

Papel del Laboratorio en el diagnóstico y seguimiento de la COVID persistente

Dr. Enrique Rodríguez Borja

Servicio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular
Hospital Clínico Universitario de Valencia (HCUV)

17 Julio 2023

**¿Que pasó en los
Laboratorios
durante la Pandemia?**

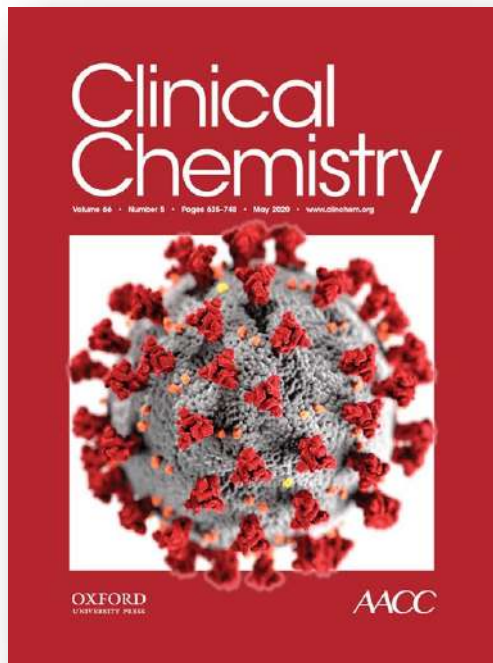
SEGUNDO CASO CONFIRMADO EN LA COMUNITAT

Un periodista que viajó a Milán para seguir al Valencia CF, primer caso del virus en València

[Valencia Plaza](#)

CORONAVIRUS





Who should be offering SARS-CoV-2 testing and in what settings should it be performed?

Yang Pan: The virological, epidemiologic, and clinical settings determine the preferred flow of SARS-CoV-2 testing. In the first stage of the outbreak in China, all tests were completed by the China CDC and public health laboratories. Over time, sustained cross-regional transmission was observed. In this situation, a rapid diagnostic test becomes an essential component of patient management during the outbreak. Limited testing in centralized laboratories becomes no longer ideal, as this requires specimen transport, extends turnaround time, and increases biosafety concerns. Given the high rate of circulation in China at this time, all qualified laboratories, including CDC laboratories, public health laboratories, hospital clinical laboratories, and independent laboratories should provide in vitro diagnostic services for this outbreak. At this moment, what we know is the faster we confirm an infection, the fewer people may be infected.

Carmen Charlton and Nathan Zelyas: At the current stage of the outbreak, it makes sense for public health

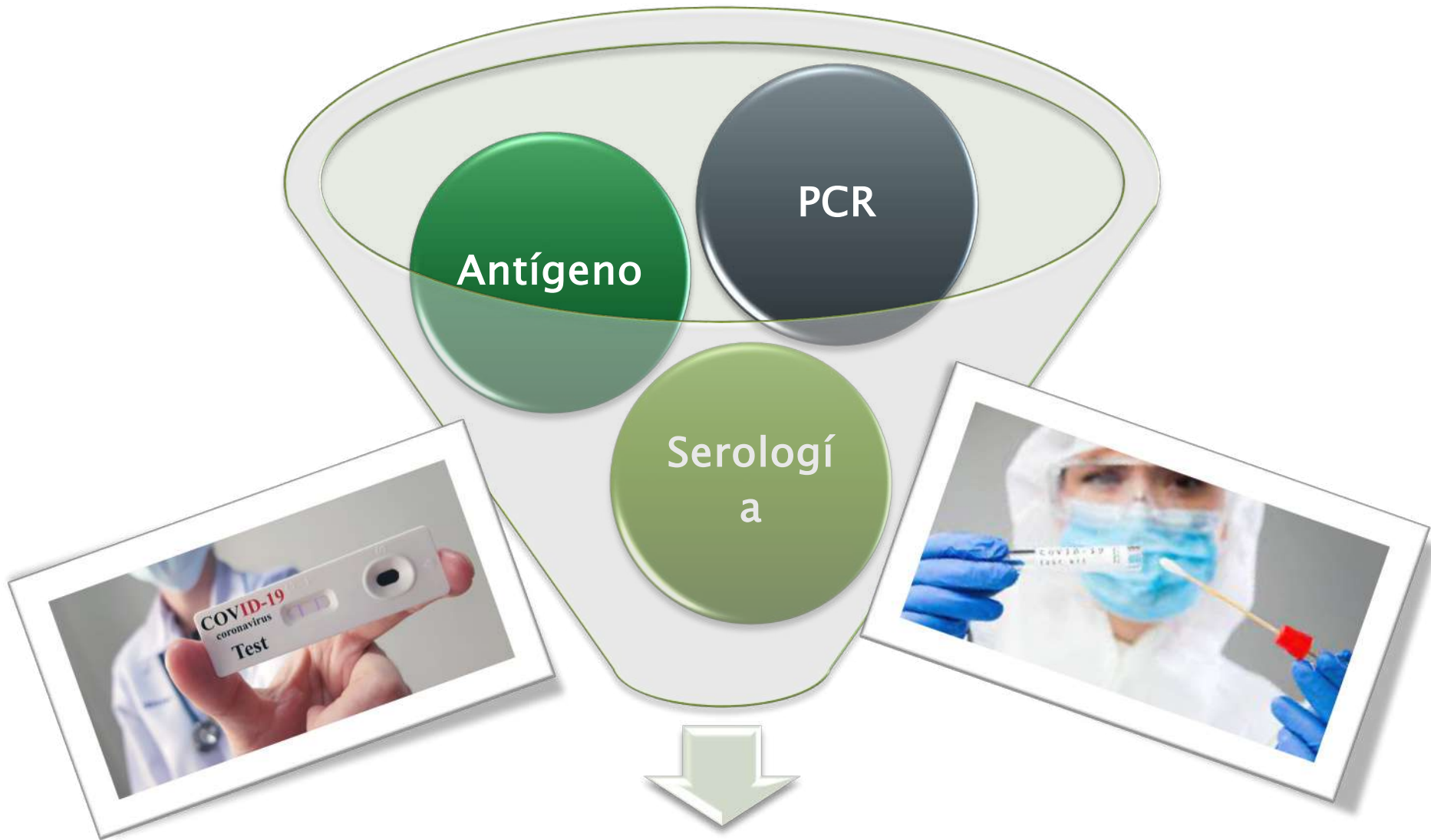
the
ne
US
pre
ren
tes
me
we
lic
clo
ide
is
me
tu
po
cal
he
if

W
pr
pa
ha

[Inicio](#) > [Actualidad](#)

El ISCIII valida 11 nuevos laboratorios de centros de investigación y universidades para hacer test PCR

24 Abril 2020: Tan solo 24 centros habilitados por ISCIII.
5.000 pruebas/día



COVID19



281.100 Descargas versión Castellano

132.652 Descargas versión Inglés

COVID-19. Perspectiva desde el laboratorio clínico
Daniel Pineda Tenor, Enrique Rodríguez Borja, Santiago Prieto Menchero.
VOLUMEN 1, NÚM. 1, enero-abril (2020), PAG. 32-37

DIAGNÓSTICO

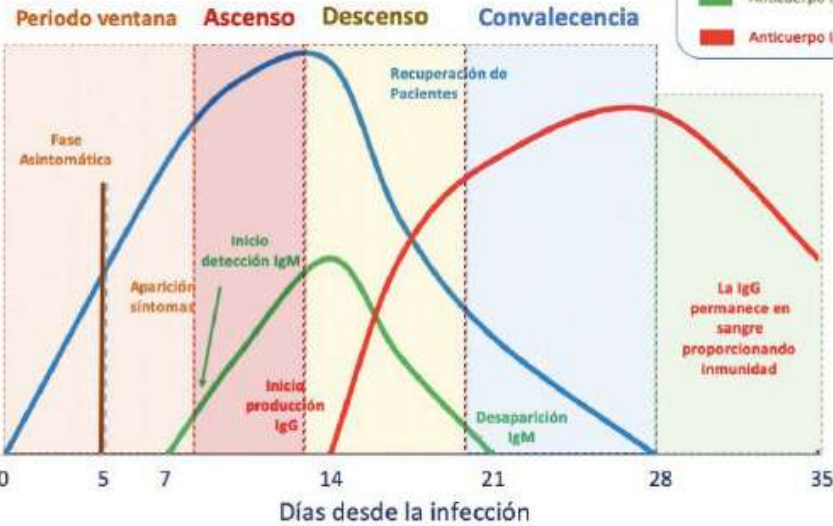
rRT-PCR

La técnica de confirmación de casos COVID-19 se basa en la detección de

Dianas de amplificación:
ORF 1a | ORF 1b | RdRp | E | N



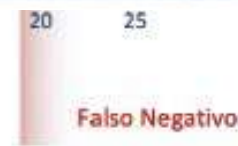
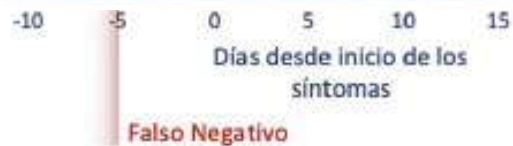
Redibujado de COVID-19 IgM/IgG Rapid diagnostic test, Biopanda Reagent.



- SARS-CoV-2 RNA y antígeno
- Anticuerpo IgM
- Anticuerpo IgG

Resultado			Significado Clínico Probable
PCR	IgM	IgG	
-	-	-	Negativo
+	-	-	Periodo ventana
+	+	-	Estadio temprano de la infección
+	+	+	Fase activa de la infección
+	-	+	Fase final o infección recurrente
-	+	-	Estadio temprano con falso negativo PCR
-	-	+	Infección pasada
-	+	+	Fase de recuperación

Exudado faríngeo: 32%
Heces: 29%
Sangre: 1%
Orina: 0%

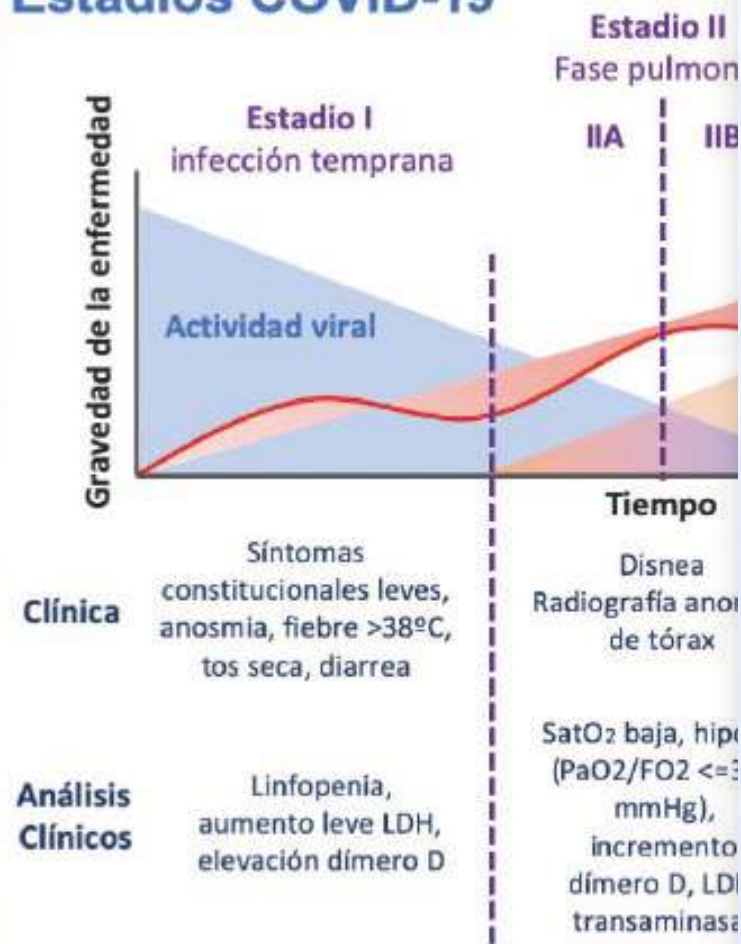


(si es posible) y/o aspirado endotraqueal, especialmente en pacientes con enfermedad respiratoria grave.

