



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**“ANÁLISIS DE LOS TIPOS DE PRUEBAS REALIZADAS EN
CASTILLA Y LEÓN PARA DETECTAR LOS CASOS DE COVID-19”.**

AUTORA: LAURA PÉREZ OLLER

TUTORA: GEMA RUIZ LÓPEZ DEL PRADO

CURSO 2020/2021

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Curva epidémica global de la pandemia SARS-CoV-2 en España según el Ministerio de Sanidad.....	2
Ilustración 2: Curva epidemiológica de la evolución de la pandemia en Castilla y León durante el primer año según la Sanidad Castilla y León.....	3
Ilustración 3: Estructura del SARS-CoV-2.....	3
Ilustración 4: Detección del SARS-CoV-2 según el tiempo de la infección.....	4
Ilustración 5: Resumen de las características más importantes de los diferentes tipos de pruebas de detección SARS-Cov-2.....	8
Ilustración 6: Tipos de pruebas para detección Covid_19 realizadas en Castilla y León.....	10
Ilustración 7: Gráfico de porcentaje de pruebas PCR– y PCR+ en Castilla y León.....	12
Ilustración 8: Porcentaje de cada tipo de prueba realizada en Castilla y León desde el 13 de marzo de 2020 al 25 de noviembre de 2020.....	14
Ilustración 9: Gráfica de nuevos positivos confirmados por pruebas, hospitalizados en planta y hospitalizados en UCI.....	14
Ilustración 10: Comparación de pruebas realizadas (en azul) y pruebas positivas en coronavirus en Castilla y León desde el comienzo de la pandemia hasta el 25 de noviembre de 2020. Fuente: CATIA.....	15
Ilustración 11: Número de pruebas realizadas por provincia durante el periodo de estudio...	16
Ilustración 12: Porcentaje de positivos detectados en cada tipo de prueba en Castilla y León.	17

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tipos de pruebas para la detección del Covid-19.....	4
Tabla 2: Total de pruebas realizadas y número de pruebas positivas por hospitales y atención primaria en la comunidad de Castilla y León desde el 13 de marzo de 2020 al 25 de noviembre de 2020.....	11

INDICE DE ABREVIATURAS

- Covid-19: **C**oronav**v**irus **d**isease 20**19**
- SARS-CoV-2: Severe Acute Respiratory Syndrome associated Coronavirus 2
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- PDIA: Pruebas de Detección de Infección Activa.
- RT-PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa mediante Transcriptasa Inversa.
- qPCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa a Tiempo Real
- SDRA: Síndrome de Distress Respiratorio Agudo

- ELISA: Enzimoimmunoanálisis de absorción
- LFIA: Lateral Flow Immunoassay
- LAMP: Loop-mediated isothermal amplification
- CRISPR: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
- CAUPA: Complejo asistencial de Palencia
- CASE: Complejo asistencial de Segovia
- HUBU: Hospital Universitario de Burgos
- CAUSA: Complejo asistencial Universitario de Salamanca
- HLEO: Hospital de León (CAULE)
- CAZA: Complejo asistencial de Zamora
- HSOR: Hospital de Soria
- HBRZ: Hospital el Bierzo
- HSAP: Hospital de Santiago Apostol
- HURH: Hospital Universitario Rio Hortega
- HUCV: Hospital Clínico Universitario de Valladolid
- HMC: Hospital de Medicina del Campo
- HSR: Hospital Santos Reyes
- IA: Incidencia Acumulada

ÍNDICE DE CONTENIDO

- RESUMEN.....	1
- INTRODUCCIÓN.....	2
- OBJETIVOS.....	9
- MATERIAL Y MÉTODO.....	9
- RESULTADOS.....	11
- DISCUSIÓN.....	14
- CONCLUSIONES.....	17
- BIBLIOGRAFÍA.....	18
- ANEXOS (POSTER)	

RESUMEN

Introducción: Las pruebas de detección del SARS-CoV-2 son hoy en día una prioridad para controlar la transmisión del coronavirus. Desde el inicio de la pandemia se han ido desarrollando distintas técnicas. Conocer cuáles y cuántas se han realizado en Castilla y León y cómo se han incorporado según ha evolucionado la pandemia, es imprescindible para la gestión sanitaria y para un futuro análisis de los puntos de mejora.

Objetivos: Conocer cuáles han sido las pruebas más solicitadas en los hospitales y Gerencias de Atención Primaria de Castilla y León para el diagnóstico y cribado del SARS-CoV-2, así como el número absoluto de las realizadas y el porcentaje de positivos hallado.

Material y método: Estudio epidemiológico transversal y observacional mediante consulta a la base de datos centralizada CATIA entre el 13 de marzo de 2020 hasta el 25 de noviembre de 2020 para cuantificar las pruebas realizadas para la detección de SARS-CoV-2 en las diferentes provincias de Castilla y León.

Resultados: El total de pruebas realizadas en Castilla y León fue de 1.590.093 en el periodo de estudio, de ellas, 1.065.092 fueron pruebas diagnósticas de infección activa y 469.059 pruebas serológicas. Globalmente 138.674 pruebas dieron positivo (8,72%). La prueba realizada con mayor frecuencia fue la PCR, seguida del test rápido de anticuerpos y TMA. La citometría de flujo fue la prueba que más porcentaje de positivos detectó en el Hospital de Soria.

Conclusiones: De las pruebas existentes para la detección del SARS-CoV-2, en Castilla y León se han realizado PCR, TMA, PCR GEN N-COVID, test de detección rápido de antígenos, test rápido de anticuerpos, ELISA y Citometría de flujo. Las provincias que más pruebas realizaron fueron Valladolid (378.768 pruebas), León (281.689) y Burgos (269.366). Dichas provincias fueron las que más casos de infección por coronavirus-19 tuvieron entre marzo y noviembre de 2020.

Palabras clave: SARS-CoV-2, técnicas de detección, PDIA.

I. INTRODUCCIÓN

En diciembre de 2019 se describe en Wuhan (China) un brote de neumonía de origen desconocido. La mayoría de los pacientes coinciden en haber visitado el Mercado Mayorista de Mariscos de Huanan. Las manifestaciones clínicas que presentan los pacientes son fiebre y dificultad respiratoria. Un mes más tarde se describe un nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) como causante de esta patología. El 12 de enero de 2020 se pone a disposición de la OMS la secuencia genética del virus y se llevó a cabo la realización de pruebas PCR para el diagnóstico rápido de la infección con el fin de controlar la transmisión. El 23 de enero las autoridades del gobierno chino ponen en aislamiento a la población por el difícil control del brote. El 31 de enero se notificó en España el primer caso de coronavirus (1). El 11 de marzo de 2020 la OMS declara la crisis del SARS-CoV-2 pandemia mundial. Tres días más tarde el gobierno español pone en confinamiento a todo el país. La rápida progresión del virus al resto de continentes obligó a los diferentes gobiernos a adoptar medidas de aislamiento domiciliario y cierre laboral exceptuando servicios mínimos con el objetivo de frenar la expansión del virus. La crisis SARS-CoV-2 ha supuesto un impacto a nivel económico, social y sanitario en todo el mundo (1,2).

