

Recomendaciones SEIMC

Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica



Recomendaciones de SEIMC sobre el uso de las pruebas de detección de anticuerpos

27 de abril del 2020

Antes de valorar el uso de estas pruebas de detección de anticuerpos revisaremos la opinión de las diferentes instituciones y organizaciones al respecto:

1. La OMS dice textualmente: “At present, based on current evidence, WHO recommends the use of these new point-of-care immunodiagnostic tests **only in research settings**. They should not be used in any other setting, including for clinical decision-making, until evidence supporting use for specific indications is available (www.who.int).
2. El ECDC dice que: “ECDC is working in close cooperation with the European Commission, Member State authorities, FIND (<https://www.finddx.org/>) and WHO on ongoing validation of these rapid tests and will inform the EU/EEA countries on results as soon as those are available.”
3. El CDC menciona en su página web que está desarrollando un test para detectar cuanta población americana ha sido expuesta al SARS-CoV-2. No comenta nada sobre las pruebas comercializadas hasta la fecha.

Actualmente existen en el mercado español más de 60 kits con marcado CE que permiten detectar anticuerpos (IgA, IgM o IgG) frente a SARS-CoV-2. La mayoría se basan en la inmunocromatografía (*lateral-flow*), y se han denominado test rápidos, pues el resultado se genera en unos 15 minutos. Sin embargo, existen otras técnicas, de ELISA o quimioluminiscencia, que son más sensibles y específicas.

La SEIMC, en colaboración con el Centro Nacional de Microbiología, está recabando información sobre las validaciones que se han realizado en los diversos laboratorios de microbiología clínica de hospitales españoles con la finalidad de disponer de un repositorio con información fácilmente accesible de datos de sensibilidad y especificidad de diversos kits de detección de anticuerpos (en situación avanzada, próximamente accesible a través de este documento). Al final de este documento presentamos un anexo sobre los requerimientos mínimos para realizar una evaluación de un kit de detección de anticuerpos.

Detección de IgA, IgM, IgG o anticuerpos totales

Existen pruebas que permiten detectar ambos tipos mayoritarios de inmunoglobulinas (IgM e IgG). La cinética de aparición de dichas inmunoglobulinas se describe más abajo (Tabla). No existen por el momento publicados estudios fiables sobre el comportamiento de las IgA.

Recientemente se ha descrito que la mediana del tiempo de seroconversión para anticuerpos totales (Ab) desde el inicio de los síntomas es en día 11, para IgM en el día 12 y para IgG en el día 14. La presencia de anticuerpos fue <40% entre los pacientes dentro de 1 semana desde el inicio, y aumentó rápidamente a 100% (Ab), 94.3% (IgM) y 79.8% (IgG) desde el día 15 después del inicio de la sintomatología. En base a estos resultados la detección de IgM sería ligeramente más precoz que las IgG. Dicho estudio fue realizado mediante un método comercializado de ELISA. En el mismo trabajo se determinó la sensibilidad de anticuerpos totales siendo de 38%, 89% y 100% en la primera, segunda y tercera semana, respectivamente. Sin embargo, no disponemos de la información para considerar si estos tiempos son válidos usando la inmunocromatografía. Tampoco conocemos si en pacientes asintomáticos la cinética de la respuesta inmunitaria es similar o no.

Recomendaciones de SEIMC sobre el uso de las pruebas de detección de anticuerpos

Días después del inicio de los síntomas	IgM		IgG	
	N(+)	Sensibilidad (%; 95%CI)	N(+)	Sensibilidad (%; 95%CI)
1-7	27	28.7 (19,9; 39.0)	18	19 (11,8; 28,6)
8-14	99	73.3 (65; 80)	73	54 (45,3; 62,7)
15-39	83	94 (87; 98)	71	79,8 (69,9; 87-6)

* Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 [published online ahead of print, 2020 Mar 28]. *Clin Infect Dis*. 2020; ciaa344. doi:10.1093/cid/ciaa344