Wang et al. JAMA. 2020 Mar 11

Redibujado de Lippi et al. Clin Chem Lab Med. 2020 Mar 15;0(0)

Estadios COVID-19



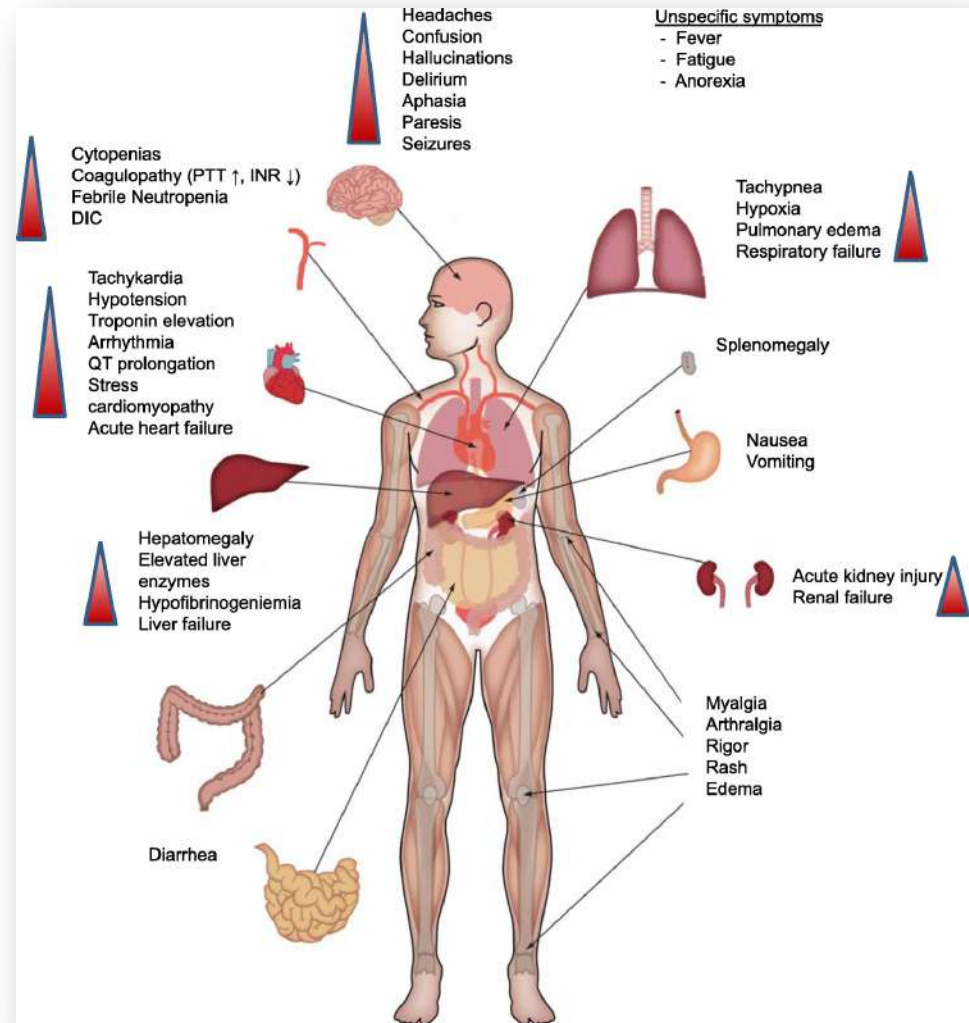
Predictores de mal pronóstico



Se recomienda tratamiento Tocilizumab con valores de IL-6 >40 pg/mL

“Tormenta Citoquinica”

- ▶ Fenómeno sistémico
- ▶ 4 - 10 días tras infusión Terapia CAR-T
- ▶ Fiebre $>40^{\circ}$ común
- ▶ Formas más graves...
 - Hipertensión
 - Hipoxia
 - Fallo multiorgánico



TRANSPORTE DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Categorización

Las muestras biológicas procedentes de pacientes infectados o con sospecha de infección por el SARS-CoV-2 son clasificadas como **sustancias infecciosas de categoría B**

Embalaje de las muestras

Seguir la **instrucción de embalaje P650** del Acuerdo ADR que se aplica a la norma **UN 3373** para el embalaje de sustancias peligrosas:

Triple envase robusto y a prueba de fugas, con capacidad del recipiente primario no superior a 1 litro y un volumen enviado que no exceda los 4 litros o Kg por paquete. No computa el peso del hielo seco para refrigerar las muestras

El triple envase constará de:

1. Recipiente primario estanco
2. Embalaje secundario estanco
3. Embalaje exterior rígido

El hielo o hielo seco empleado para refrigerar la muestra nunca debe ir en el interior del embalaje secundario.

La información que acompaña a las muestras debe colocarse entre el embalaje secundario y el embalaje exterior.



Tipo de muestra	Medio de Transporte de Virus	Condiciones de transporte: Muestra biológica categoría B
Muestras respiratorias		
Exudado nasofaríngeo/orofaríngeo	Sí	Refrigerado a 4°C en 24-48h
Aspirado/lavado nasofaríngeo	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Lavado broncoalveolar	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Aspirado endotraqueal	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Espujo	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Otras muestras		
Suero (2 muestras en fases aguda y convaleciente a los 14-30 días respectivamente)	No	Refrigerado a 4°C
Biopsia/Necropsia de pulmón	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Sangre completa	No	Refrigerado a 4°C
Orina	No	Refrigerado a 4°C
Heces	No	Refrigerado a 4°C

**¿Qué impacto
económico ha tenido?**

The European IVD Market



La eclosión del Laboratorio

IVD MARKET PER CAPITA 2020 (EUR)



ii
Incremento
del 50,3% !!

7

13

France 24

Spain 22

Portugal 22

La eclosión del Laboratorio

IVD Market per Capita 2021 (EUR)



1727 M€
(1,7% gasto sanitario)

Country	Total Tests 2021	Total Tests 2020	Growth rate 21-20
Source: ECDC; *Our World in Data			
United Kingdom*	343.554.199	48.972.436	602%
France	148.436.784	33.651.450	341%
Austria	115.889.875	3.747.074	2993%
Italy	114.406.110	20.887.600	448%
Greece	104.759.764	3.432.711	2952%
Denmark	95.106.382	10.576.739	799%
Turkey*	94.520.585	24.464.277	286%
Germany	57.414.318	36.088.129	59%
Spain	46.894.218	21.486.152	118%
Czechia	41.832.831	4.736.765	783%
Netherlands	29.968.706	8.372.650	258%
Portugal	20.937.405	5.724.026	266%
Poland	20.019.974	7.886.328	154%
Cyprus	16.727.060	939.253	1681%
Romania	12.391.363	1.940.112	539%
Slovenia	12.068.113	755.813	1497%
Switzerland*	11.090.167	3.288.431	237%
Slovakia	11.053.154	1.256.833	779%
Sweden	10.737.369	4.093.604	162%
Norway	10.052.849	3.069.032	228%
Ireland	7.625.591	2.472.349	208%
Belgium	6.324.519	7.010.457	-10%
Bulgaria	6.276.243	1.093.797	474%
Finland	6.255.010	2.512.145	149%
Croatia	5.194.645	1.084.453	379%
Lithuania	2.916.002	1.577.134	85%
Hungary	2.798.321	1.799.526	56%
Luxembourg	2.168.275	1.656.550	31%
Estonia	1.881.816	550.121	242%
Latvia	1.114.303	475.460	134%
Malta	1.023.883	527.375	94%
Iceland	944.683	429.819	120%
Total	1.362.384.517	266.558.601	411%

¿Post-COVID o
Long-COVID?

Intercambiables

ICD-10

- Código diagnóstico 9.9
- “Post COVID-19 condition”

OMS

... nuevos síntomas 3
SARS-CoV, con una
... tra explicación”.

CDC

... rollo de nuevos signos, síntomas
... tras infección SARS-CoV con una
... ón de al menos 4 semanas”.

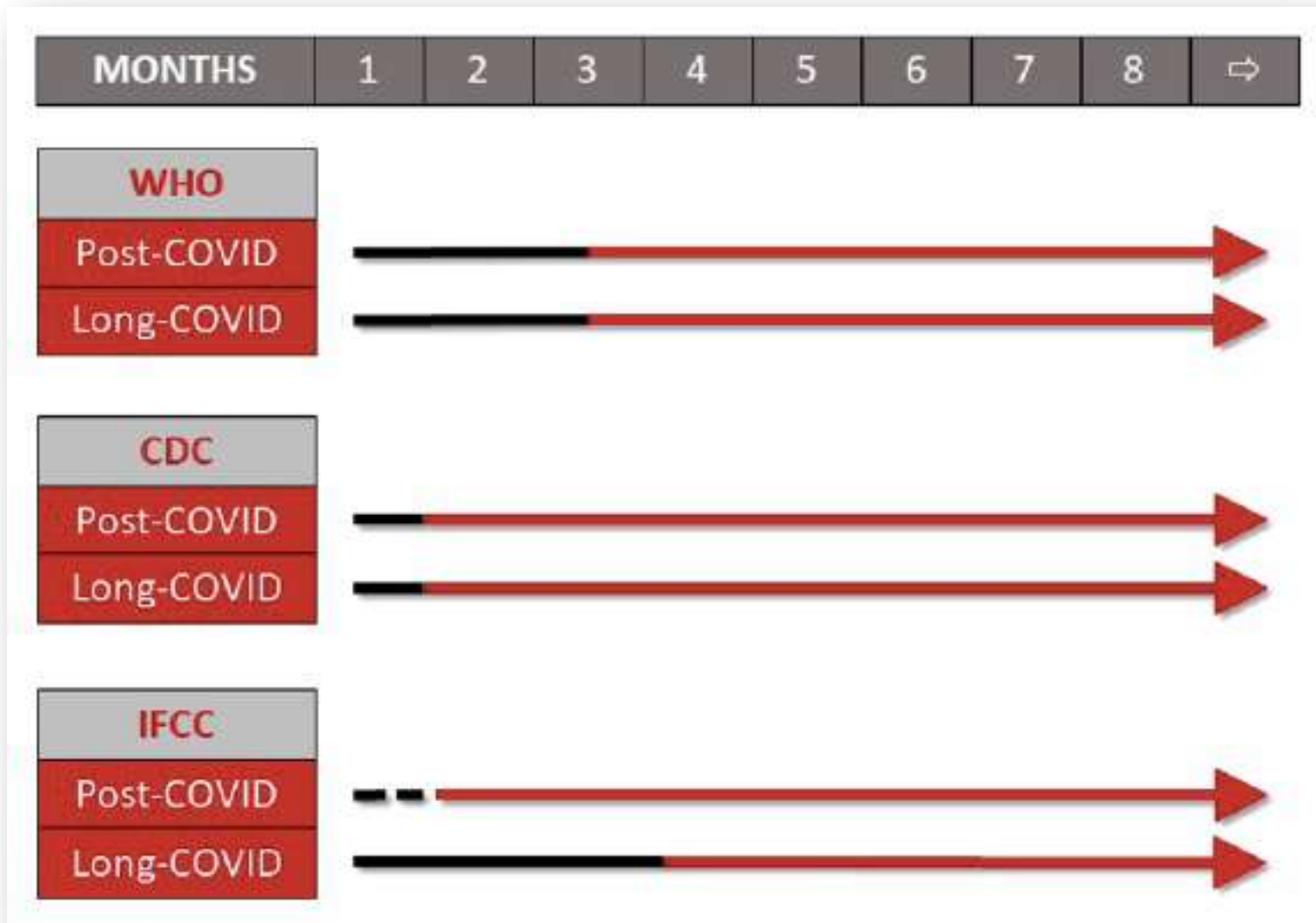
¡¡25% de errores de clasificación y diagnóstico!!