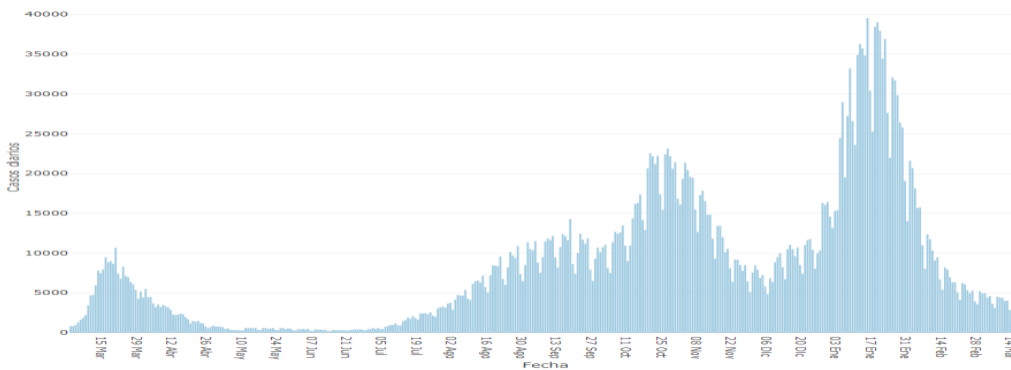


Ilustración 1: Curva epidémica global de la pandemia SARS-CoV-2 en España. Fuente: Ministerio de Sanidad.

Desde el inicio de la pandemia, en España se han registrado hasta el momento tres olas de contagios. La primera coincidiendo con la declaración de pandemia la Crisis Covid-19, una segunda ola en los meses de octubre y noviembre tras el inicio del curso escolar y la tercera ola registrada coincide con la finalización de las fiestas de navidad en enero de 2021.



Ilustración 2: Curva epidemiológica de la evolución de la pandemia en Castilla y León durante el primer año según la Sanidad Castilla y León.

Castilla y León sigue un curso prácticamente igual a la situación global de España. Se registraron tres olas hasta febrero de 2021. La tercera ola superó el pico de nuevos contagios por coronavirus.

El coronavirus pertenece a la familia coronavirusidae, género Betacoronavirus (2). Se caracterizan por usar un conjunto de ARNm para su replicación (3). El ARN del virus se replica codificando para proteína Spike (S), de membrana (M), envoltura (E), nucleocápsida (N). Ésta última se encuentra en el interior del virión asociada al material genético del virus (2).

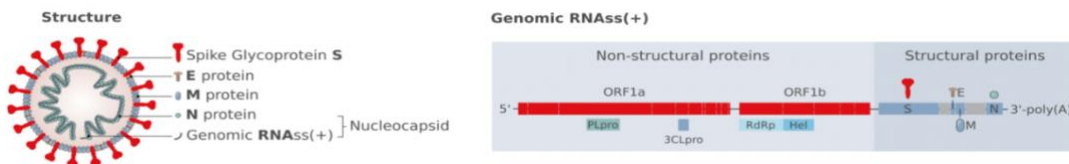


Ilustración 3: Estructura del SARS-CoV-2

El origen de la infección es desconocido, se cree que pueda ser de procedencia animal. El SARS-CoV-2 se transmite de un sujeto infectado a través de gotas procedentes de estornudos, tos y aerosoles. La transmisión por fómites contaminados puede darse si la persona tras el contacto roza superficies como la boca, nariz y ojos. Otra posibilidad de transmisión del virus es la fecal-oral en pacientes que han presentado clínica gastrointestinal. Se han visto recién nacidos con clínica y pruebas PCR positivas. En el semen se han encontrado partículas del virus en el momento más agudo de la enfermedad (2,4).

Este virus puede cursar de forma asintomática o producir síntomas como febrícula, tos seca, sensación de falta de aire, odinofagia, anosmia, ageusia, cefalea, diarrea y dolor torácico, entre otros. En casos graves puede derivar en neumonía, síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA) y muerte (1,2,5).

El periodo de incubación medio es de 5 días. El 95% de los pacientes que desarrollaran síntomas lo hacen antes de los 14 días. El periodo de latencia es menor, se ha visto que la mayoría de los pacientes son capaces de transmitir el virus alrededor de dos días antes del inicio de los síntomas. El tiempo de la enfermedad oscila según la gravedad de los síntomas de 1-2 semanas si ha sido leve a 6 o más si la enfermedad ha sido grave (2).

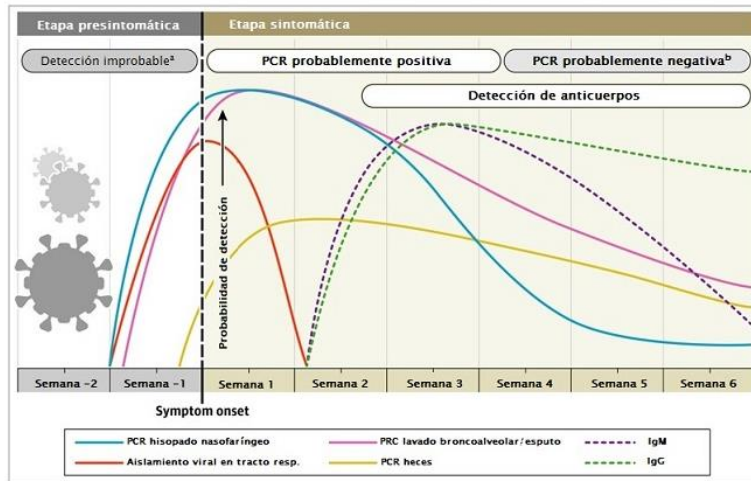


Ilustración 4: Detección del SARS-CoV-2 según el tiempo de la infección. Fuente OMS.

En la actualidad la detección de casos probables por SARS-CoV-2 se ha convertido en algo clave para el control de la transmisión. En poco tiempo se han desarrollado numerosas técnicas diagnósticas (6). Estas técnicas de diagnóstico se dividen en pruebas de detección de infección activa (PDIA) y pruebas serológicas. A su vez las PDIA se subdividen en pruebas destinadas a la detección del material genético y en aquellas capaces detectar proteínas de la envoltura vírica (antígenos) (Tabla 1).

PRUEBAS DE INFECCIÓN DE DETECCIÓN ACTIVA	PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR	PCR
		Amplificación Isotérmica
		TMA
		PCR GEN N-COVID
	CRISPR	
PRUEBAS DE DETECCIÓN DE ANTÍGENOS	Prueba rápida de detección de antígenos	
	Inmunofluorescencia	
PRUEBAS SEROLÓGICAS	Prueba rápida de detección de anticuerpos	
	ELISA	
	Citometría de flujo	

Tabla 1: Tipos de pruebas para la detección del Covid-19. Fuente: creación propia.

1. PRUEBAS DE DETECCIÓN DE INFECCIÓN ACTIVA (PDIA)

Detectan la presencia del virus en el momento de la infección. Se clasifican en:

1.1. PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Estas técnicas están basadas en el análisis del material genético del coronavirus. Comienzan a detectar el virus a partir del tercer día de la exposición, siendo máxima a los siete días y descendiendo la sensibilidad cuando la infección se está resolviendo. La prueba puede ser positiva durante varias semanas a pesar de que la carga viral sea tan baja que la probabilidad de contagiar sea prácticamente nula (6,7) (Ilustración 4).

