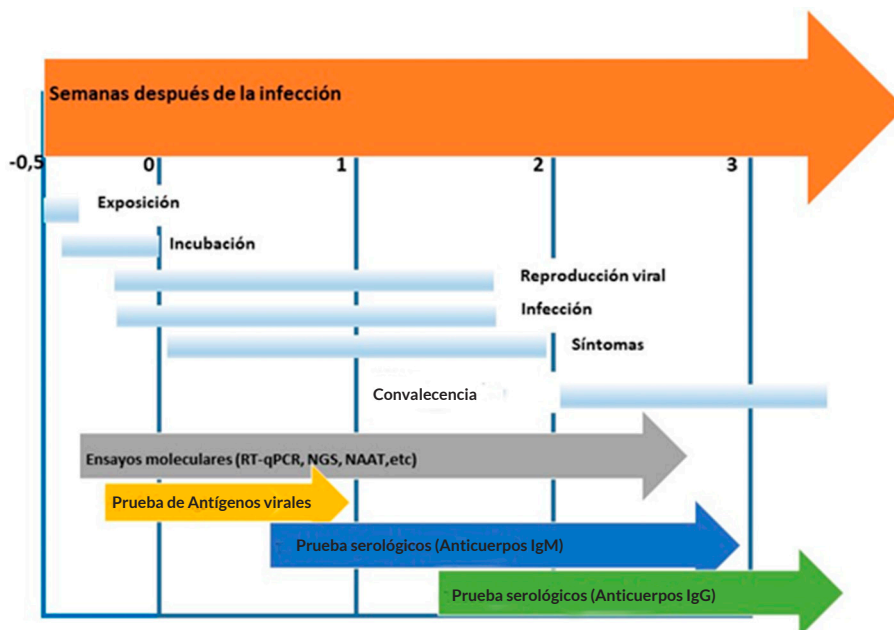


Figura 2. Modalidades de testeo según estadio de la enfermedad⁶.

Sensibilidad = 100% - % falsos NEGATIVOS

Especificidad es la capacidad de una prueba para detectar la ausencia de la enfermedad en sujetos sanos, proporción de sanos correctamente identificados respecto del agente infeccioso específico testeado.

Especificidad = 100% - % falsos POSITIVOS (Tabla 1)

Prevalencia es la cantidad de personas que padecen una enfermedad sobre el total de la población.

El valor predictivo positivo (VPP) de una prueba describe la proporción de individuos con una prueba positiva que presentan la enfermedad

El valor predictivo negativo (VPN) es la proporción de sujetos con una prueba negativa que no presentan la enfermedad.

La sensibilidad y la especificidad son intrínsecas a la prueba y definen su validez independientemente de la prevalencia de la enfermedad en la población.

Los valores predictivos, en cambio, son de gran utilidad y dependen de la frecuencia de la enfermedad en la población.

Prevalencia ↑ = VPN ↓ y VPP ↑

En el diagnóstico de COVID-19, un resultado positivo indica presencia de infección y necesidad de aislamiento; sin embargo, ante un resultado negativo, no se debe descartar la posibilidad de que sea un resultado falso negativo.

La fiabilidad de una prueba se ve fuertemente afectada por la prevalencia de la enfermedad. Cuando la prevalencia de la enfermedad es baja, la tasa de falsos positivos es alta, y el VPP puede aumentar cuando se utiliza una prueba diagnóstica con alta especificidad.

La selección de pruebas de laboratorio y la estrategia de prueba para COVID-19 implican una consideración cuidadosa de las compensaciones entre la sensibilidad

La sensibilidad analítica depende de las características del ensayo y de la dinámica viral

