

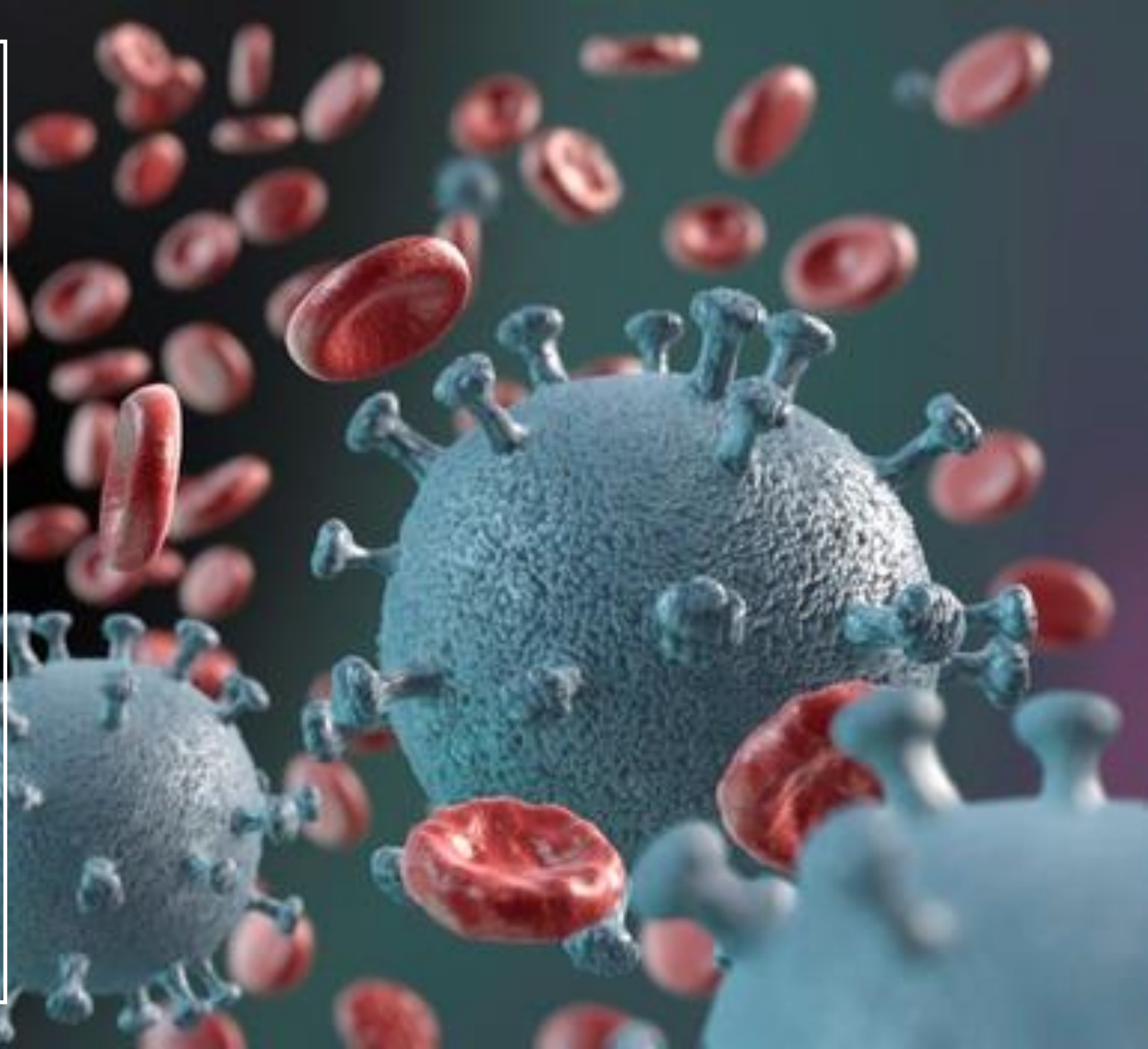
Uso de pruebas rápidas en la detección de infección por virus SARS-CoV-2 en enfermos por COVID-19