Términos diferentes



Post COVID

- Continuación de signos, síntomas o incluso anomalías radiológicas o de laboratorio de una infección SARS-CoV, **SIN IMPORTAR SU DURACIÓN**





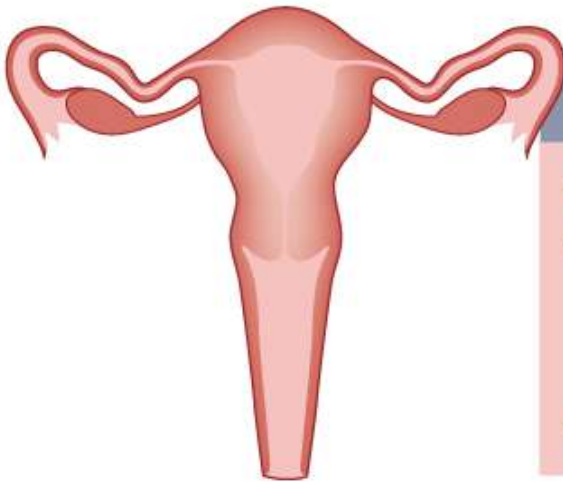
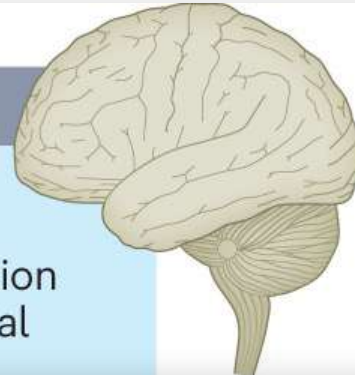
**65 millones
habitantes
LONG COVID**

Mayor porcentaje de diagnósticos entre 36 - 50 años

Mayoría de casos en NO hospitalizados con COVID leve aguda (*)

Neurological system

- Cognitive impairment
- Fatigue
- Disordered sleep
- Memory loss
- Tinnitus
- Dysautonomia
- ME/CFS
- Neuroinflammation
- Reduced cerebral blood flow



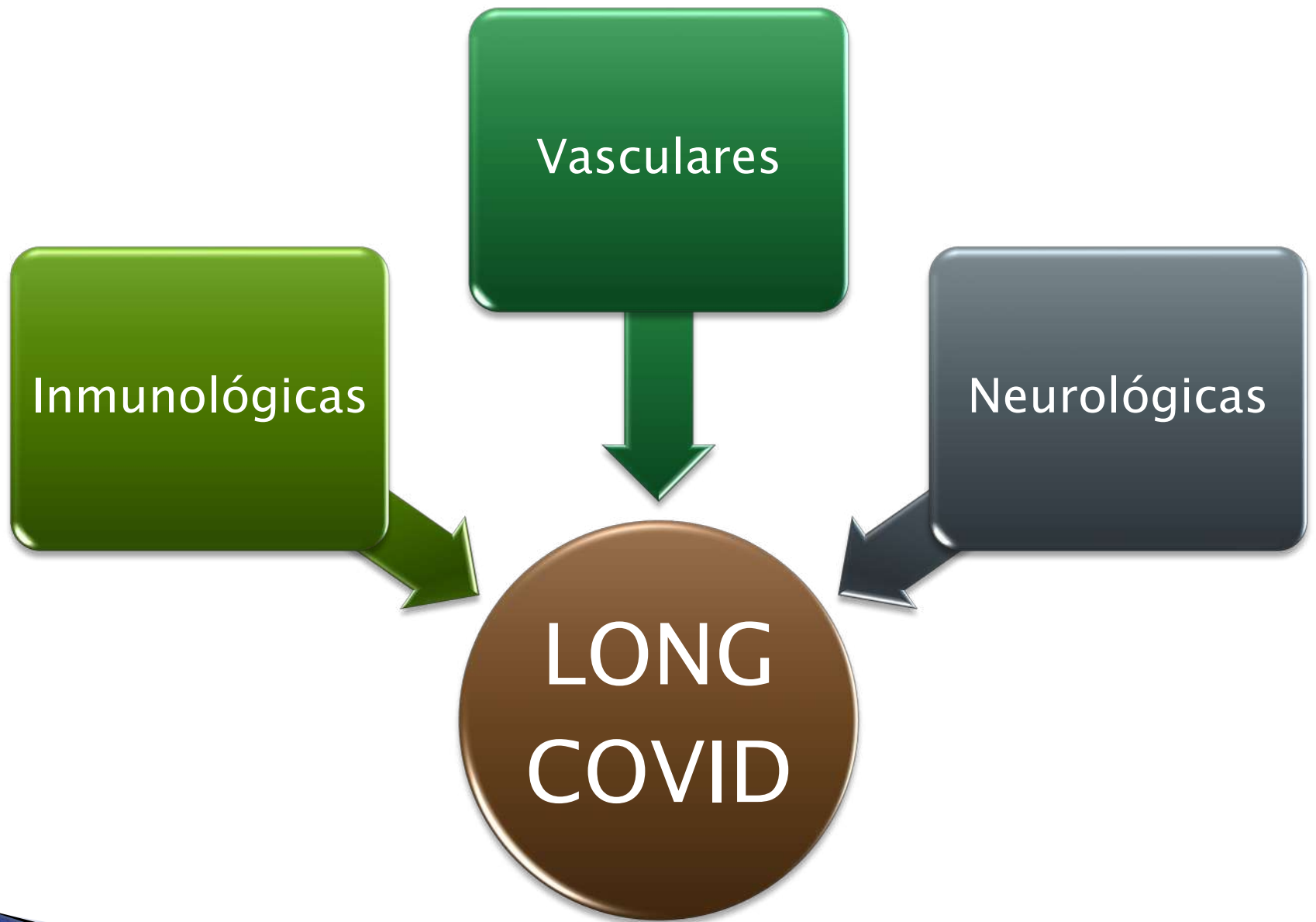
Reproductive system

- Erectile dysfunction
- Increased severity and number of premenstrual symptoms
- Irregular menstruation
- Reduced sperm count

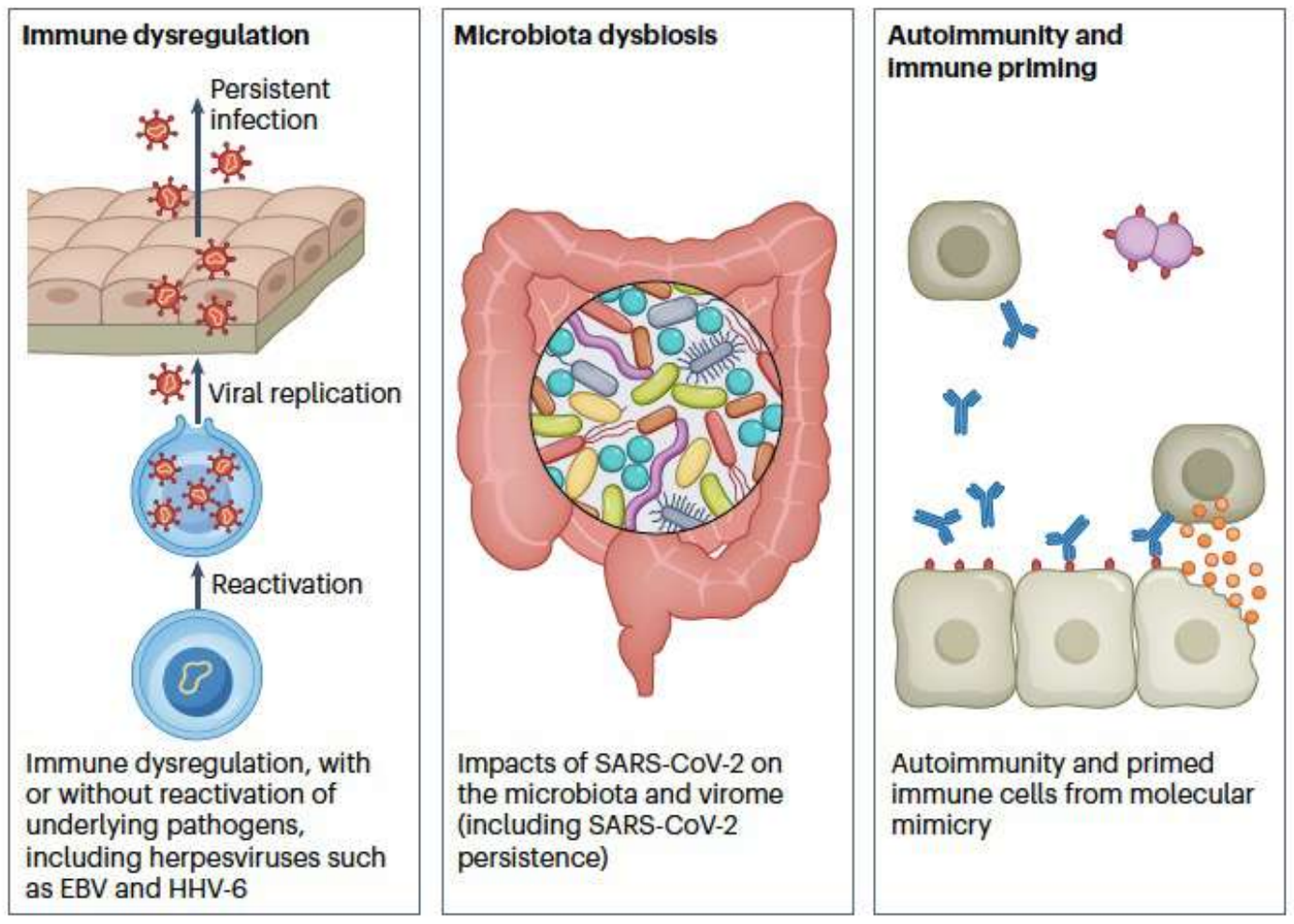
- Fatigue
- Coagulopathy
- Deep vein thrombosis
- Endothelial dysfunction
- Microangiopathy
- Microclots
- Pulmonary embolism
- Stroke



Mecanismos patogénicos



Causas Inmunológicas



Desregulación Inmunológica

Células inmunes

- Células T “exhaustas”
- Descenso CD4 y CD8 de memoria
- Aumento activación Células Innatas

Citoquinas

- Aumento IL-1 β , IL-6, TNF e IP10
- Aumento de IFN β e IFN λ 1

Reactivación Viral

- Reactivación EBV y HH-V6
- Asociado a síntomas neurológicos

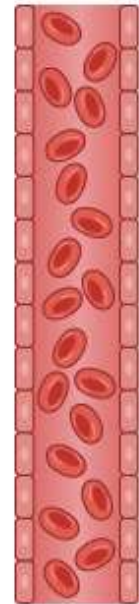
Autoanticuerpos

- Anti ACE2, Anti β 2-adrenoceptor, Anti muscarinic M2 receptor, Anti angiotensin II AT1 receptor y the angiotensin 1-7 MAS receptor...entre otros