1.1.1. DIAGNÓSTICO MOLECULAR POR RT-PCR EN TIEMPO REAL (RT-QPCR)

El diagnóstico de la infección aguda de COVID-19 se realiza mediante una prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (rRT-PCR). Esta prueba detecta el Ácido Ribonucleico (ARN) del SARS-CoV-2 en muestras del tracto respiratorio superior e inferior de individuos sospechosos de COVID-19 (8). Los genes que se detectan con las pruebas de diagnóstico molecular son el gen E (recomendado por la OMS), gen RdRp, el gen N para estudio de confirmación y gen Orf1ab (9). Los resultados de la prueba tardan entre 2 y 6 horas (10).

La PCR en tiempo real o qPCR es la variante de esta prueba que se está realizando en la detección de la SARS-CoV-2. La sensibilidad y especificidad de esta prueba son muy altas cercanas al 100%. Actualmente se trata del *gold estándar* en el diagnóstico del coronavirus-19 tanto en pacientes sintomáticos como en asintomáticos (6,7).

a) Detección de ARN viral mediante RT-PCR en exudado nasofaríngeo

La toma de muestra con hisopo en nasofaringe es la de elección. La baja carga viral en las vías respiratorias y el fallo en la toma de muestra o en el proceso pueden dar un resultado falso negativo y bajar la sensibilidad de esta prueba (11).

b) Detección de ARN viral mediante RT-PCR en saliva

Actualmente se está estudiando realizar la toma de la muestra en saliva por la facilidad de obtención por el propio paciente. A diferencia de la anterior esta muestra en pacientes con carga viral baja pierde sensibilidad (11,12).

1.1.2. AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA (LAMP)

Esta técnica similar a la PCR requiere de una temperatura constante para la amplificación e identificación de un fragmento del material genético. Esta prueba es capaz de obtener el resultado entre 5 y 60 minutos (13).

1.1.3. PRUEBA DE DETECCIÓN MEDIANTE AMPLIFICACIÓN MEDIADA POR TRANSCRIPCIÓN (TMA)

La TMA consiste en la detección del ARN del SARS-CoV-2. A diferencia de la PCR, en esta prueba no se lleva a cabo el paso de RNA a DNA vírico ahorrando algo más de tiempo en el proceso de laboratorio (15). Esta prueba junto con la PCR son las pruebas de detección activa más sensibles y específicas para la detección de pacientes infectados por el virus (6).

1.1.4. PCR GEN N-COVID

En el mercado existen diferentes pruebas que utilizan una variedad de dianas genéticas, la mayoría dirigidas a 1 o más de los genes del SARS-CoV-2, como pueden ser: gen de la nucleocápside (N), gen de la ARN polimerasa ARN-dependiente (RdRp), gen de la envoltura (E), entre otros. El gen E está presente en todos los beta-coronavirus (15). Los genes N y RdRP son específicos del SARS-CoV-2 (16).

1.1.5. CRISPR (Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Espaciadas)

La primera prueba en aparecer fue la denominada SHERLOCK. El ARN guía se una se a la secuencia del ARN del coronavirus activando a la enzima Cas13a degradando los fragmentos de ARN (5,13,17). Más tarde apareció DETECTR, el funcionamiento es igual que la anterior, pero en ésta se activa la nucleasa Cas12a. Esta prueba puede ser una ventaja cuando el acceso a prueba PCR es limitado, pero su sensibilidad es algo menor a ésta (17).

1.2. DETECCIÓN DE ANTÍGENOS

1.2.1. Test de detección rápido en exudado nasofaríngeo

Se basa en la técnica de inmunocromatografía de difusión (*lateral-flow*). Por difusión pasiva los antígenos víricos pueden entrar en contacto con los anticuerpos conjugados anti-

SARS-CoV-2 produciendo la precipitación (18). Esta prueba permite la detección de una forma rápida (15-20 min) en el mismo lugar de la toma nasofaríngea (6,18). Actualmente es la prueba de elección en pacientes que acuden a urgencias con síntomas de sospecha Covid-19. Posee alta sensibilidad (cercana al 95%) en aquellos pacientes con infección activa que presentan síntomas con menos de 7 días de evolución. En pacientes asintomáticos o contactos estrechos de pacientes confirmados no se recomienda realizar esta prueba porque presenta un alto número de falsos negativos en casos con carga viral baja (6).

1.2.2. Detección de antígenos mediante inmunofluorescencia

LumiraDx detecta la proteína N del coronavirus mediante tiras reactivas microfluídas con anticuerpos. El complejo es detectado mediante una señal de látex fluorescente que recoge un portátil en el mismo lugar de la toma del exudado nasofaríngeo. El resultado tarda alrededor de 12 minutos. Tiene una sensibilidad muy alta durante los primeros 12 días desde el inicio de los síntomas (19).

2. PRUEBAS SEROLÓGICAS

Los principales antígenos virales usados para las pruebas de anticuerpos son la proteína N y S (20). Estas pruebas son capaces de detectar la inmunidad humoral (IgM, IgG e IgA). Las IgM comienzan a aparecer alrededor de los 5 días después de la infección para ir disminuyendo conforme ésta se resuelve. En las fases tempranas de la infección también aparece la IgA. Las IgG pertenecen a la inmunidad humoral secundaria y su función es combatir una posible segunda infección por SARS-CoV-2. Comienzan a elevarse alrededor de los 10-15 días de contraer la primera infección (2,21) (Ilustración 4).

2.1. TEST RÁPIDO DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

Esta prueba se basa en el inmunoensayo cualitativo de flujo lateral (LFIA). Prueba rápida (resultado en 15 minutos), poco costosa y sin necesidad de laboratorio para el análisis. Con una muestra de sangre capilar es capaz de detectar la presencia de inmunoglobulinas IgM e IgG (22). La sensibilidad de la prueba en los primeros siete días del inicio de los síntomas es muy baja para ir aumentando a partir de los 8 días según se va creando inmunidad. A los 15 días del inicio de los síntomas puede llegar a tener una sensibilidad del 96.8%. Puede dar falsos en casos con poca producción de anticuerpos o cuando se comienzan a eliminar (9).

2.2. ENZIMOINMUNOANÁLISIS DE ABSORCIÓN (ELISA)

Detección de anticuerpos frente a la proteína de la nucleocápside Rp3 y la proteína S (20). Utilizan enzimas unidas a anticuerpos que causan un cambio en el color de la muestra de sangre venosa. La detección de anticuerpos IgM e IgA en pacientes diagnosticados de covid-19 mediante ELISA fue alrededor de los 5 días del inicio de los síntomas. Las IgG fueron detectadas alrededor de los 15 días después del inicio de la fase sintomática. La combinación de detección de los diferentes anticuerpos podría aumentar la sensibilidad del diagnóstico y una especificidad casi del 100% (21). ELISA es la prueba de elección en la evaluación retrospectiva de brotes, estudios, cribados, cuantificar la inmunidad post-infección y la duración de ésta (20).