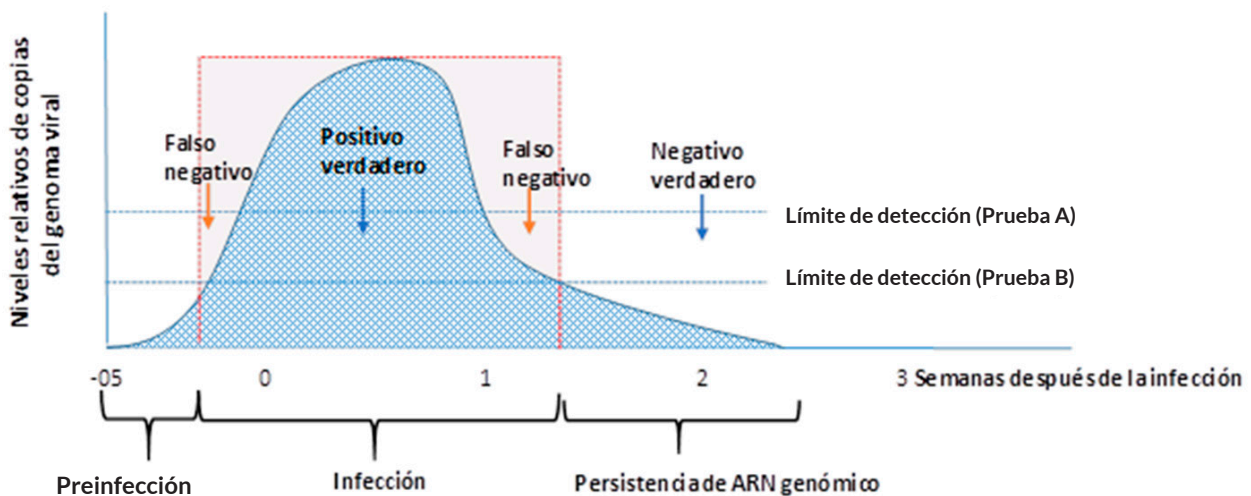


Figura 3. Sensibilidad analítica y dinámica viral⁶.

Tabla 1. Sensibilidad y especificidad acorde con las distintas metodologías¹⁴

Metodología	Sensibilidad			Especificidad	
RT-PCR	> 95%			> 96%	
	Días 8-14	Días 15-21	Días 22-35		
IgG	66,5%	88,2%	80,3%	IgG: 99,1% (98,3% a 99,6%)	
Quimioluminiscencia	(57,9 a 74,2)	(83,5 a 91,8)	(72,4 a 86,4)	IgM: 98,7% (97,4% a 99,3%)	
ELISA	IgM	58,4%	75,4%	68,1%	IgG/IgM: 98,7% (97,2% a 99,4%)
Inmuncromatografía	(45,5 a 70,3)	(64,3 a 83,8)	(55,0 a 78,9)		
IgG/	72,2%	91,4%	96,0%		
	(63,5 a 79,5)	87,0 a 94,4)	(90,6 a 98,3)		
Diagnóstico molecular rápido (Isotérmicas o LAMP)	95,2 (95% IC: 86,7-98,3)			98,9 (IC 95%: 97,3 a 99,5)	
	[68 a 100%]			[92 a 100%]	
Inmunoensayo de flujo lateral	56,2% (95% IC: 29,5-79,8)			99,5 (IC 95%: 98,1 -99,9)	
	[0 a 94%]			[90 a 100%]	

clínica y la especificidad clínica, así como el VPN y el VPP. Los profesionales deben considerar los escenarios clínicos en los que se utilizará el resultado de la prueba y seleccionar la estrategia de prueba más adecuada que cumpla con las especificaciones de rendimiento clínico definidas *a priori*

Pruebas aprobadas en la Argentina

En la Argentina, la ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica) lleva aprobados más de 240 kits diagnósticos¹⁵ (tabla 2).

Pruebas desarrolladas en la Argentina

A continuación se resumen las principales características de las pruebas diagnósticas con desarrollos llevados a cabo en la Argentina (tabla 3)

DISCUSIÓN

El manejo sanitario de la pandemia de COVID-19 representó un gran desafío. A principios del año 2020, la virología hacía ya décadas que basaba la identificación de los patógenos en los fundamentos de la biología molecular y