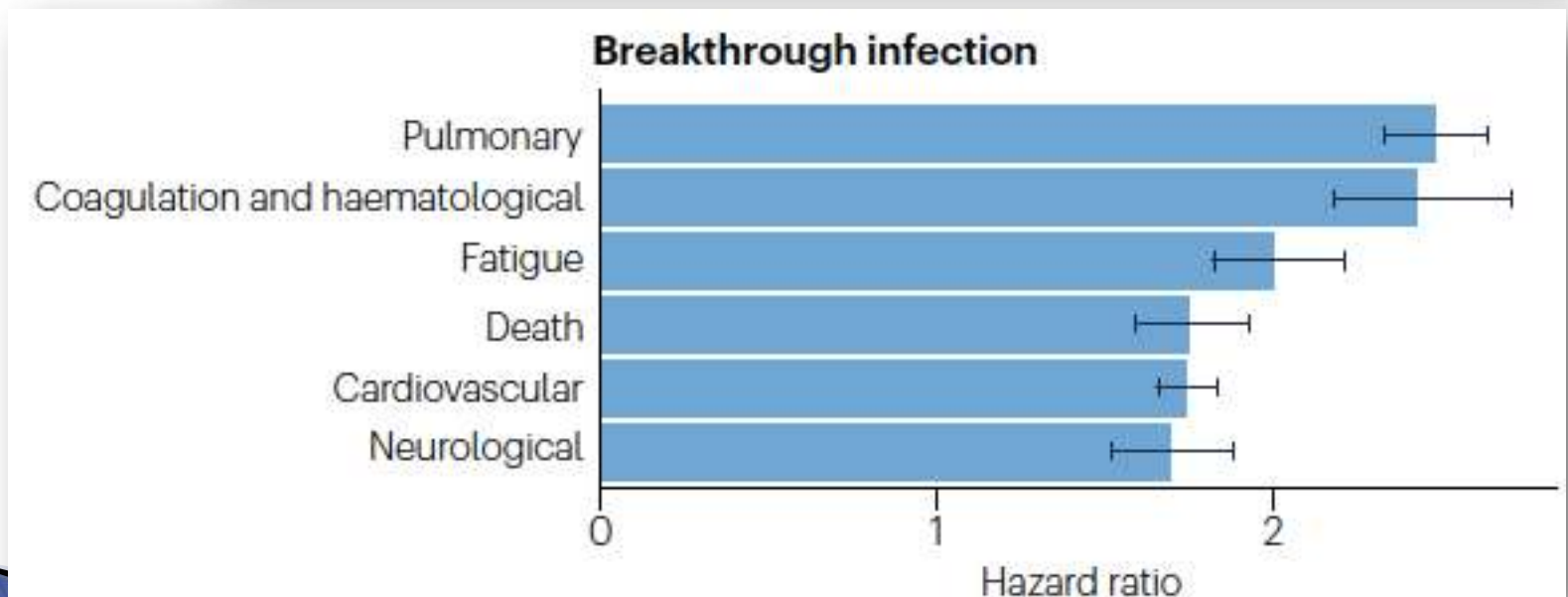
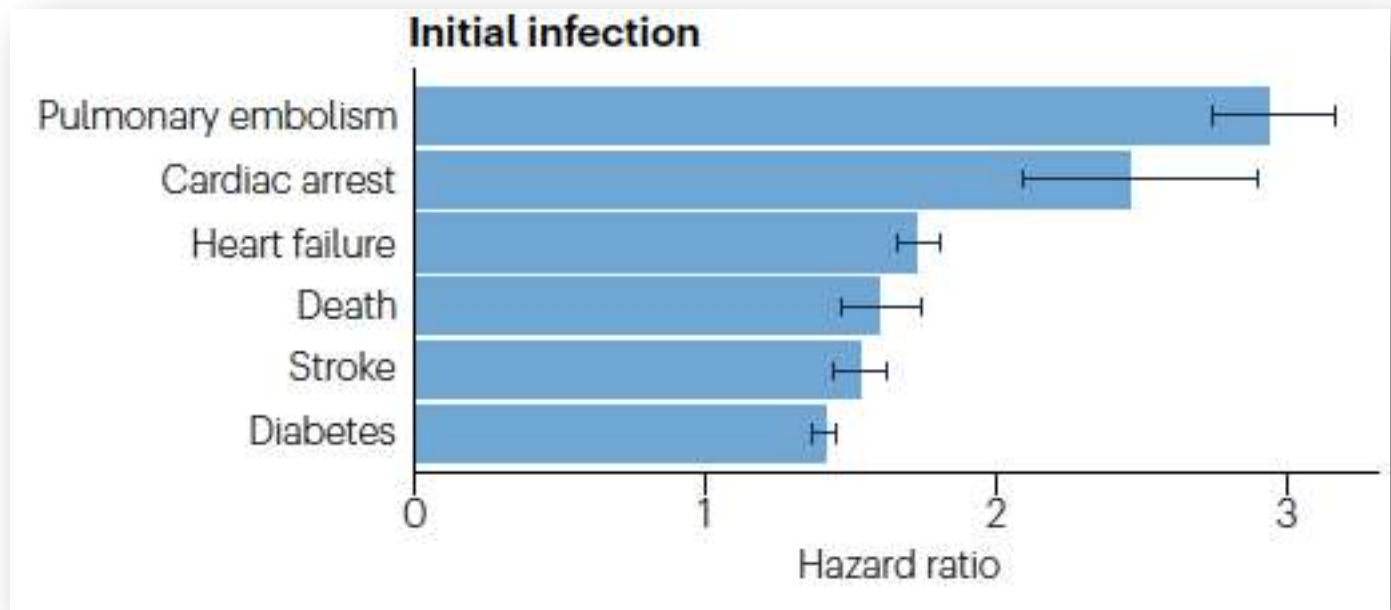
Daño vascular y orgánico

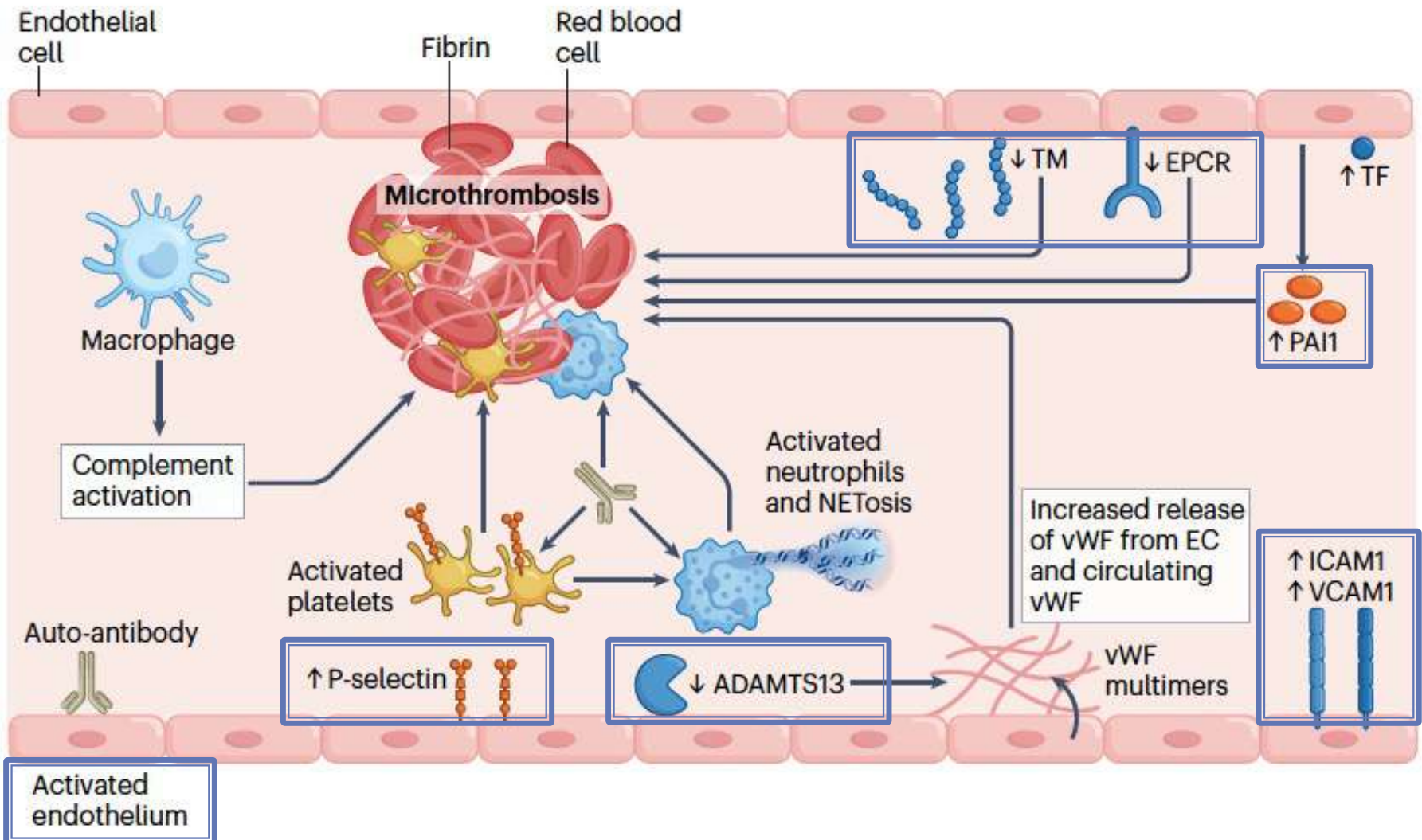
- ▶ Debido a la inflamación y a la respuesta inmune al virus
 - TVP, EP y sangrado
- ▶ **ANG1 y P-selectina:** Marcadores de angiogénesis predictores
- ▶ *Vet.Affairs:* 150.000 individuos con mayor riesgo CV tras 1 post COVID.

Blood clotting and endothelial abnormalities



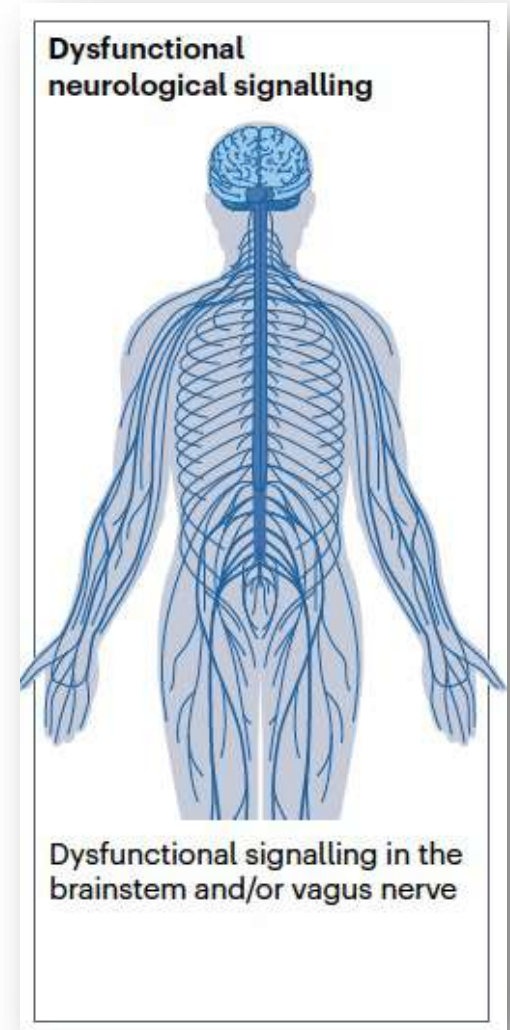
Microvascular blood clotting with endothelial dysfunction



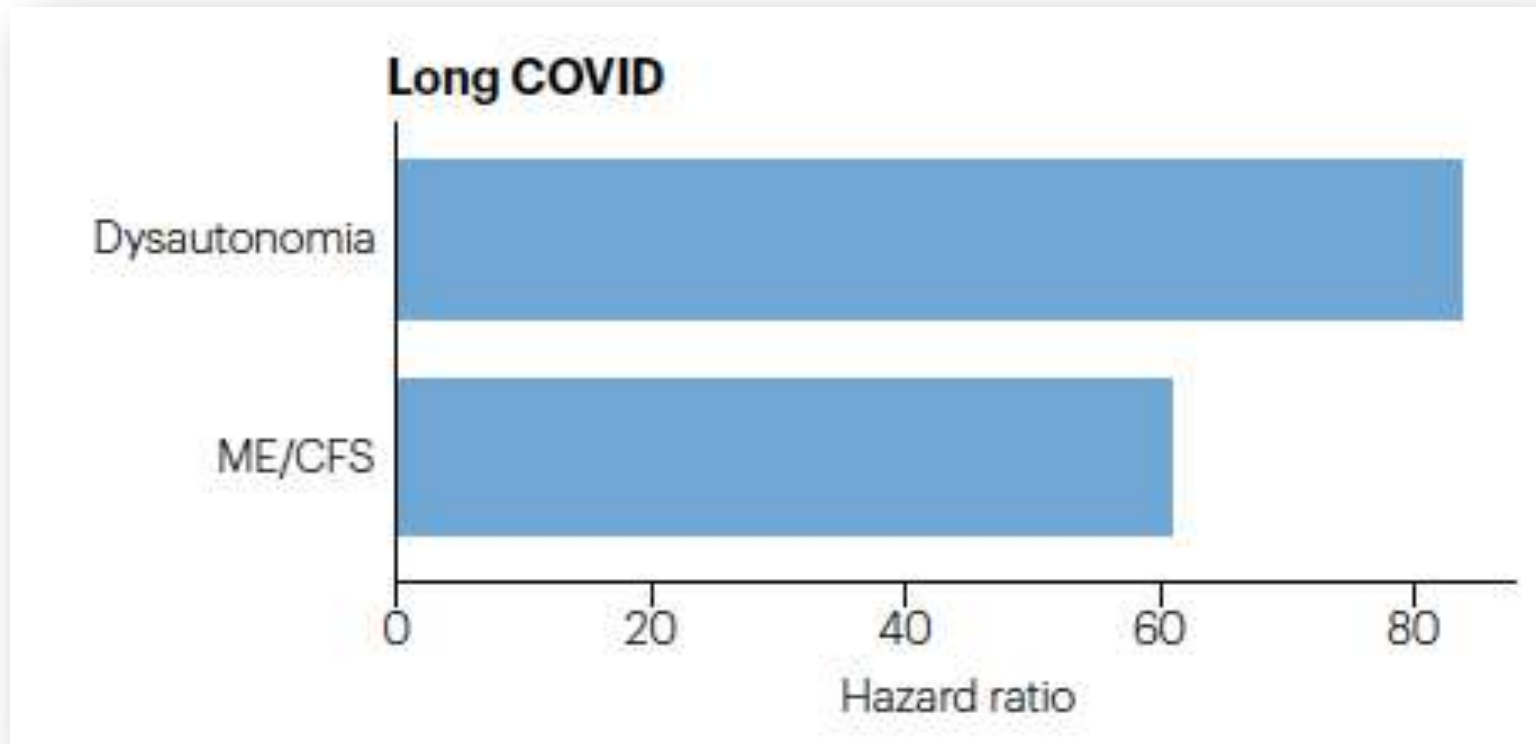


Afectación neurológica y cognitiva

- ▶ **Sintomatología frecuente**
 - Parestesia, daño cognitivo, hipersensibilidad...
- ▶ **Mecanismos**
 - Neuroinflamación
 - Daños por coagulopatías
 - Disfunción endotelial neuronal
- ▶ **Bajos niveles de Cortisol en Long COVID**