Consideraciones sobre la detección de anticuerpos

- La experiencia está demostrando que los valores de sensibilidad de los test de inmunocromatografía que recogen los fabricantes en su información comercial pueden no ser del todo fiable, como se ha comprobado cuando estos métodos se han evaluado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y centros colaboradores.
- La casi totalidad de los ensayos indican en su información comercial una especificidad del 100%. Sin embargo, esta cifra podría no ser correcta ya que los estudios de validación son metodológicamente poco adecuados y con un número de muestras muy pequeño. No se han tenido en cuenta, y por citar solo unos ejemplos, las activaciones policlonales en determinados cuadros infecciosos, las enfermedades inmunológicas que causan falsos positivos o las posibles reacciones cruzadas con otros coronavirus circulantes causantes de infección respiratoria previa.
- Para el uso del test en el **ámbito Hospitalario-Urgencias**, el test tendría que aplicarse en pacientes con una evolución de al menos 7 días, pues la información científica disponible indica que antes de ese tiempo la respuesta inmunitaria del huésped es inexistente o muy baja. Sin ese matiz temporal, cabe el riesgo de una muy baja sensibilidad del ensayo.
- Para la detección de anticuerpos frente a SARS-CoV-2 en **profesionales sanitarios o sociosanitarios**, es preferible realizar el test con métodos automáticos (ELISA/CLIA) en vez de con monotest por inmunocromatografía. Los métodos de ELISA/CLIA son los que se están empleando actualmente para otros procesos infecciosos y permiten hacer un número superior de muestras a la vez, ya se han incorporado a sistemas automáticos de alto rendimiento.
- La utilidad de un test de anticuerpos para detectar contactos infectados de casos confirmado de profesionales sanitarios o sociosanitarios asintomáticos puede ser muy baja: tras haberse producido el contacto, no habrá pasado tiempo suficiente (salvo que se demore el test expresamente) para que se haya generado en la persona en cuestión una respuesta inmunitaria detectable. Por ello, cabe un riesgo muy elevado de falsos negativos responsables de una falsa seguridad para descartar la infección. Para esta situación sigue siendo preferible realizar PCR.
- Si se obtiene un resultado negativo en el cribado de profesionales sanitarios o sociosanitarios con los test de anticuerpos, sería oportuno precisar cuándo (días tras el

Recomendaciones de SEIMC sobre el uso de las pruebas de detección de anticuerpos

test negativo) hay que hacer la repetición y los factores de riesgo concretos a considerar, para evitar interpretaciones subjetivas.

- En el seguimiento de casos sintomáticos en centros sociales y residenciales, la prueba adecuada es la PCR, no los test de anticuerpos. Es precisamente en este colectivo donde más falsos positivos (enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide;...) falsos negativos, (tratamiento con inmunosupresores, inmunosenescencia) con los test de anticuerpos es previsible que se observen .

Principales aplicaciones de la detección de anticuerpos

A nivel hospitalario:

Pacientes:

- En urgencias, como complemento de la PCR en aquellos pacientes con una evolución de la infección superior a los 7 días.
- En casos con PCR repetidamente negativa en los que se hayan iniciado claramente los síntomas varios días antes. Es decir, para confirmar la infección en ausencia de una PCR positiva.
- En los casos clínicos de confirmación de “infección pasada” a través del estudio de la IgG, en relación o no con la negativización de la PCR. Diversos estudios establecen la posible persistencia de ARN viral del COVID19 en muestras clínicas sin presentar virus viable.
- Para la selección de donantes de plasma.