2.3. CITOMETRÍA DE FLUJO

Técnica basada en el análisis y cuantificación de células contenidas en un fluido al pasar por un haz de luz. Esta técnica permite la detección de anticuerpos contra la forma nativa de la proteína S, fragmentos de ella y la proteína N (23,24). Se pueden determinar varias Inmunoglobulinas en un ensayo (23).

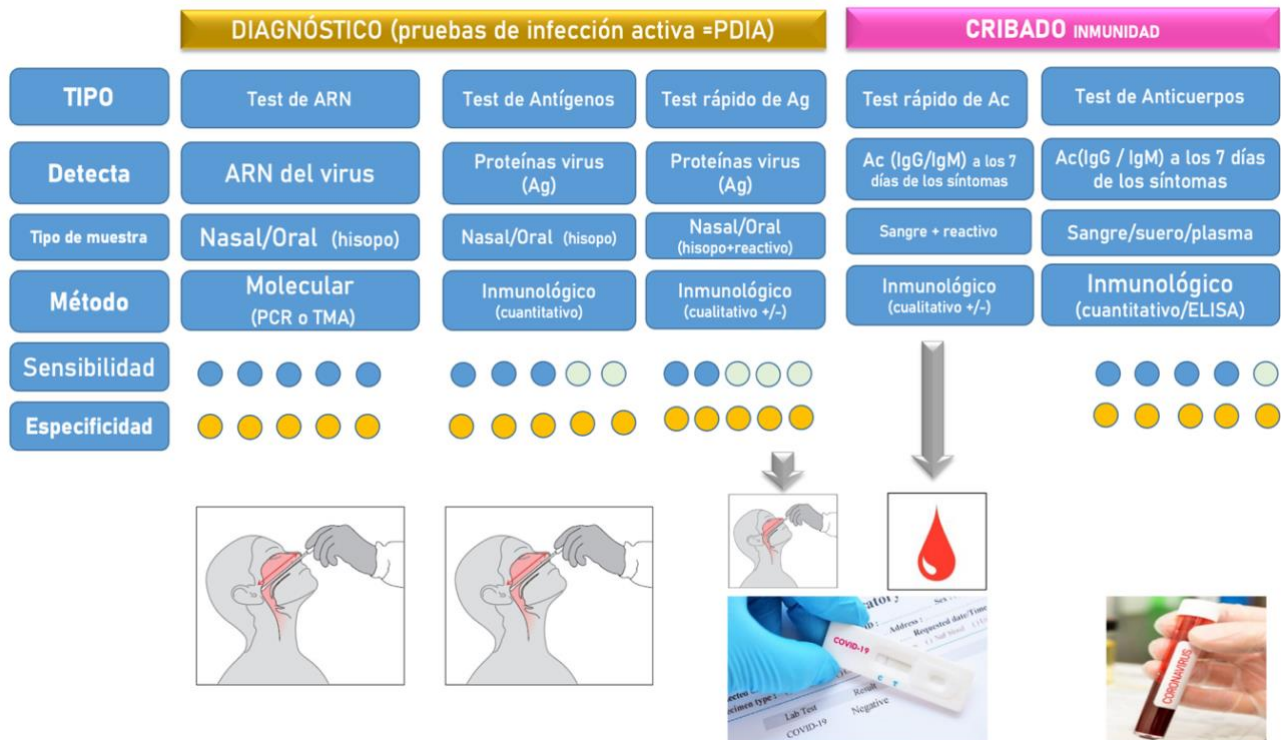


Ilustración 5: Resumen de las características más importantes de los diferentes tipos de pruebas de detección SARS-Cov-2. Creación propia para este estudio.

II. OBJETIVOS

a) Generales

- i. Analizar el número de pruebas para la detección del SARS-CoV-2 realizadas en la comunidad de Castilla y León desde el inicio de la pandemia el 13 de marzo de 2020 hasta el 25 de noviembre de 2020.

b) Específicos

- ii. Conocer el número total de pruebas positivas en el periodo de nuestro estudio.
- iii. Conocer los distintos tipos de pruebas realizadas en la comunidad de Castilla y León para la detección de casos por coronavirus y cuáles fueron las más utilizadas.
- iv. Analizar qué tipo de pruebas son utilizadas en los distintos hospitales y Gerencias de Atención Primaria de la comunidad.
- v. Conocer qué provincias realizaron mayor número de pruebas durante el periodo de estudio.
- vi. Detectar el número de casos positivos (absoluto y porcentaje) de aquellas pruebas realizadas durante el periodo de estudio.

III. MATERIAL Y MÉTODO

a) Tipo de estudio y periodo de estudio

Estudio epidemiológico observacional transversal de las pruebas realizadas en los hospitales y Gerencias de Atención Primaria en Castilla y León del 13 de marzo hasta el 25 de noviembre de 2020.

b) Fuente de información y recogida de datos

Para poder llevar a cabo el presente estudio se solicitaron los datos registrados en CATIA al Servicio de Sistemas de información y Resultados en Salud de la Gerencia Regional de Salud. CATIA es una base de datos centralizada y custodiada por la Dirección General de Sistemas de Información, Calidad y Prestación Farmacéutica de la Gerencia Regional de Salud de Castilla y León. En esta base de datos está toda la información relacionada con las

pruebas diagnósticas y de cribado de COVID-19 de Castilla y León cuyos resultados han sido normalizados y codificados en las siguientes posibilidades: positivos, negativos, rechazados, indeterminado, inválido. Además, ofrece los distintos tipos de pruebas, número de pruebas realizadas, tasa de pruebas, PDIA positivas nuevas, tasa del total de pruebas positivas realizadas, tasa poblacional, etc. La información grabada en CATIA procede de la Historia Clínica Electrónica Jimena_4, Medora, Repositorio de Datos Clínicos (CDR) mediante integración y mensajería HL-7.

c) Variables a estudio

Número absoluto de pruebas diagnósticas y de cribado de Covid_19 realizadas en Castilla y León por provincias, hospitales y Gerencias de Atención Primaria donde se realizaban las pruebas, así como el porcentaje y número absoluto de positivos hallados en cada tipo de prueba.

TIPO DE PRUEBA
PCR CONFIRMACIÓN - COVID-19
PCR CRIBADO
PCR GEN N - COVID-19
DETECCIÓN MOLECULAR COVID-19 (TMA)
AC. SARS-COV-2 IGM (PRUEBA RÁPIDA)
AC. SARS-COV-2 IGG (PRUEBA RÁPIDA)
AC. SARS-COV-2 IGG + IGM (AC. TOTALES)
AC. SARS-COV-2 IGM (ELISA)
AC. SARS-COV-2 IGG (ELISA)
AC. SARS-COV-2 IGA+IGM
Ig totales ELISA SARS-COV-2
AC. SARS-COV-2 IGM (CUANTITATIVO)
AC. SARS-COV-2 IGG (CUANTITATIVO)
AC. SARS-COV-2 IGA (CUANTITATIVO)
AG. SARS-COV-2 (Ag rápido introducido en sept 2020 se realiza en URG)

Ilustración 6: Tipos de pruebas para detección Covid_19 realizadas en Castilla y León

d) Análisis de datos

Los datos solicitados fueron remitidos en formato tabla Excel y analizados en ese mismo formato.

e) Autorización y aspectos éticos y deontológicos

La solicitud de datos fue remitida por correo electrónico al Servicio de Sistemas de Información y Resultados en Salud de la Gerencia Regional de Salud. La autorización para la utilización de dichos datos en este trabajo fin de grado fue concedida por la Dirección Técnica de Sistemas de Información, Calidad e Innovación.