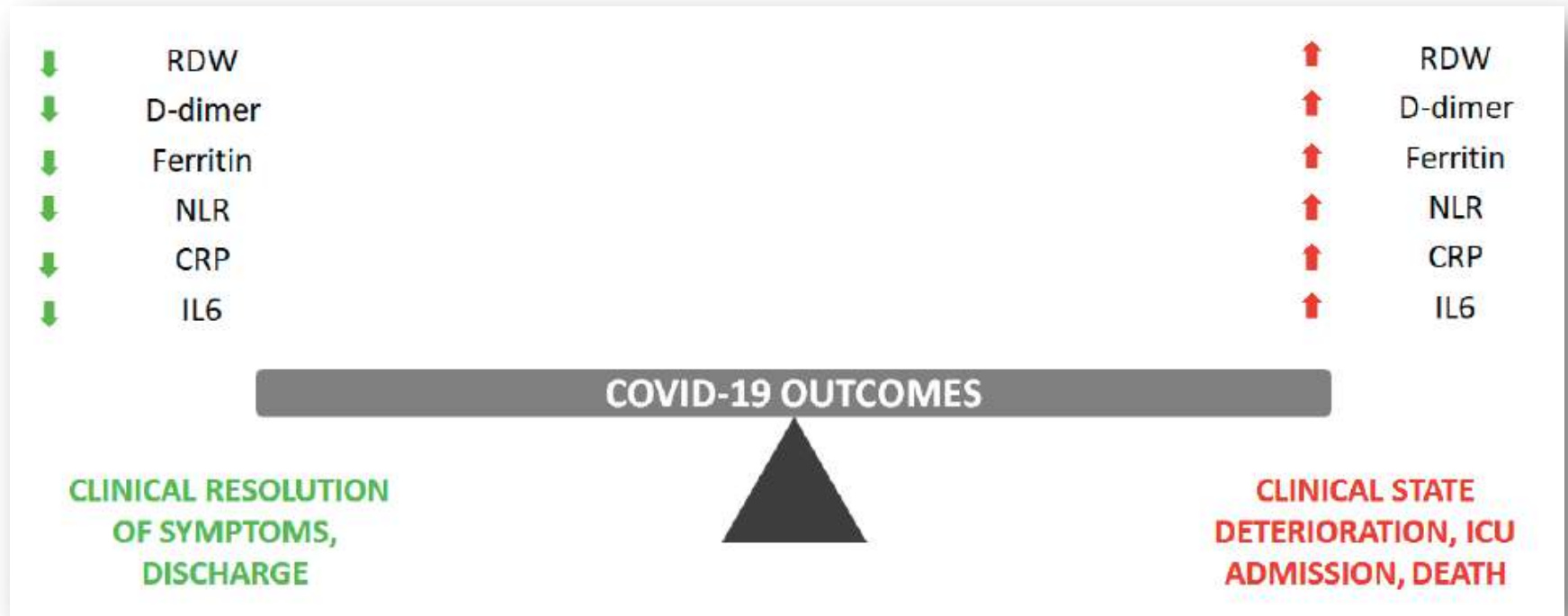
ME/CFS



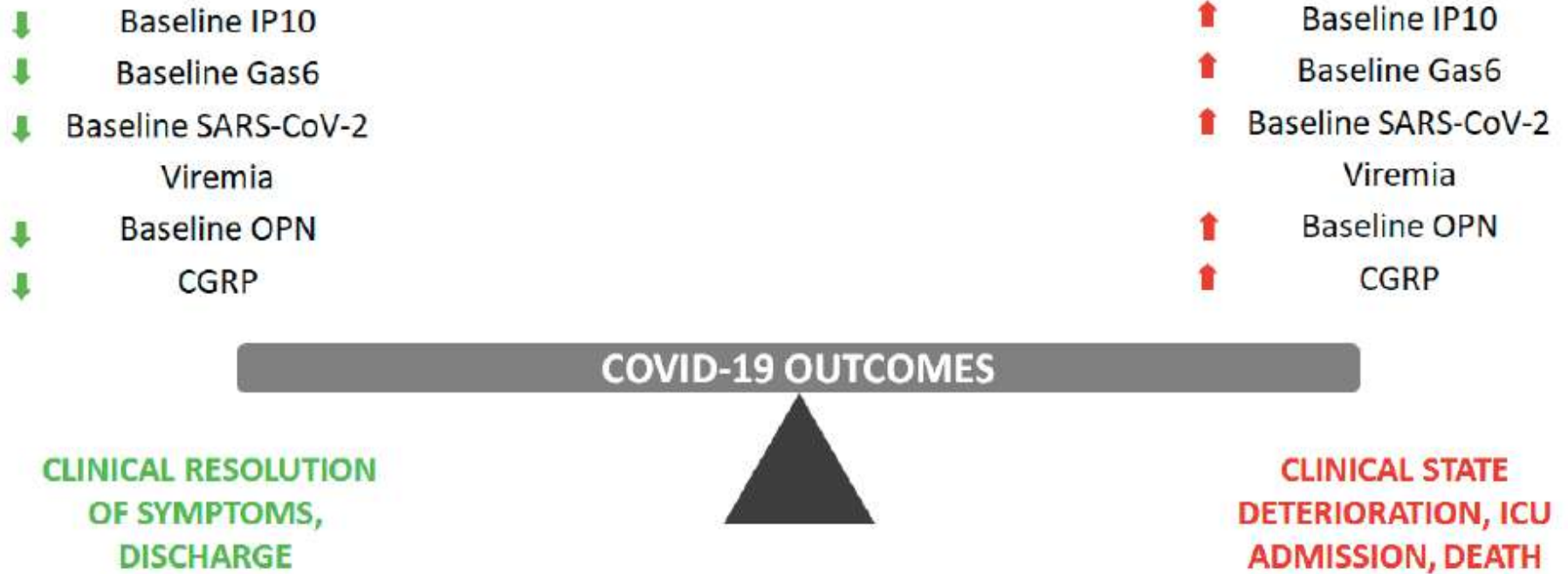
Se estima que la **MITAD** de los pacientes Long COVID cumplen criterios de CFS

Biomarcadores en Long COVID (LC)

Biomarcadores establecidos



Biomarcadores “Prometedores”



Biomarcadores “Prometedores”

IP10

- Quimioquina proinflamatoria (CXCL10)
- Predictor de mal pronóstico

Gas6

- Glicoproteína vit.K dependiente
- Relación directa con gravedad

OPN

- Citoquina inmunomoduladora
- Relación con el grado de fibrosis pulmón

CGRP

- Neuropeptido inmunomodulador
- Papel vasoactivo: Eventos vasculares

¿Y en el Long COVID?

> [Frontiers in medicine](#). 2023 Jan 20;10:1085988. doi: 10.3389/fmed.2023.1085988.
eCollection 2023.

Biomarkers in long COVID-19: A systematic review

Yun-Ju Lai ¹, Shou-Hou Liu ², Sumatchara Manachevakul ¹, Te-An Lee ² ³, Chun-Tse Kuo ²,
Dhimiter Bello ⁴

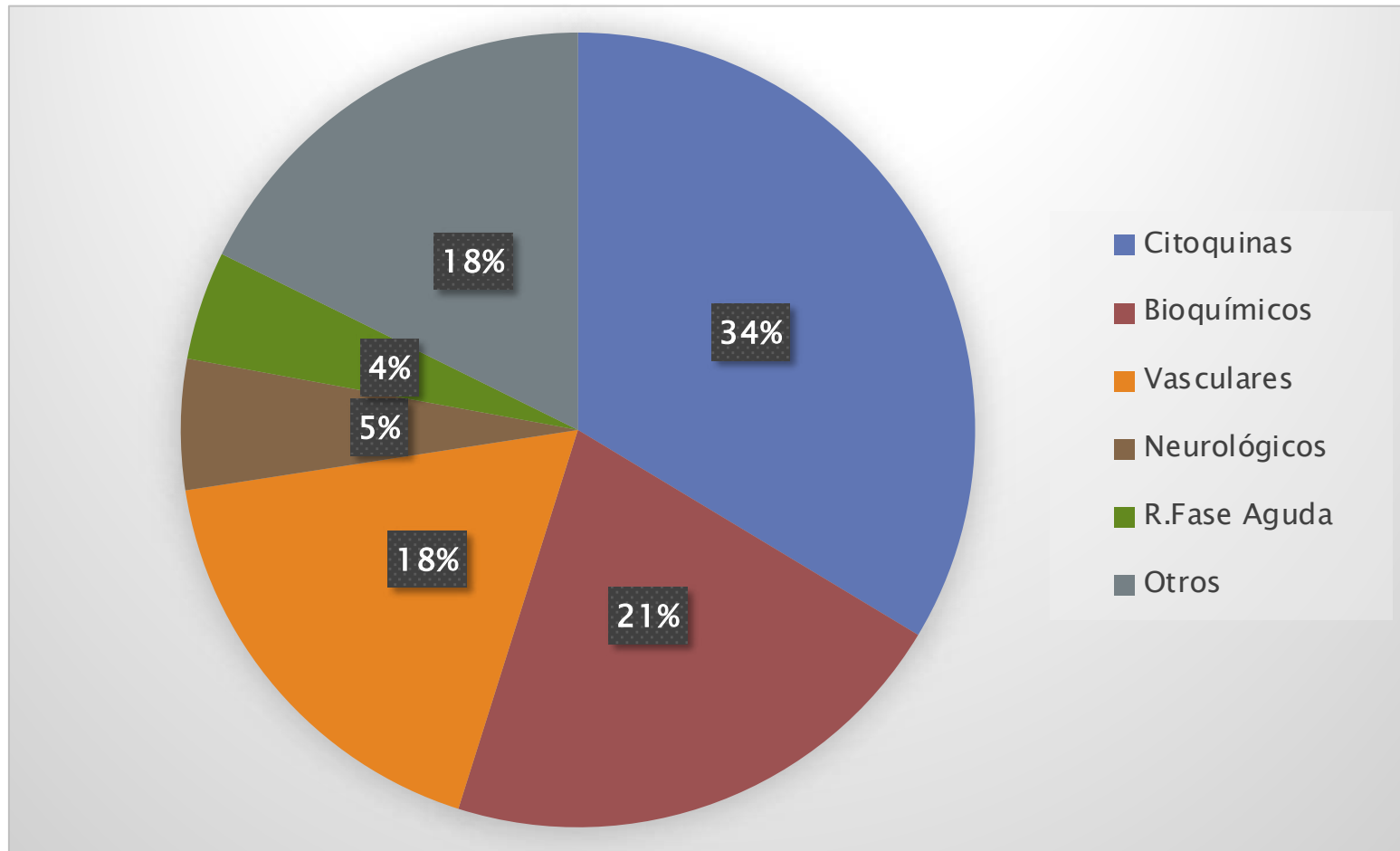
[Review](#) > [EBioMedicine](#). 2023 May;91:104552. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104552.

Epub 2023 Apr 8.