Personal sanitario:

- Detección de anticuerpos en personal sanitario que ayudarían a identificar a aquellos que ya podrían estar inmunes (*ver sección “Las personas con anticuerpos frente a SARS-CoV-2 están inmunizadas”*) y puedan atender a pacientes infectados, minimizando el riesgo de propagación del virus a colegas y otros pacientes. En la fase de desescalado que se pretende aplicar en los hospitales, es recomendable disponer de un ensayo con elevada sensibilidad y especificidad para poder reubicar al personal sanitario en la zona limpia de COVID-19 o en la zona COVID-19 dependiendo del estatus inmunitario del sanitario, evidentemente cumpliendo la normativa de protección de datos.

Residencias geriátricas:

- En las residencias, como se comentó anteriormente, la técnica de elección es la PCR. Es recomendable hacer un cribado en el personal que trabaja en estas residencias con métodos serológicos, preferiblemente mediante ELISA y de PCR.

Otras aplicaciones:

- Para comprender la epidemiología del COVID-19, permitiendo también saber la carga y el papel que podrían haber tenido las infecciones asintomáticas.
- Definir exposición previa e identificar donantes humanos altamente reactivos para la generación de suero hiperinmune como aproximación terapéutica.
- Para trabajos de investigación.
- Para evaluación de la vacuna.

¿Las personas con anticuerpos frente a SARS-CoV-2 están inmunizadas?

Hay una serie de aspectos a tener en cuenta al intentar contestar esta pregunta, a saber:

- El sistema inmunitario puede neutralizar los virus bloqueando la penetración o decapsidación del virus o agregando partículas del virus. Estos procesos previenen la infección posterior pero no eliminan el ácido nucleico, que se degrada lentamente con el tiempo. Este escenario se ha demostrado en diferentes infecciones virales agudas.
- Si se detectan anticuerpos IgG indica que hay respuesta de linfocitos T (los linfocitos T coestimulan a los linfocitos B en la producción de anticuerpos). Esta respuesta de linfocitos T se acompaña hasta el momento en todos los virus de la familia del SARS-CoV-2 de una respuesta citotóxica por parte de estos.
- En un estudio Wölfel y col. Nature (2020) <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x> en que se consiguieron muestras secuenciales de suero en 9 pacientes después de dos semanas del inicio de los síntomas, todos mostraron anticuerpos neutralizantes, con títulos que no sugirieron ninguna correlación con el curso clínico. Es de destacar que el caso # 4, con el título de neutralización de virus más bajo al final de la semana 2, parecía eliminar el virus de las heces durante un tiempo prolongado.
- En otro estudio de Wu y col. (<https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>), el setenta por ciento de los pacientes mostraron títulos altos de anticuerpos neutralizantes (AcN). Los títulos de AcN fueron variables en diferentes pacientes. Los pacientes de edad avanzada y de mediana edad tenían títulos de AcN en plasma significativamente más altos ($P < 0.0001$) y anticuerpos que se unen a la proteína S ($P = 0.0003$) que los pacientes jóvenes. El treinta por ciento ($n=52$) de 175 pacientes analizados mostraron títulos muy bajos de AcN y 5,7% ($n=10$) de estos mostraron títulos por debajo del límite de detección. Estos resultados revelaron que una proporción de pacientes infectados con SARS-CoV-2 se recuperaron sin desarrollar altos títulos de AcN específicos frente al virus, lo que sugiere que otras respuestas inmunes, incluidas los linfocitos T o las citocinas, pueden contribuir a la recuperación de estos pacientes. La forma en que estos pacientes se recuperaron sin la ayuda de los AcN y si estaban en riesgo de reinfección del SARS-CoV-2 debe explorarse más a fondo.

Por lo mencionado más arriba existe evidencia científica para pensar que un elevado número (aprox. 70%) de los pacientes con COVID-19 desarrollan anticuerpos protectores. No obstante, esta circunstancia debe tomarse con cautela cuando se traslada a la población en general y a los diferentes colectivos, incluyendo los profesionales sanitarios, fundamentalmente en estos últimos deberíamos ser prudentes a la hora de recomendar la ubicación de los profesionales en función del resultado de los test serológicos y por ello mantener el principio de la utilización de los EPI y de control de infección para todos sus integrantes a pesar de los resultados de los test serológicos.