En la solicitud de datos se especificaba explícitamente la necesidad de analizar datos numéricos, respetando en todo momento el Reglamento (UE) 2016/679, del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a la protección de personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos (Reglamento General de Protección de Datos), asegurando el anonimato y confidencialidad de los datos a analizar.

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Área de Salud de Valladolid con fecha 18 de febrero de 2021 y número de expediente PI-21-2166.

III. RESULTADOS

El total de pruebas realizadas en la comunidad de Castilla y León desde el 13 de marzo de 2020 al 25 de noviembre de 2020 fue de 1.590.093 (tabla 2).

	Nº TOTAL DE PRUEBAS HECHAS	(N) POSITIVOS	% PRUEBAS POSITIVAS
TODAS LAS PRUEBAS - COVID-19 (desde 13/03/2020 al 25/11/2020)	1590093	138674	8,72%
HOSPITAL REALIZADOR			
BURGOS	202520	18825	9,30%
HURH	148437	14356	9,67%
HUCV	147816	15310	10,36%
LEON	131769	14186	10,77%
SALAMANCA	130859	14610	11,16%
SEGOVIA	73004	7243	9,92%
AVILA	72701	6331	8,71%
SORIA	67537	6256	9,26%
PALENCIA	65253	7003	10,73%
ZAMORA	59144	6854	11,59%
HBRZ	52396	3772	7,20%
HSAP	3904	408	10,45%
HSR	891	80	8,98%
HMC	127	15	11,81%
GERENCIA DE ATENCIÓN PRIMARIA REALIZADORA			
SALAMANCA	63435	6589	10,39%
BURGOS	62051	4726	7,62%
LEON	49611	3338	6,73%
VALLADOLID OESTE	39531	3524	8,91%
ZAMORA	35344	2852	8,07%
VALLADOLID ESTE	33156	3442	10,38%
PALENCIA	33027	1576	4,77%
AVILA	30022	2383	7,94%
SEGOVIA	22012	2776	12,61%
SORIA	13134	1255	9,56%
PONFERRADA	9555	683	7,15%
OTRAS ENTIDADES REALIZADORAS			
Uva	9701	493	5,08%
Lab. Regional de salud de A.	18899	2125	11,24%
Universidad de Salamanca	4271	419	9,81%
Universidad de León	7019	781	11,13%

Tabla 2: Total de pruebas realizadas y número de pruebas positivas por hospitales y atención primaria en la comunidad de Castilla y León desde el 13 de marzo de 2020 al 25 de noviembre de 2020.

1. PRUEBAS DE DETECCIÓN MOLECULAR

1.1. PCR

Se han realizado un total de 927.330 pruebas PCR en toda la comunidad de Castilla y León, de las cuales 100.872 fueron positivas. Esta prueba fue realizada en hospitales, complejos asistenciales y algunas universidades de la comunidad. El hospital de Burgos realizó el mayor número de pruebas con 137.312 en el periodo de estudio. Le siguen las provincias de Valladolid, Salamanca y León.

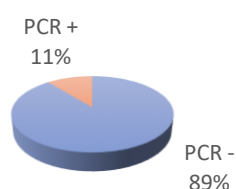


Ilustración 7: Gráfico de porcentaje de pruebas PCR- y PCR+ en Castilla y León.

1.2. TMA

La amplificación mediante transcriptasa se realizó en los complejos asistenciales de Palencia y Segovia. Se llevaron a cabo 101.814 de las cuales 10.489 fueron positivas (10,30%). Palencia fue la provincia que más pruebas TMA realizó con un total de 57.283 pruebas.

1.3. PCR N-COVID

Esta variante de la PCR fue realizada únicamente en el Hospital Universitario de Burgos. Se realizaron 2.067 pruebas y 177 resultaron positivas (8,56%).

2. PRUEBAS DE DETECCIÓN DE ANTÍGENOS

2.1. Prueba de detección rápida de Ag

Comenzó a realizarse por primera vez en septiembre de 2020. 74.368 pruebas se realizaron en distintos hospitales y Gerencias de Atención Primaria de la comunidad. 11.425

fueron positivas, un 15,36% pruebas positivas realizadas hasta la fecha fin de nuestro estudio. La Gerencia de Burgos fue la que más pruebas realizó con 18.206 test.

3. PRUEBAS SEROLÓGICAS

3.1. Pruebas de detección rápida de anticuerpos

Se han realizado un total de 150.674 pruebas para la detección de Ac IgM y 151.322 pruebas para la detección de IgG entre hospitales y gerencias de atención primaria. La detección conjunta de IgM+IgG se realizó en 94.346 ocasiones. El porcentaje de positivos de dichas pruebas ronda el 9%. Los hospitales de Ávila y Soria fueron los que mayor número de pruebas de inmunocromatografía realizaron, en cambio las Gerencias de Atención Primaria de Salamanca, Burgos y Valladolid fueron las que realizaron más pruebas de este tipo.

3.2. ELISA

Se realizaron 50.796 pruebas ELISA para la detección de IgG y 3.611 para la detección de IgM en los hospitales de la comunidad de Castilla y León. Las pruebas de detección de IgM (44,13%) tuvieron casi el doble de porcentaje positivo frente al ELISA de detección de IgG (23,40%). El hospital donde más pruebas IgM se realizaron fue en el HUBU y para la detección de IgG en el HLEO.

La detección de IgM+IgA mediante ELISA fue realizada en los hospitales de León y el Hospital Clínico Universitario de Valladolid. 7.051 pruebas en ambos hospitales, de las que 2.289 tuvieron un resultado positivo en dichas inmunoglobulinas. El hospital de León realizó casi el doble de pruebas que el hospital Clínico Universitario de Valladolid. El análisis de inmunoglobulinas totales (IgM+IgG) mediante ELISA fue realizada 15.073 veces, de las que 2.481 pruebas fueron positivas (16,46%) en el hospital clínico de Valladolid y en el complejo asistencial de Burgos.

3.3. Citometría de flujo

La detección de IgM mediante citometría de flujo únicamente se realizó en Soria y León. Se hicieron 2.262 pruebas para la detección de este tipo de anticuerpo de las que un 33,42% resultaron positivas. La determinación de IgA fue realizada un total de 385 veces y sólo 23 pruebas resultaron positivas. Para la detección de anticuerpos IgG además de los hospitales

anteriormente mencionados, se realizó en el hospital de Burgos. Se realizaron un total de 8.996 pruebas entre los tres hospitales de los cuales 2.429 fueron positivas (27%).