Cellular and molecular biomarkers of long COVID: a scoping review

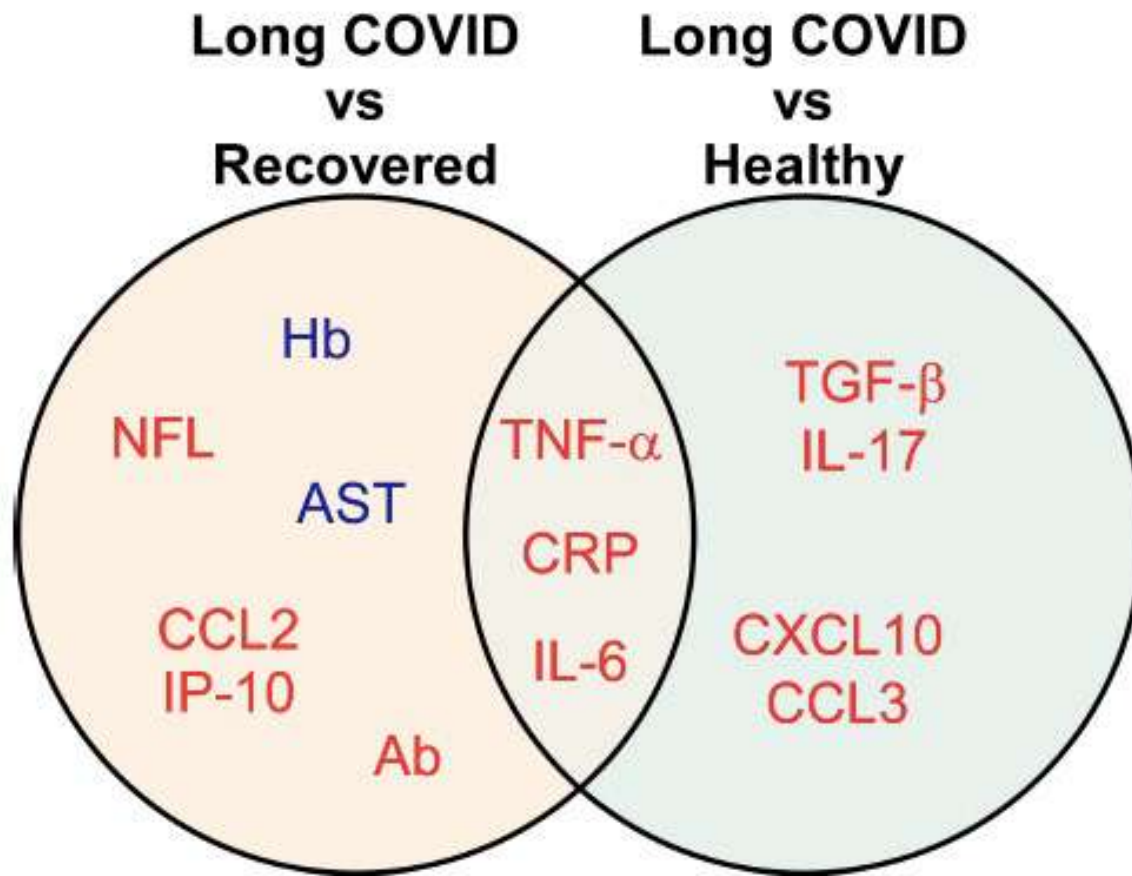
Estefanía Espín ¹, Chengliang Yang ², Casey P Shannon ¹, Sara Assadian ¹, Daniel He ¹,
Scott J Tebbutt ³

¿Y en Long COVID?



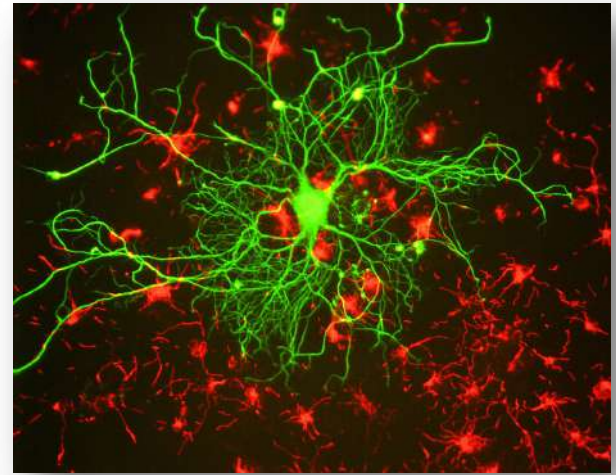
Category	Biomarker
Acute phase protein	Albumin, C5b-9, CRP, Ferritin, Fibrinogen
Biochemical marker	1-Methylnicotinamide, 2-Phenylphenol, 3,5-Dihydroxybenzoic acid, ADA, ALT, AST, β -glucan, CPA3, Glutamine/Glutamate ratio, Indole-3-lactic acid, L-Cystein, LDH, L-Glutamine, L-Methionine, Ornithine, Pipecolic acid, Quinolinic acid, Quinolinic acid/Tryptophan, Sarcosine, S-Sulfocysteine, ST1A1, Taurine, Tryptase, uPA
Cytokine/chemokine	CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL19, CCL20, CCL23, CXCL1, CXCL9, CXCL10, CXCL11, Flt3L, G-CSF, GM-CSF, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-10R β , IL-12 β , IL-13, IL-17, IL-18, IL-33, IP-10, M-CSF, SCF, TGF- α , TGF- β , TNF- α , TNF- β
Neurological marker	GDNF, GFAP, NGF- β , NFL, NT-3, pGFAP/pNFL
Vascular marker	Ang-2, Col1A2, Col3A1, D-dimer, ESR, ET-1, Factor VIII-C, Hemoglobin, MMP-1, MMP-9, MPO, NO, PDGF-BB, sICAM-1, sTM, sVEGFR, sVCAM-1, VEGF, VWF:Ag, VWF:pp
Others	Ab, ARTN, α -SMA, AXIN, CASP-8, CST-5, Cystatin C, Hs TnT, IGFBP-4, LBP, miRNA21, MRP8/14, NGAL, NT-proBNP/NT-BNP, OPG, OSM, SIRT2, STAMBP, TNFRSF9, Zonulin

Se estudian 113 biomarcadores, donde el 70% aparecen aumentados.

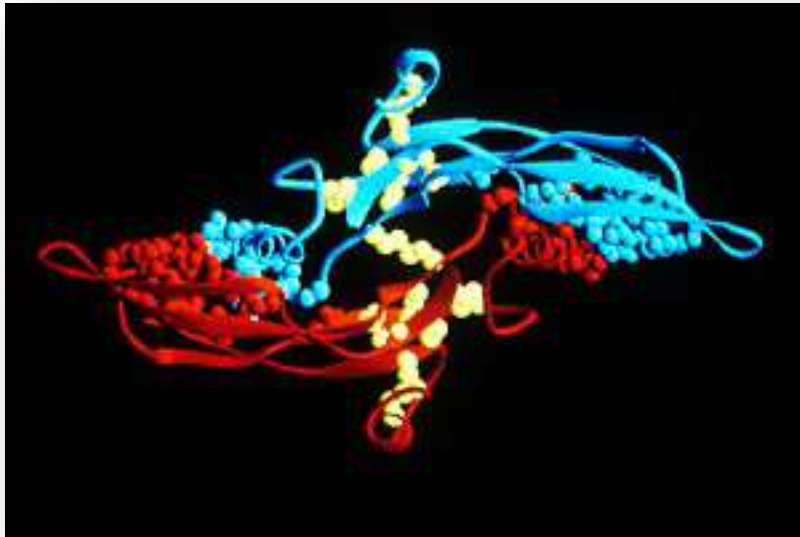


NF-L (Neurofilamento Ligero)

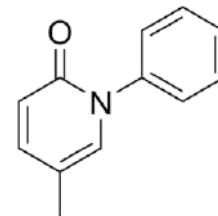
- ▶ Marcador de progresión de daño axonal y enfermedad neurodegenerativa
- ▶ Uso en ELA, EM, Alzheimer y Enf. Huntington
- ▶ Buena correlación LCR / plasma

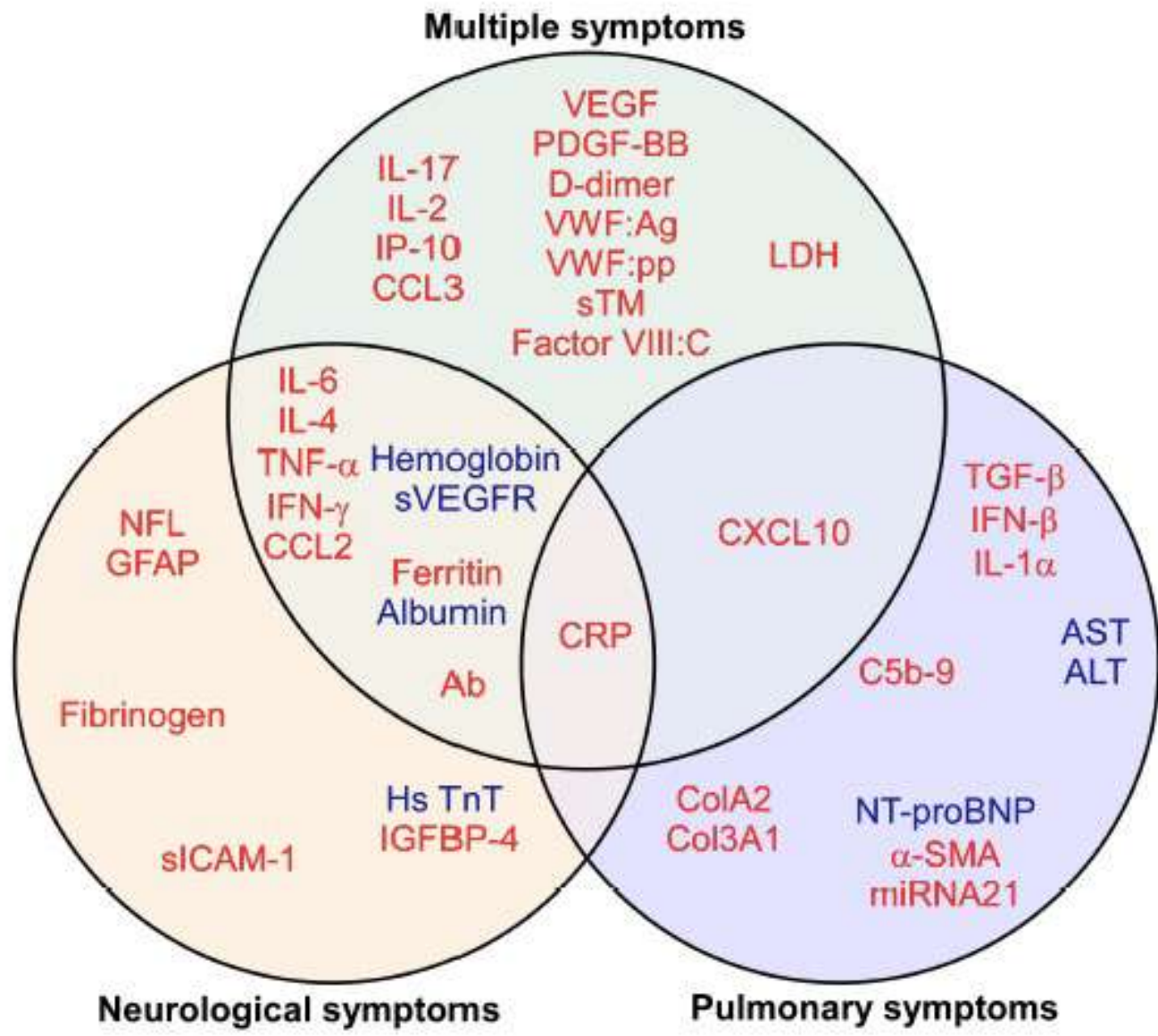


TGF- β



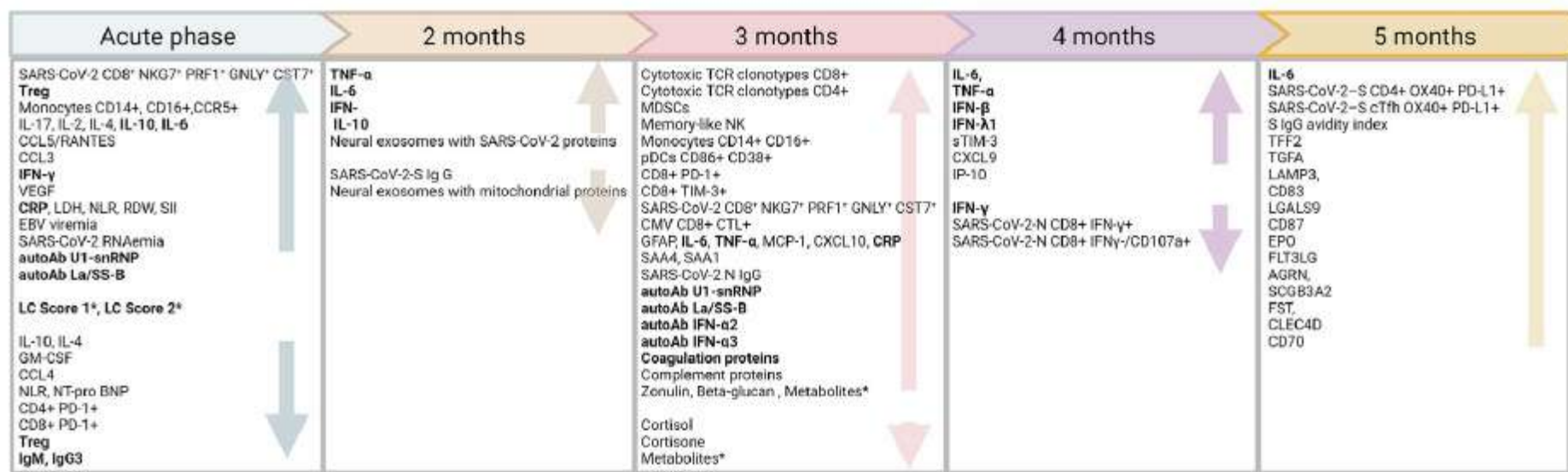
- ▶ Elevado en pacientes con riesgo de Fibrosis Pulmonar
- ▶ Citoquina de los macrófagos que promueve proliferación fibroblastos y síntesis de colágeno
- ▶ **Pirfenidona: Fármaco Antagonista de TGF- β**





¿Y en el Long COVID?