Tabla 2. Algunos ejemplos de los kits diagnósticos aprobados en la Argentina

Nombre del kit	Laboratorio/Origen	Tecnología empleada
Real Star SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0	Altona Diagnostics GmbH- Alemania	Real Time RT-PCR
CoronARdx	Argenomics- Argentina	RT- PCR
Abbott RealTime SARS-CoV-2	Abbott Molecular Inc. Estados Unidos	Real Time RT-PCR
VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kit	CERTEST BIOTEC. España	Real Time RT-PCR
NOVEL CORONAVIRUS (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Kit	Getein Biotech, Inc. China	Real Time RT-PCR
Sofia 2 SARS Antigen FIA	Quidel Corporation. Estados Unidos	Detección de antígeno por técnica de FIA (inmunofluorescencia)
Illumina COVID Seq Test	Illumina. Estados Unidos	Next Generation Sequencing (NGS)
ELA CHEMSTRIP® COVID-19	CHEMTEST ARGENTINA S.A. Argentina	Amplificación isotérmica
COVID-19 NEOKIT TECNOAMI	NEOKIT S.A.S. Argentina	Amplificación isotérmica
COVID-19 NEOKIT PLUS	NEOKIT S.A.S. Argentina	Amplificación isotérmica
Bio-Rad SARS-CoV-2 ddPCR Test	Bio-Rad Laboratories Inc. Estados Unidos	Digital RT-PCR
WGene SARS-CoV-2 RT Detection	WIENER Laboratorios S.A.I.C. Argentina	Real Time RT-PCR
SARS-CoV-2 IgG	Abbott Ireland, Diagnostics Division. Irlanda	Inmunoensayo por quimioluminiscencia
MAGLUMI 2019-nCoV IgG (CLIA)	Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co. China	Inmunoensayo por quimioluminiscencia
ErbaLisa COVID-19 IgG y IgM	Calbiotech Inc. Estados Unidos	ELISA
COVID-19 IgA DIA.PRO	Diagnostic BioProbes S.r.l. Italia	ELISA
VIDAS® SARS-COV-2 IgG y IgM	BIOMERIEUX SA. Francia	ELFA (<i>Enzyme Linked Fluorescent Assay</i>)
COVID AR IgG y IgM	Laboratorio Lemos SRL Desarrollo: CONI-CET- Int. Lelior Argentina	ELISA
2019-nCoV Ab Test (colloidal gold)	Innovita Biological Technology Co. China	Prueba rápida – inmunocromatográfica
COVID-19 IgG/IgM Rapid test	Ergon Sutramed Srl. Italia	Prueba rápida inmunocromatográfica
OnSite COVID-19 IgG/IgM Rapid Test CTK	Biotech, Inc. Estados Unidos	Prueba rápida inmunocromatográfica
Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device	Abbott Diagnostics Korea Inc. Corea	Prueba inmunocromatográfica para detección de antígeno
SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	Monocent, Inc. Estados Unidos	Inmunoensayo rápido para la detección de antígenos

Tabla 3. Kits diagnósticos argentinos

Técnica diagnóstica	Material de detección	Tipo de muestra	Laboratorio/Punto de atención	Marca comercial
RT-PCR dúo	Detección simultánea del gen E y del gen RdRp	Hisopados nasofaríngeo u orofaríngeo y saliva	Laboratorio	Schep SARS-CoV-2 (Biolab) ¹⁶
RT-PCR dúo	Detección simultánea del gen RdRp viral dependiente y del N	Muestras biológicas de origen respiratorio y saliva	Laboratorio	WGene SARS-CoV-2 RT Detection ¹⁷
RT-PCR dúo	Detección de región específica de gen E y de otra en el gen RdRp	Hisopado oro/nasofaríngeo	Laboratorio	CoronARdx ¹⁸
Amplificación isotérmica + detección por tiras reactivas inmunocromatográficas	Una región del gen E	Hisopado nasofaríngeo, orofaríngeo y lavado broncoalveolar	Punto de atención	ELA-CHEMSTRIP ¹⁹
RT-LAMP	Amplificación isotérmica de cuatro fragmentos de DNA del RNA aislado	Muestra nasofaríngea	Punto de atención	Neokit y Neokit Plus (se extrae el genoma viral sin necesidad de previa purificación del RNA del virus) ²⁰
Prueba serológica: inmunoenzimática heteróloga, no competitiva, ELISA indirecto	Proteínas S y RBD recombinantes	Suero	Laboratorio	CovidArlgG ²¹

sus técnicas derivadas. También de la Bioinformática para administrar, difundir y compartir la información obtenida, además de utilizar el modelado proteico *in silico* para evaluar nuevas variantes y/o nuevos blancos terapéuticos.