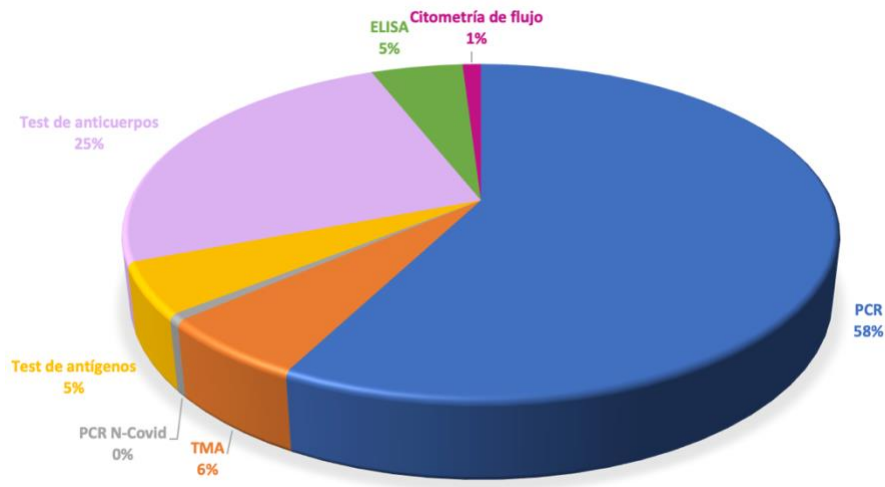


Ilustración 8: Porcentaje de pruebas realizadas de cada tipo realizada en Castilla y León desde el 13 de marzo de 2020 al 25 de noviembre de 2020.

IV. DISCUSION

El periodo de nuestro estudio incluye la primera ola de marzo de 2020 y la segunda ola de los meses de octubre y noviembre de 2020. Los recursos técnicos y humanos disponibles inicialmente fueron escasos y el número de pruebas para el diagnóstico y cribado de SARS_CoV_2 fue evolucionando para adaptarse a las necesidades sanitarias de una nueva realidad.

En la siguiente gráfica se presenta la situación de la comunidad de Castilla y León desde marzo de 2020 a marzo de 2021, número de positivos diagnosticados y número de hospitalizados. La escasa detección de casos positivos en el primer pico refleja la carencia de recursos y la excepcionalidad de la situación a la que nos enfrentábamos.

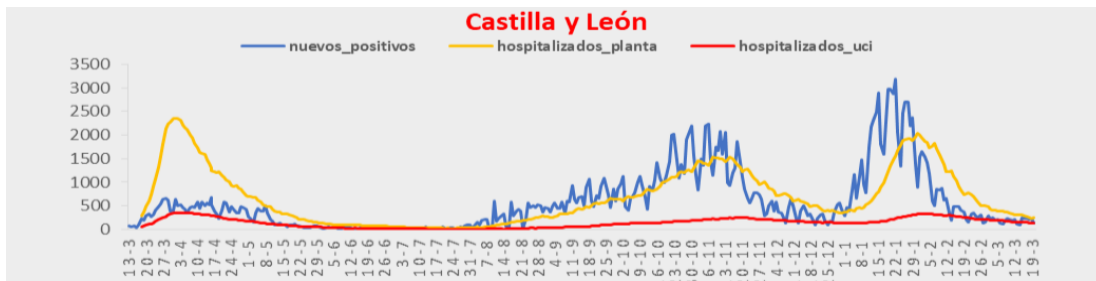


Ilustración 9: Gráfica de nuevos positivos confirmados por pruebas, hospitalizados en planta y hospitalizados en UCI.

El número de positivos en covid-19 era mucho más bajo al inicio de la pandemia que en posteriores olas, pero el número de hospitalizados durante la primera ola fue el más elevado de todo el periodo. Durante los meses de confinamiento con medidas de restricciones absolutas y limitación de la movilidad (marzo-mayo), las pruebas de detección se reservaban para aquellos pacientes con síntomas compatibles con coronavirus. Debido a la escasez de pruebas o a la no disposición de ellas en ese momento, muchos de los casos hospitalizados o fallecidos no se podía confirmar enfermedad por SARS-CoV-2, por ello el número tan reducido de casos diagnosticados en comparación con los hospitalizados. Con la instauración de medidas preventivas primarias (confinamiento, mascarillas, lavado de manos y distancia de seguridad) se consiguió reducir drásticamente el numero de contagios (25).

En el mes de septiembre con el inicio del curso escolar y entrada de meses fríos el número de positivos fue aumentando progresivamente hasta llegar a una segunda ola en los meses de octubre y noviembre. El número de casos positivos fue mucho mayor que en la primera ola, esto puede deberse al estudio de contactos estrechos de los casos confirmados y cribados poblacionales que se realizaron cuando la incidencia de la enfermedad superaba cierto límite según la zona (11,26). Por otro lado, el número de hospitalizados descendió durante la segunda ola en comparación con la primera, quizás porque realmente el número de personas infectadas era mucho mayor en la primera ola y que por la poca disponibilidad de pruebas diagnósticas, estos no se podían confirmar, y/o por la instauración de medidas de prevención secundaria una vez diagnosticada la infección (toma de antibióticos para prevenir una posible neumonía, oxigenoterapia, antivirales, corticoides y broncodilatadores inhalados...) (27) .

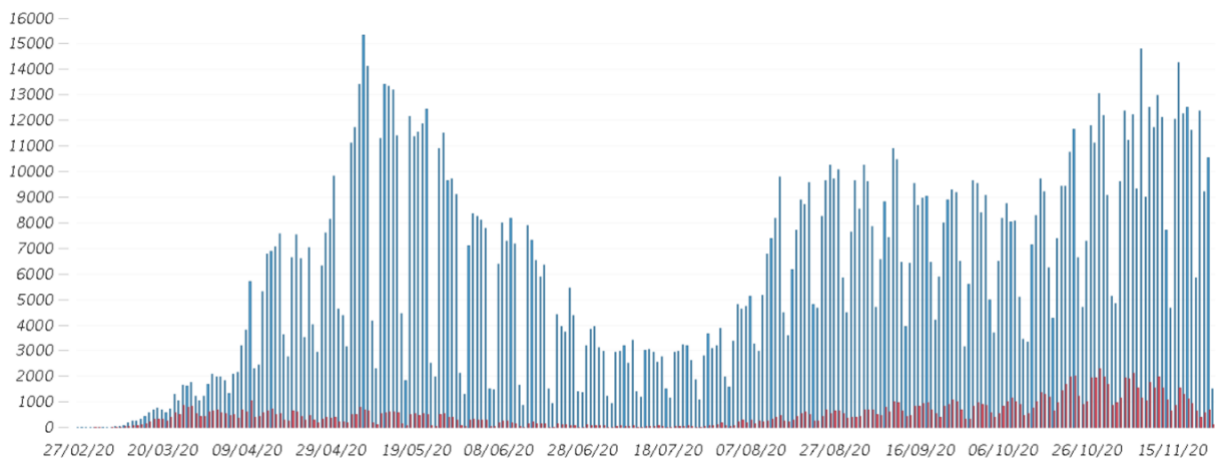


Ilustración 10: Comparación de pruebas realizadas (azul) y pruebas positivas (rojo) en coronavirus en Castilla y León desde el comienzo de la pandemia hasta el 25 de noviembre de 2020. Fuente: CATIA.