- ▶ 239 biomarcadores revisados
 - 19 evaluados mediante curvas ROCs
 - Dos scores y un modelo Random Forest LC son evaluados
- ▶ *Células del sistema inmune, Inmunoglobulinas, Citoquinas, Quimioquinas, Moléculas del Complemento, CDs, metabolitos, proteínas neuronales, reactantes de fase aguda, factores de crecimiento...*
- ▶ Marcadores por mes de evolución y por grupo de síntomas



- ▶ IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN-γ, CCL5/RANTES y CCL360
- ▶ **LC Score 1 AUC 0,77 episodio Agudo**
 - Edad, # síntomas agudos, historia de asma, IgM e IgG3.
- ▶ **LC Score 2 F1 0.95, SE 0.975, SP 1.0**
 - (IFN-g + IL-2)/CCL4-MIP-1b

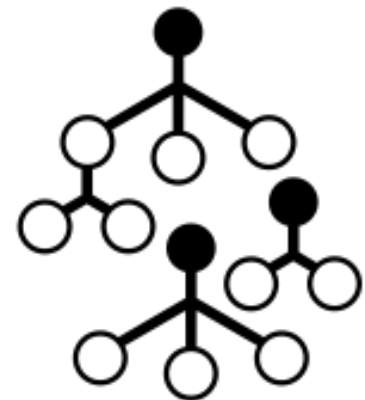
6 months	7 months	8 months	11 months	12 months
<p>SARS-CoV-2 IgG</p> <p>LC Score 1 *</p> <p>IgM</p> <p>IgG3</p> <p>SARS-CoV-2-S IgG</p>	<p>IL-6, CRP, vWF, CXCL4, α2AP</p> <p>Galectin-3-binding protein</p> <p>Thrombospondin-1,</p> <p>α1-acid glycoprotein 2,</p> <p>Inter-α-trypsin inhibitor h chain H1</p> <p>Inter-α-trypsin inhibitor h chain H2</p> <p>Apolipoprotein C-II</p> <p>Immunoglobulins*</p> <p>SARS-CoV-2 specific immune cells+</p> <p>CD4+ IL-2+</p> <p>Plasma kallikrein</p> <p>Lactotransferrin</p> <p>Adiponectin</p> <p>Apolipoprotein A</p> <p>α1-acid glycoprotein 1</p> <p>LPLCT_HUMAN / Long palate, lung and nasal epithelium carcinoma-associated protein 1</p>	<p>Peripheral endothelial dysfunction (ED)</p> <p>Endothelin-1 (ET-1)</p> <p>IFN-β</p> <p>IFN-λ1</p> <p>Panel(IIFN-β, PTX3, IFN-λ2/3, IL-6)</p> <p>Myeloid cells CD38+ HLA-DR+</p> <p>Monocytes CD14+ CD16+</p> <p>pDCs CD86+ CD38+</p> <p>CD8+ PD-1+</p> <p>CD8+ TIM-3+</p> <p>Angiotensin-2 (Ang-2)</p>	<p>CD3+ PD-1+</p> <p>Tregs CD4+ CD25+ CD127low</p> <p>CD8+</p> <p>CD8+ TEMRA</p> <p>CD8+ naive</p> <p>CD3+ CD8+ TCRγδ+</p> <p>CD3+ CD8- TCRγδ+</p> <p>NK CD56+</p> <p>NK CD56+ NKG2A- NKG2C+</p> <p>NK CD56+ CD57+ NKG2C+</p> <p>LC Score 3 (Random Forest Algorithm)</p>	<p>Hemoglobin</p> <p>WBC</p> <p>Lymphocyte count</p> <p>CD4+ GZMB+ perforin+</p> <p>CD8+ GZMB+ perforin+</p> <p>NK GZMB+ perforin+</p> <p>γδT GZMB+ perforin+</p> <p>NK CD57+</p> <p>CD8+ CD27- CD62L-</p> <p>CD8+ CD57+</p> <p>CD4+ KLRG-1+</p> <p>CD4+ TIM-3+</p> <p>CD8+ KLRG-1+</p> <p>CD8+ TIM-3+</p> <p>NKT TIM3+</p> <p>NKT NKP30+</p> <p>γδT CD57+</p> <p>γδT KLRG1+</p> <p>γδT TIM-3+</p> <p>γδT NKP30+</p> <p>CD4+ IL-17A+</p> <p>CD4+ IFN-γ+</p> <p>CD8+ IFN-γ+</p> <p>MDSCs</p> <p>CD8+ CD27+ CD62L+</p> <p>NK CD57+</p> <p>CD4+ perforin+</p> <p>CD8+ CD27+ CD62L+</p> <p>NK CD57+ and CD4+ perforin+</p> <p>Antinuclear antibodies</p> <p>NK NKP30+</p> <p>NK NKP46+</p> <p>CD8+ CD27+ CD62L+</p> <p>NKT NKB1+</p> <p>γδT NKB1+</p> <p>γδT CD27+</p> <p>CD8+ IL-2+</p> <p>SARS-CoV-2-S Ig G</p> <p>SARS-CoV-2-S Ig neutralizing</p>
<p>* PASC Score 1 = IFN-γ + IL-2/CCL4-MIP-1b PASC Score 2 = age, # symptoms acute, history of asthma, IgM, IgG3</p> <p>Neural exosomes ↑ NDEVs SARS-CoV-2-S1(RBD), ADEVs SARS-CoV-2-S1(RBD), NDEVs SARS-CoV-2-N, ADEVs SARS-CoV-2-N, NDEV SNPH, ADEV MCU.</p> <p>Neural exosomes ↓ NDEV NADH-ubiquinone oxidoreductase (Cl-6), NDEV Cytochrome b-c1 oxidase (CIII-10), NDEV-MOTS-c, NDEV-Humanin, NDEV VDAC1, NDEV NMDAR1, NDEV MCU, NDEV NCLX, NDEV LETM1</p> <p>Metabolites ↑ Kynurenine to Tryptophan ratio, L-Cystine, L-Glutamine, Quinolinic acid, Ornithine, 2-Phenylphenol, Quinolinic acid to tryptophan ratio. Metabolites ↓ Sarcosine, 1-Methylnicotinamide, 3,5-Dihydroxybenzoic acid, Indole-3-lactic acid, L-Methionine, Pipecolic acid</p> <p>Coagulation and complement proteins factor XIII A, Plasminogen, Fibrinogen α, α2AP, vWF, Complement component C7, Fibrinogen β, Coagulation factor XIII B, Complement component C6, Complement factor 1</p> <p>SARS-CoV-2 specific immune cells: SARS-CoV-2 CD4* and SARS-CoV-2-S CD8* expressing IFN-γ, TNF-α, and IL-2</p>				

- ▶ **LC Score 1 AUC 0,74 a los 6 meses**
 - Edad, # síntomas agudos, historia de asma, IgM e IgG3.
- ▶ **LC Score 3 RF. ACC 0,94**
 - Demográficos, Datos clínicos y subpoblaciones celulares

Persistent Overactive Cytotoxic Immune Response in a Spanish Cohort of Individuals With Long-COVID: Identification of Diagnostic Biomarkers

Miguel Galán ¹, Lorena Vigón ¹, Daniel Fuertes ², María Aránzazu Murciano-Antón ³, Guiomar Casado-Fernández ¹, Susana Domínguez-Mateos ³, Elena Mateos ^{1 4}, Fernando Ramos-Martín ¹, Vicente Planelles ⁵, Montserrat Torres ¹, Sara Rodríguez-Mora ^{1 4}, María Rosa López-Huertas ^{1 4}, Mayte Coiras ^{1 4}

- Female, O+,
- Lethargy, pleuritic chest pain, dermatological injuries, T_o, dyspnea, diarrhea, conjunctivitis, autoimmune disease, treated with corticosteroids, antibiotics, and/or vitamin D,
- Total NK cells CD56+, CD3-CD56+CD16+, CD56+NKG2A-NKG2C+, CD56+CD57+NKG2C+; CD3+PD-1+
- Total CD8+, CD8+ TEMRA, CD8±TCR $\gamma\delta$ +; CD4+ Tregs
- Cytotoxic activity against NK K562 and/or SARS-CoV-2-Vero E6 cells



Candidate biomarkers for Pulmonary/Respiratory LC

Immune cells

MDSCs, Memory-like NK, $\gamma\delta T$ CD27⁺
 CD4⁺ GZMB⁺ perforin⁺
 CD8⁺ GZMB⁺ perforin⁺
 NK GZMB⁺ perforin⁺
 $\gamma\delta T$ GZMB⁺ perforin⁺
 NK NKP30⁺
CD4⁺ perforin⁺
NK CD57⁺
 CD8⁺/ $\gamma\delta T$ CD57⁺
 NK/NKT/ $\gamma\delta T$ NKP30⁺
 NK NKP46⁺
 CD8⁺ CD27⁺ CD62L⁺
CD8⁺ CD27⁺ CD62L⁺
 CD4⁺/CD8⁺/ $\gamma\delta$ KLRG-1⁺
 CD4⁺/CD8⁺/NKT/ $\gamma\delta$ TIM-3⁺
 NKT/ $\gamma\delta T$ NKB1⁺
 CD4⁺ IL-17A⁺
 CD4⁺/CD8⁺ IFN- γ ⁺
 CD4⁺/CD8⁺ IL-2⁺
 SARS-CoV-2 CD4⁺/CD8⁺ IFN- γ ⁺
 SARS-CoV-2 CD4⁺/CD8⁺ TNF- α ⁺
 SARS-CoV-2-S CD4⁺/CD8⁺ IFN- γ ⁺
 SARS-CoV-2-S CD4⁺/CD8⁺ TNF- α ⁺
 SARS-CoV-2-N CD4⁺/CD8⁺ TNF- α ⁺
 SARS-CoV-2-M CD8⁺ TNF- α ⁺
 SARS-CoV-2-N CD4⁺ TNF- α ⁺
 SARS-CoV-2-N CD4⁺ IL-2⁺
 SARS-CoV-2-S TNF- α ⁺ IFN- γ ⁺ IL-2⁺
 SARS-CoV-2 CD8⁺ NKG7⁺ PRF1⁺ GNLY⁺
 CST7⁺

Immunoglobulins

autoAb U1-snRNP
 autoAb IFN- $\alpha 2$
 autoAb IFN- $\alpha 3$

Cytokines: IL-6

APP: CRP

Blood cell counts:

WBC

Lymphocyte count

Hormones:

cortisol, cortisone

Metabolites

S-sulfocysteine

Pathogen molecules

EBV viremia

Others: Hemoglobin



Candidate biomarkers for Neurologic LC



Neural exosomes & proteins
 GFAP, NDEV SNPH, NDEV NADH-ubiquinone oxidoreductase (CI-6),
 NDEV Cytochrome b-c1 oxidase (CIII-10), NDEV-MOTS-c, NDEV Humanin, NDEV VDAC1, NDEV NMDAR1, NDEV MCU, NDEV NCLX, NDEV LETM1