Por otro lado, el trabajo bajo condiciones de garantía de calidad era conocido por la comunidad científica, lo que permitió el progreso en el trabajo conjunto entre la academia, la industria y las entidades regulatorias en el desarrollo de metodologías aplicadas a la detección y cuantificación de biomacromoléculas, así como el desarrollo de técnicas inmunológicas.

Esta situación descripta es válida también para el ámbito argentino, que tuvo y tiene una participación muy activa en el manejo de datos epidemiológicos, así como en el desarrollo de kits diagnósticos y de reactivos e insumos básicos necesarios para esos diagnósticos.

La primera generación de kits diagnósticos se basó en la técnica de RT-PCR y presentaron parámetros de evaluación de la calidad altamente aceptables. Pero el aumento de casos hizo necesario contar con técnicas más rápidas, prácticas y/o económicas, que exigieron modificaciones en la amplificación del material genético viral, trabajando de manera isotérmica y sin necesidad de termociclador.

Al mismo tiempo fue necesario el desarrollo de pruebas serológicas para conocer la inmunidad de los

recuperados, de los potenciales donantes de plasma o de los vacunados. La biología molecular dio una vez más los fundamentos para poder detectar el(los) antígeno(s) en los enfermos y los anticuerpos en los recuperados.

La Biotecnología bioquímico-farmacéutica presenta una gran versatilidad, y sus aplicaciones en el cuidado de la salud fueron aprovechadas en las diferentes etapas de una pandemia.

Finalmente, es destacable que –frente a la alta cantidad de información que se obtiene a la hora de la aplicación de estas pruebas– resulta vital contar con la capacidad de procesar e interpretar eficientemente los datos; esto se vio facilitado por las herramientas y técnicas bioinformáticas disponibles, que son simples, precisas, rentables, económicas y están disponibles gratuitamente en Internet, lo que permite su uso universal para diferentes fines de investigación.

CONCLUSIONES

El desarrollo y la comercialización de las pruebas diagnósticas para COVID-19 han sido un soporte sanitario relevante durante la pandemia. Demostraron el gran avance que la Biotecnología bioquímica venía gestando desde hace décadas, y que tuvo una imperante aceleración

en los últimos dos años, aportando soluciones en todos los estadios de la pandemia, desde la identificación del agente patógeno hasta la determinación de las proteínas antigénicas del virus, y la secuenciación del RNA mensajero (RNAm) utilizado en las primeras vacunas basadas en terapia génica, incluyendo la producción de antígenos y anticuerpos como reactivos diagnósticos, y todo en tiempo récord.

Gracias a ello, en todo el mundo incluida la Argentina, se pudieron desarrollar tanto pruebas diagnósticas, como los insumos específicos para llevarlas a cabo, con diversas tecnologías destinadas a dar las respuestas necesarias en la inédita pandemia.

Agradecimientos: agradecemos a la Dra. Susana Llesuy y al Dr. Miguel Ángel De Cristóforo, por su apoyo y colaboración, y a Sol Ana Bahillo Cozza, María Laura Barberis, Lucía Micaela Chaves, Juana Freggiaro, Nicole Schweid, Franco Raúl Fasciolo, Agustina Rosales y Nayla Salomé Vázquez, que no integran la Revisión pero que participaron a través de la preparación de material.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de interés alguno.