En Castilla y León se han registrado 124.337 personas diagnosticadas de infección por coronavirus desde el inicio de la pandemia hasta el 25 de noviembre de 2020, 117.597 fueron diagnosticadas mediante PDIA (desde el 11 de mayo de 2020). El resto de los casos puede que se haya visto posteriormente la presencia de anticuerpos frente al covid-19. Las provincias con mayor incidencia de infección por coronavirus fueron Valladolid (28.649 casos), Burgos (21.436 casos) y León (20.329 casos). A la vista de los resultados obtenidos en nuestro estudio podemos afirmar que en aquellas provincias con mayor número de casos positivos fue donde más pruebas diagnósticas se realizaron (Burgos, Valladolid y León) (Tabla 2). Dentro de las diferentes pruebas, la PCR fue la más realizada en estas provincias. Provincias como Palencia y Segovia que tuvieron una IA/100.000 habitantes muy alta desde el inicio de la pandemia realizaron un número muy alto de pruebas de diagnóstico molecular TMA y PCR. Estas pruebas fueron realizadas únicamente en los hospitales y complejos asistenciales por la necesidad de laboratorios que analicen la muestra obtenida. La PCR y demás pruebas de detección molecular son el gold estándar para el diagnóstico de infección activa del SARS-CoV-2. Al inicio de la pandemia era la prueba de elección para casos sospechosos y estudio de contactos (13,28).

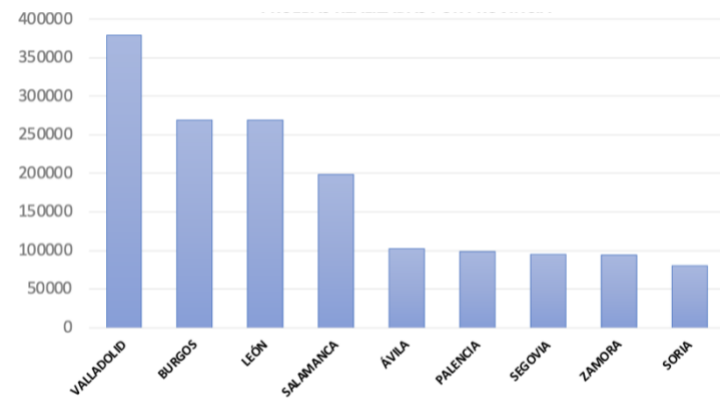


Ilustración 11: Número de pruebas realizadas por provincia durante el periodo de estudio. Fuente propia.

Los primeros meses desde el inicio de la pandemia, las pruebas serológicas llegaron a usarse como prueba de cribado en lugares con incidencia alta y a personal sanitario como control. La capacidad de detección de IgM hacía que pudiera utilizarse como prueba de infección activa en las urgencias hospitalarias y atención primaria (28). De las pruebas serológicas la más utilizada fue el test rápido de detección de anticuerpos realizadas en los hospitales de Ávila y Soria y en las Gerencias de Salamanca, Burgos y Valladolid. A partir de septiembre de 2020 esta prueba fue relegada por el test de detección de antígenos mucho más específico como PDIA y con más sensibilidad en los pacientes con clínica sospechosa

de covid-19 en los mismos escenarios que la anterior. Otras formas de detección de anticuerpos son el ELISA y la citometría de flujo que únicamente se realizaron en hospitales, ya que requieren de laboratorio para el procesamiento y análisis de las pruebas. Estas pruebas son usadas fundamentalmente para el estudio de inmunidad una vez pasada la infección y comprobar que los pacientes están inmunizados frente al virus, o en aquellos casos sospechosos de infección por coronavirus con PDIA negativas y que ya han transcurrido los días suficientes para crear anticuerpos. Dentro de las pruebas para la detección de inmunidad, el ELISA es el método de elección (13).

Al igual que las pruebas de detección molecular, la prueba de detección rápida de antígenos fue realizada en los hospitales y Gerencias de Atención Primaria de las provincias con mayor incidencia de infección por SARS-CoV-2 como Valladolid, Salamanca, Burgos y León. La sencillez y rapidez de las técnicas rápidas de detección de antígenos, y la posibilidad de realizarlas tanto en las urgencias hospitalarias como en atención primaria por no necesitar laboratorios en el procesamiento del resultado, pasó a ser la PDIA más usada quedando las pruebas de detección molecular una prueba confirmatoria cuando la clínica y epidemiología era compatible con coronavirus pero la prueba de antígenos resultaba negativa (11,13).

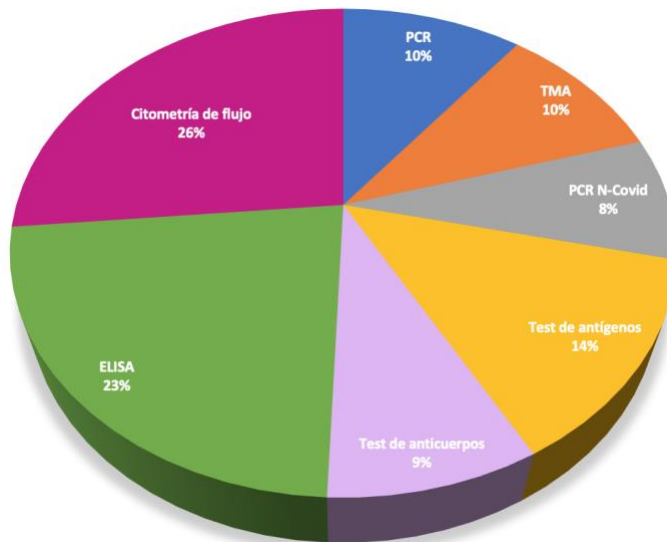


Ilustración 12: Porcentaje de positivos detectados en cada tipo de prueba en Castilla y León.

Según los datos del Ministerio de Sanidad, nuestra comunidad se sitúa el número seis en total de pruebas realizadas (1.060.631), pero la cuarta en casos diagnosticados (118.397) por detrás de comunidades como Madrid, Cataluña y Andalucía en el periodo de estudio. La prueba más realizada en el resto de comunidades fue la PCR (29,30).

V. CONCLUSIONES

- I. En la Comunidad de Castilla y León se realizaron un total de 1.590.093 pruebas para la detección del Coronavirus-19 desde el 13 de marzo al 25 de noviembre de 2020. De las cuales, 1.065.092 (70%) fueron pruebas diagnósticas de infección activa y 469.059 pruebas serológicas (30%).
- II. En nuestro periodo de estudio se obtuvieron globalmente 138.674 pruebas positivas (8,72%).
- III. De las pruebas existentes para la detección del SARS-CoV-2 en Castilla y León se han realizado PCR, TMA, GEN N-COVID, test de detección rápido de antígenos, test rápido de anticuerpos, ELISA y Citometría de flujo.
- IV. En los hospitales y complejos asistenciales de la comunidad se han utilizado las pruebas moleculares y pruebas serológicas (ELISA y citometría de flujo) que requieren laboratorio para su procesamiento. En las urgencias hospitalarias y Gerencias de Atención Primaria se realizaron técnicas de detección rápida de antígenos y anticuerpos principalmente. El test de antígeno rápido se comenzó a utilizar en septiembre de 2020 y se puede realizar en cualquier ámbito asistencial.
- V. Valladolid (378.768 pruebas), León (281.689) y Burgos (269.366) son las provincias que mayor cantidad de pruebas de detección realizaron en el periodo de nuestro estudio. Dichas provincias son las que más casos de infección por coronavirus-19 tuvieron.
- VI. Globalmente, las pruebas realizadas con mayor frecuencia en Castilla y León fueron PCR (886.840), Test de detección rápido de anticuerpos (301.996) y TMA (101.814).
- VII. Las pruebas de detección molecular diagnosticaron alrededor de un 10% de infectados por el coronavirus. El test de detección rápido de antígenos detectó un 15,36% de los pacientes sospechosos y contactos estrechos de pacientes infectados por el virus. Un 9% de positivos fueron detectados mediante la prueba de detección rápida de anticuerpos. Las pruebas ELISA y citometría de flujo son las que más porcentaje de casos positivos diagnosticaron con un 23,9% y 27,6% respectivamente.

VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Sebastian Kamps B, Hoffmann C. covid reference [Internet]. STEINHAUSER VERLAG; 2021. Disponible en: https://amedeo.com/CovidReference05_es.pdf
2. ITCoronavirus.pdf [Internet]. [citado 30 de marzo de 2021]. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/ITCoronavirus.pdf>
3. Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik YS, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative overview. :11.
4. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). J Gen Intern Med [Internet]. 4 de marzo de 2020 [citado 25 de febrero de 2021];1-5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7088708/>
5. Atzrodt CL, Maknojia I, McCarthy RDP, Oldfield TM, Po J, Ta KTL, et al. A Guide to COVID-19: a global pandemic caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2. Febs J [Internet]. 23 de mayo de 2020 [citado 25 de febrero de 2021]; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7283703/>
6. Candel FJ, Barreiro P, Román JS, Abanades JC, Barba R, Barberán J, et al. Recommendations for use of antigenic tests in the diagnosis of acute SARS-CoV-2 infection in the second pandemic wave: attitude in different clinical settings. Rev Esp Quimioter [Internet]. 2020 [citado 9 de abril de 2021];33(6):466-84. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7712344/>
7. Bustin SA, Nolan T. RT-qPCR Testing of SARS-CoV-2: A Primer. Int J Mol Sci. 24 de abril de 2020;21(8).
8. LabCorp COVID-19 RT-PCR test - EUA Summary. 2020;28.
9. Onoda M. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO DE COVID-19. :15.
10. Ji T, Liu Z, Wang G, Guo X, Akbar khan S, Lai C, et al. Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives. Biosens Bioelectron [Internet]. 15 de octubre de 2020 [citado 7 de abril de 2021];166:112455. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7371595/>
11. SEIMC A. ESTRATEGIA DE DETECCIÓN PRECOZ, VIGILANCIA Y CONTROL DE COVID-19 [Internet]. 2020. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf
12. Nagura-Ikeda M, Imai K, Tabata S, Miyoshi K, Murahara N, Mizuno T, et al. Clinical Evaluation of Self-Collected Saliva by Quantitative Reverse Transcription-PCR (RT-qPCR), Direct RT-qPCR, Reverse Transcription–Loop-Mediated Isothermal Amplification, and a Rapid Antigen Test To Diagnose COVID-19. J Clin Microbiol [Internet]. 24 de agosto de 2020 [citado 8 de febrero de 2021];58(9). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7448663/>
13. Actualizacion_pruebas_diagnostico.pdf [Internet]. [citado 9 de abril de 2021]. Disponible en: https://www.ciencia.gob.es/stfls/MICINN/Ministerio/FICHEROS/Actualizacion_pruebas_diagnostico.pdf
14. Pham J, Meyer S, Nguyen C, Williams A, Hunsicker M, McHardy I, et al. Performance Characteristics of a High-Throughput Automated Transcription-Mediated Amplification Test for SARS-CoV-2 Detection. J Clin Microbiol. 22 de septiembre de 2020;58(10).
15. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. JAMA [Internet]. 9 de junio de 2020 [citado 10 de marzo de 2021];323(22):2249. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2765837>
16. Directrices de Laboratorio para la Detección y Diagnóstico de la Infección con el Nuevo Coronavirus 2019 (2019-nCoV) - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. [citado 14 de marzo de 2021]. Disponible en:

<https://www.paho.org/es/documentos/directrices-laboratorio-para-deteccion-diagnostico-infeccion-con-nuevo-coronavirus-2019>

17. Aplicaciones de CRISPR en tiempos de COVID-19 - [Internet]. [citado 10 de abril de 2021]. Disponible en: https://genotipia.com/genetica_medica_news/crispr-covid-19-coronavirus/

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* [Internet]. agosto de 2020 [citado 12 de marzo de 2021];129:104455. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7240272/>

19. Drain PK, Ampajwala M, Chappel C, Gvozden AB, Hoppers M, Wang M, et al. A Rapid, High-Sensitivity SARS-CoV-2 Nucleocapsid Immunoassay to Aid Diagnosis of Acute COVID-19 at the Point of Care: A Clinical Performance Study. *Infect Dis Ther* [Internet]. 24 de febrero de 2021 [citado 20 de abril de 2021];1-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7904038/>

20. Zhong L, Chuan J, Gong B, Shuai P, Zhou Y, Zhang Y, et al. Detection of serum IgM and IgG for COVID-19 diagnosis. *Sci China Life Sci* [Internet]. 25 de marzo de 2020 [citado 14 de marzo de 2021];1-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7140589/>

21. Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B, Zhang J, et al. Antibody Detection and Dynamic Characteristics in Patients with COVID-19. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* [Internet]. 19 de abril de 2020 [citado 14 de marzo de 2021]; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7188146/>

22. Gambino CM, Lo Sasso B, Colomba C, Giglio RV, Agnello L, Bivona G, et al. Comparison of a rapid immunochromatographic test with a chemiluminescence immunoassay for detection of anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG. *Biochem Medica*. 15 de octubre de 2020;30(3):030901.

23. folleto-eg-117-2021-01-22.pdf [Internet]. [citado 14 de marzo de 2021]. Disponible en: <https://www.csic.es/sites/default/files/folleto-eg-117-2021-01-22.pdf>

24. Versión enviada [Internet]. [citado 14 de marzo de 2021]. Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/medrxiv/early/2020/08/25/2020.08.24.20180661.full.pdf>

25. Documento_MEDIDAS.pdf [Internet]. [citado 9 de abril de 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Documento_MEDIDAS.pdf

26. Manejo_primaria.pdf [Internet]. [citado 9 de abril de 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Manejo_primaria.pdf

27. Protocolo_manejo_clinico_ah_COVID-19.pdf [Internet]. [citado 9 de abril de 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Protocolo_manejo_clinico_ah_COVID-19.pdf

28. 20200709_COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf [Internet]. [citado 9 de abril de 2021]. Disponible en: https://www.semg.es/images/2020/Coronavirus/20200709_COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf

29. Actualizacion_258_COVID-19.pdf [Internet]. [citado 9 de abril de 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Actualizacion_258_COVID-19.pdf

30. COVID-19_pruebas-diagnosticas_03_12_2020.pdf [Internet]. [citado 9 de abril de 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID-19_pruebas-diagnosticas_03_12_2020.pdf