Metabolites

Kynurenine to Tryptophan ratio
 S-sulfocysteine

Cytokines & Chemokines

IL-6, TNF- α , MCP-1

Immunoglobulins

SARS-CoV-2 N IgG

Pathogen molecules

EBV viremia

SARS-CoV-2 RNAemia (nasal swab)

Candidate biomarkers for GI LC

Immune cells

Cytotoxic TCR clonotypes CD8⁺
 Cytotoxic TCR clonotypes CD4⁺
 SARS-CoV-2 CD8⁺ NKG7⁺ PRF1⁺



GNLY⁺ CST7⁺

CMV CD8⁺ CTL



Immunoglobulins

autoAb La/SS-B

Pathogen molecule

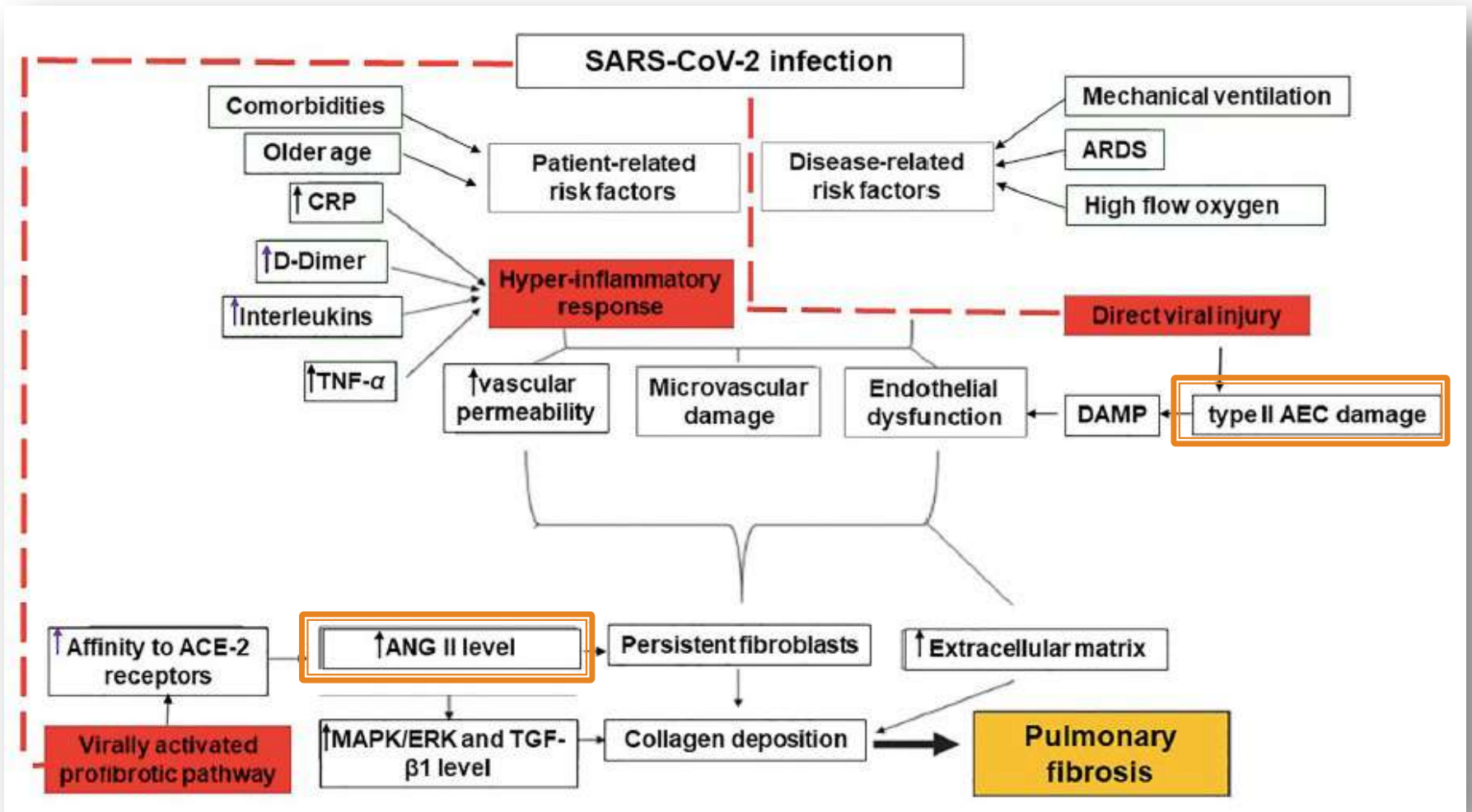
Beta-glucan

Candidate Biomarkers for Fatigue LC

EBV viremia

endothelin-1 (ET-1), angiotensin-2 (Ang-2), Endothelial dysfunction (ED)





> Arch Bronconeumol. 2022 Feb;58(2):142-149. doi: 10.1016/j.arbres.2021.08.014.
Epub 2021 Sep 3.

Lung Function, Radiological Findings and Biomarkers of Fibrogenesis in a Cohort of COVID-19 Patients Six Months After Hospital Discharge

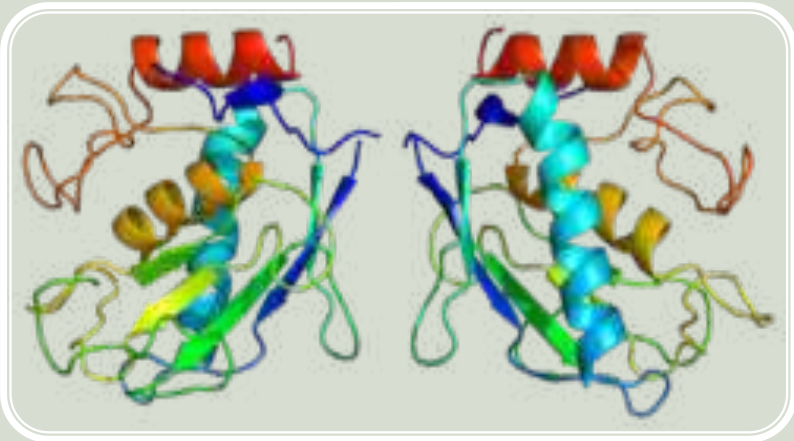
Belen Safont ¹, Julia Tarraso ¹, Enrique Rodriguez-Borja ², Estrella Fernández-Fabrellas ³,
Jose N Sancho-Chust ⁴, Virginia Molina ⁵, Cecilia Lopez-Ramirez ⁶, Amaia Lope-Martinez ²,
Luis Cabanes ⁷, Ada Luz Andreu ⁸, Susana Herrera ⁹, Carolina Lahosa ¹⁰, Jose Antonio Ros ¹¹,
Juan Luis Rodriguez-Hermosa ¹², Joan B Soriano ¹³, Ines Moret-Tatay ¹⁴,
Juan Antonio Carbonell-Asins ¹⁵, Alba Mulet ¹, Jaime Signes-Costa ¹⁶

- ▶ Mayores cambios profibróticos TAC y mayor gravedad se asoció a aumentos de **MMP-7**, **MMP-1** y **Periostina**.
- ▶ Una anormal capacidad de difusión pulmonar (DLCO < 80%) se asoció a aumentos de **MMP-7**, **sVEGF** y **Periostina**.

Biomarkers of Fibrosis in Patients with COVID-19 One Year After Hospital Discharge: A Prospective Cohort Study

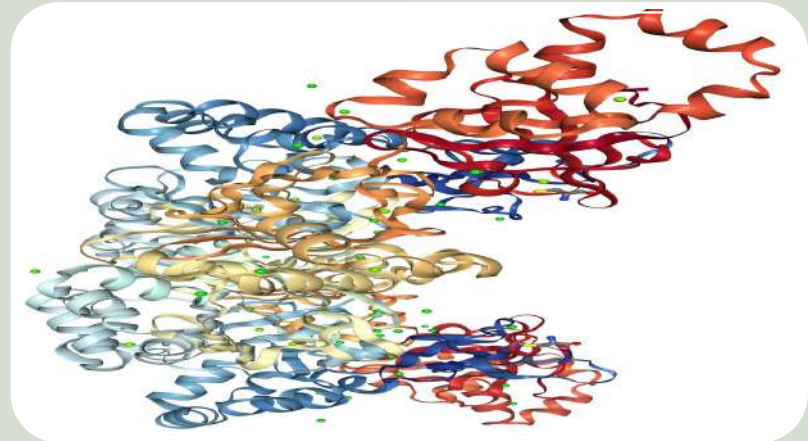
Alba Mulet ¹, Julia Tarrasó ², Enrique Rodríguez-Borja ³, Juan A Carbonell-Asins ², Amaia Lope-Martínez ⁴, Arancha Martí-Martínez ⁴, Rosa Murria ⁴, Belén Safont ², Estrella Fernandez-Fabrellas ⁵, José A Ros ⁶, Juan A Rodríguez-Portal ⁷, Ada L Andreu ⁸, Joan B Soriano ⁹, Jaime Signes-Costa ¹⁰

- ▶ A los 12 meses, un 30% continua con cambios fibróticos.
- ▶ **Periostina** a los dos meses tras alta predice cambios fibróticos y capacidad de difusión afectada (DLCO < 80%) a los 12 meses



MMP7

Asociada a rotura de matriz extracelular, proliferación celular e invasión tumoral.



PERIOSTINA

Implicada en remodelado tisular, reestructuración de la matriz extracelular y crecimiento tumoral.

Review

> Nat Rev Immunol. 2023 Jul 11. doi: 10.1038/s41577-023-00904-7.

Online ahead of print.

The immunology of long COVID

Daniel M Altmann ¹, Emily M Whettlock ², Siyi Liu ^{3 2}, Deepa J Arachchillage ^{4 5},
Rosemary J Boyton ^{2 6}

- ▶ Especial hincapié en la inducción de autoanticuerpos en pacientes Long COVID
- ▶ Relacionado con activación endotelial, miocarditis, POTS y neuroinflamación

Table 3 | Trials on long COVID

Trial	Rationale	Centre
Modulation of immunity or inflammation		
Anakinra	Anti-IL-1 mAb	AZ Sint-Jan Brugge Brugge, Belgium
Ibudilast	Anti-inflammatory phosphodiesterase inhibitor	University Health Network, Toronto, Canada
Immunoabsorption	Removal of auto-antibodies from blood	Charite, Berlin, Germany
Levonlimab	Target CCR5 receptor on T cells	Rheumatic Disease Specialties, Aventura, Florida, USA
Methylprednisolone	Synthetic glucocorticoid, anti-inflammatory, immunosuppressive	NIH Clinical Center, Bethesda MD, USA
Nivolumab or ipilumab	Immune-checkpoint blockade to enhance T cell immunity	Centro Ricerche Cliniche, Verona, Italy
NT-17	Human IL-7 to promote T cell development	NIH Clinical Center, Bethesda MD, USA
Pentoxifylline	Anti-inflammatory phosphodiesterase inhibitor	University Health Network, Toronto, Canada
Plasmapheresis	Remove auto-antibodies	Hospital Europeen, Marseille, France
Rinetolimod	Poly(I:C)-like TLR stimulation	Aim Immunotech, Ocala, Florida, USA
RSLV-132	RNAse 1 IgG-Fc fusion protein to block TLR activation	Resolve Therapeutics, Florida, USA
Sargramostim	Promote immune stimulation by GM-CSF	AZ Sint-Jan Brugge Brugge, Belgium
Siltuximab	Anti-IL-6 mAb	AZ Sint-Jan Brugge Brugge, Belgium
Sirolimus	T cell inhibition	University of Chicago, Chicago, IL, USA
Temelimab	Modulate T cell function with anti-CTLA4	UOC Malattie Infettive, Rome, Italy
Zilucoplan	Inhibit C5 cleavage	OLVZ Aalst Aalst, Belgium

Conclusiones



Los Laboratorios han tenido un papel CAPITAL en la pandemia COVID19



El “Long” COVID (LC) es un reto asistencial debido a su etiopatogenia multifactorial



No existe un marcador “mágico” de LC...¡pero ello no quiere decir que el Lab no sea de ayuda!



Gracias



**cursos
COMPLUTENSE
verano**
San Lorenzo de El Escorial