REFERENCIAS

- Global Initiative on Sharing All Influenza Data. Enabled by hCoV-19 data shared via GISAID [Internet]. [Munich: GISAID; 2021] [citado 2021 dic 20]. [Disponible en <https://www.gisaid.org/collaborations/enabled-by-hcov-19-data-from-gisaid/>].
- Gautret P, Million M, Jarrot PA, et al. Natural history of COVID-19 and therapeutic options. *Expert Rev Clin Immunol*. 2020;16(12):1159-1184. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2021.1847640>.
- Behera BC, Mishra RR, Thatoi H. Recent biotechnological tools for diagnosis of corona virus disease: A review. *Biotechnol Prog*. 2021;37(1):e3078. <https://doi.org/10.1002/btpr.3078>.
- Ray M, Sable MN, Sarkar S, et al. Essential interpretations of bioinformatics in COVID-19 pandemic. *Meta Gene*. 2021;27:100844. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2020.100844>.
- Consortio Argentino de Genómica de SARS-CoV-2. Proyecto País: proyecto argentino interinstitucional de genómica de SARS-CoV-2 [Internet]. [Buenos Aires: 2021] [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <http://pais.qb.fcen.uba.ar/project.php>.
- Mercer TR, Salit M. Testing at scale during the COVID-19 pandemic. *Nat Rev Genet*. 2021;22(7):415-426. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00360-w>.
- Tay MZ, Poh CM, Rénia L, et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(6):363-374. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0311-8>.
- Melenotte C, Silvín A, Goubet AG, et al. Immune responses during COVID-19 infection. *Oncoimmunology*. 2020;9(1):1807836. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2020.1807836>.
- Argentina. Provincia de Buenos Aires. Ministerio de Salud. Actualización de uso de las técnicas de diagnóstico disponibles [Internet]. La Plata: el Ministerio; 2020 octubre [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://www.ms.gba.gov.ar/sitios/media/files/2020/10/Actualización-de-uso-de-las-técnicas-de-diagnóstico-disponibles.pdf>
- Argentina. Ministerio de Salud. Recomendaciones para equipos de salud: laboratorio [Internet]. Buenos Aires: el Ministerio; [2021] [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus/laboratorio>.
- ANMAT. Sobre el uso de tests de detección de anticuerpos para COVID-19. [Buenos Aires: ANMAT]; 2020 mayo 13 [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/noticias/sobre-el-uso-de-tests-de-deteccion-de-anticuerpos-para-covid-19>.
- Colegio Oficial de Farmacéuticos y Bioquímicos de la Capital Federal. COVID-19: kits aprobados [Internet]. Buenos Aires: COFYBCF; 2019 [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://www.cofybcf.org.ar/noticia.php?n=2639>.
- Argentina. Ministerio de Salud. Guía operativa para autoridades sanitarias: el dispositivo estratégico de testeo para coronavirus en terreno argentino [Detectar]: búsqueda activa de contactos estrechos [Internet]. Buenos Aires; el Ministerio; 2020 noviembre [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-11/Guia-Operativa-Detectar-10-11-2020.pdf>.
- Carlucci AM, Cabarcos Restovich D, Fabro JP, et al. Biotecnología aplicada al diagnóstico y tratamiento de Covid-19. *ByPC*. 2022 86(2):54-62.
- ANMAT. Reactivos Covid-10 [Internet]. Buenos Aires: Pharmabiz.net; 2020 [citado 2021 dic 20]. Disponible en: https://www.pharmabiz.net/wp-content/uploads/2020/12/anmat-reactivos-covid-19-al-17-noviembre_1_compressed.pdf.
- Biocientífica Blog. ¡Desarrollamos nuevo kit de RT-PCT para SARS-CoV-2! [Internet]. Buenos Aires: Biocientífica; 2021 ago 13 [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://biocientifica.com.ar/desarrollamos-nuevo-kit-de-rt-pcr-para-sars-cov-2/>
- Wiener Laboratorios. WgeneSarsCov: RT detection: método para detección de secuencias de ARN del virus SARS-CoV-2 mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real disponible [Internet]. Rosario: Wiener; 2020 [citado 2021 dic 20]. Disponible en: https://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/wgene_sars_cov_2_rt_detection_sp.pdf.
- CoronARdx. Kit para la detección de SARS-CoV2 para 90 muestras [Internet]. [Pilar, Pcia. de Buenos Aires: Argenomics; 2021] [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <http://coronardx.com/>.
- Chemtest. ELA CHEMSTRIP COVID-19 [Internet]. [San Martín; Pcia. de Buenos Aires: Chemtest; 2020] [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://www.chemtest.net/chemstrip-covid-19.php>.
- Argentina. Ministerio de Salud. La ANMAT aprobó NEOKIT PLUS, nuevo test rápido de diagnóstico de COVID-19 [Internet]. Buenos Aires: el Ministerio; 2020 octubre 8 [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/noticias/la-anmat-aprobo-neokit-plus-nuevo-test-rapido-de-diagnostico-de-covid-19-0>.
- Laboratorio Lemos. CovidARlgG [Internet]. Buenos Aires: el Laboratorio; 2020 [citado 2021 dic 20]. Disponible en: <https://portal-coronavirus.gba.gov.ar/sites/default/files/Inserto%20KIT%20COVID%20AR%20lgG.pdf>.