Condiciones mínimas para realizar una evaluación de un kit de detección de anticuerpos

La validación de ensayos de diagnóstico para enfermedades infecciosas no termina con una serie de análisis de tiempo limitado basados en algunas muestras de referencia. Más bien es un proceso que también requiere vigilancia y mantenimiento constantes, junto con la reevaluación de sus características. Un ensayo serológico se considera validado si produce resultados que identifican la presencia o ausencia de un anticuerpo en suero a un determinado nivel de confianza estadística. Las variables que afectan el rendimiento de un ensayo se pueden agrupar en tres categorías, tales como:

- La muestra: puede ser suero, plasma o sangre.
- El sistema de ensayo: en el caso que nos atañe para la detección de SARS-CoV-2 pueden ser inmunocromatografía, ELISA o quimioluminiscencia.

Recomendaciones de SEIMC sobre el uso de las pruebas de detección de anticuerpos

- El resultado de la prueba: puede ser la visualización de una banda en el caso de la inmunocromatografía o un valor determinado en el caso de ELISA o quimioluminiscencia.

La capacidad de un resultado de prueba positivo o negativo para predecir con precisión el estado de infección es un objetivo clave de validación de ensayo. Esta capacidad no solo depende de un ensayo altamente preciso y exacto y de una estimación cuidadosa de la sensibilidad y especificidad, sino también está fuertemente influenciado por la prevalencia de la infección en la población objetivo. Sin una estimación actual de la prevalencia de la enfermedad en la población, la interpretación de una prueba positiva o negativa se verá comprometido.

Las normas mínimas para llevar a cabo la evaluación serían:

1. Es útil seleccionar cuatro o cinco muestras (suero) de individuos COVID+ con diversos días de evolución, y cinco muestras que no contiene anticuerpos (pacientes COVID-). Estas muestras se utilizarán en primer lugar para optimizar los reactivos de ensayo y el protocolo, y luego como suero de control durante las ejecuciones de rutina del ensayo.
2. Aunque no imprescindible, es adecuado realizar dos o tres réplicas de cada muestra de control usadas en el punto 1, ejecutada en distintos días, que son suficientes para proporcionar estimaciones preliminares de repetitividad.

La sensibilidad analítica del ensayo es la cantidad más pequeña detectable del anticuerpo en cuestión, y la especificidad analítica es el grado en que el ensayo no reacciona de forma cruzada con otro analito. Para los estudios de sensibilidad analítica de un test diagnóstico con sensibilidad (o especificidad) del 85% o superior, y obtener resultados con una precisión de +/- 7% (asumiendo un error tipo II: 0.2 y error tipo I: 0.05) se requerirá realizar la prueba en 89 pacientes por grupo. Si se dispone de menos muestras, por ejemplo 50 muestras por grupo, se conseguiría el mismo poder estadístico, pero con una precisión del 15%.

3. Cuando se calculan los parámetros predictivos para definir los valores de verdadero o falso se utiliza un 'estándar de oro' que son los resultados de un método o combinación de métodos que se considera que clasifica a los pacientes como infectados o no infectados. En este caso el estándar de oro debería ser la PCR más el diagnóstico clínico.

Cálculo de los parámetros predictivos:

Sensibilidad = $VP / VP + FN$

Especificidad = $VN / VN + FP$

Valor predictivo positivo: probabilidad de tener la enfermedad si el resultado de la prueba diagnóstica es positivo.

$VPP = VP / VP + FP$

Valor predictivo negativo: probabilidad de no tener la enfermedad si el resultado de la prueba diagnóstica es negativo.

$VPN = VN / VN + FN$

VP = verdadero positivo; FP = falso positivo; VN = verdadero negativo; FN = falso negativo.

Autores:

Grupo de expertos SEIMC para el análisis del diagnóstico microbiológico del COVID-19.

Junta Directiva SEIMC