Una breve revisión de la literatura
científica

**Por: Gerardo Álvarez Hernández y
Maria del Carmen Candia Plata**

Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud

Universidad de Sonora



Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de COVID-19

Lugar y año de estudio	Autor	Metodología	Resultados	Conclusiones
Wuhan, China, 2020	Zhang W, et al	- Dos estudios consecutivos, en pacientes en distinta etapa clínica, para evaluar la dinámica en la carga viral. - El análisis de la respuesta de anticuerpos fue secundario - El primer estudio incluyó a 39 pacientes a los que a su ingreso hospitalario se tomó muestras orales, anales y sanguíneas. Las muestras se obtuvieron después del tratamiento 15 sujetos tuvieron carga viral detectable en los hisopos anales o en sangre, aun cuando ya no fuera detectable en muestras orales - En el segundo estudio, se tomó muestra de 139 pacientes, a partir del 10º día de tratamiento - La confirmación de COVID-19 se hizo por qRT-PCR - La serología se realizó para IgM e IgG, con ensayos caseros de tipo ELISA, usando la nucleoproteína Rp3 del SARSr-CoV como antígeno. El punto de corte fue determinado con muestras biológicas de sujetos sanos	- Los títulos de IgM e IgG fueron relativamente indetectables en los primeros días de iniciada la sintomatología - Los títulos de anticuerpos se incrementan al 5º día en la mayoría de los sujetos - En el segundo estudio, la tasa de resultados positivos a IgM subió de 50 a 80%, y la de IgG se incrementó de 81 a 100%	- Aún cuando los hisopos sean negativos, los pacientes pueden tener viremia, lo que sugiere que el virus podría transmitirse por rutas múltiples - La detección de anticuerpos es muy útil cuando avanza la enfermedad, cuando la detección de los virus se reduce - Se requieren pruebas moleculares y serológicas para confirmar de manera definitiva a los portadores del virus



LUGAR Y AÑO DE ESTUDIO	AUTOR	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
China, 2020	Li, et al.	- Estudio transversal, en muestras sanguíneas (capilar y venosa) de 8 clínicas para detectar portadores del COVID-19 397 muestras de pacientes confirmados por PCR; 128 muestras clínicas negativas - Método: ELISA combinado, para determinar IgM e IgG en muestras sanguíneas. Estandarización con antígeno recombinante, de Medomics (dominio de unión del receptor MK201027 de SARSCoV-2) y anti IgG and IgM, de Nanjing Lefushidai Inc.	- Sensibilidad diagnóstica: 88.66% - Especificidad diagnóstica: 90.63% - Resultados similares en sangre capilar, suero y plasma de sangre venosa	El método puede usarse para detectar portadores de SARS-CoV-2, sintomáticos o asintomáticos, en hospitales, clínicas y laboratorios de prueba

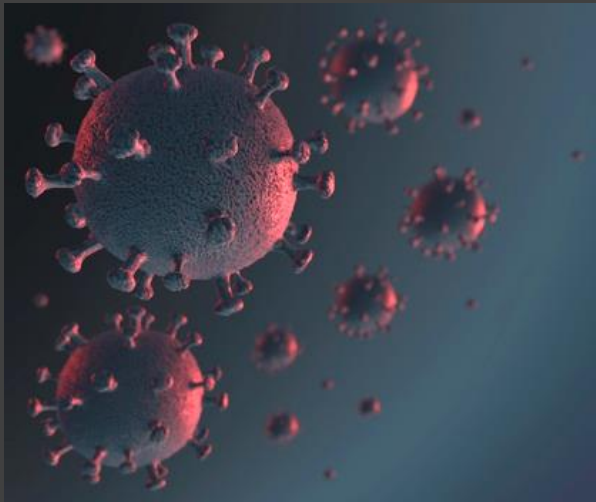
Uso de pruebas
rápidas para el
diagnóstico de
COVID-19



Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de COVID-19

LUGAR Y AÑO DE ESTUDIO	AUTOR	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Wuhan y Beijing, P. R. China, 2020	Guo, et al	- Estudio transversal para estimar el valor diagnóstico de la determinación de IgM en muestras sanguíneas de pacientes a los 1-39 días de inicio de los síntomas: 82 pacientes con COVID-19 confirmada 58 casos probables (qPCR negativa y manifestaciones clínicas típicas de COVID-19) - Método: ELISA combinado, para determinar IgA, IgM e IgG en muestras sanguíneas. Estandarización con proteínas recombinantes de la nucleocápside de SARS- Cov-2 (CoV-229E, -NL63, -OC43, -HKU1 y SARS-CoV)	- Tiempo de detección de anticuerpos IgM e IgA: 5 días después del inicio de síntomas (IQR 3-6) - Tiempo de detección de IgG: 14 días (IQR 10-18) - En casos confirmados, la tasa de positivos a IgM fue de 75.6% - En casos probables, la tasa de positivos a IgM fue de 93.1% La tasa de detección al combinar el ELISA IgM con qPCR es de 98,6% superior a la prueba de qPCR sola (51,9%)	El método puede usarse para el diagnóstico de COVID-19, inclusive en los casos no confirmados por qPCR 

Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de COVID-19



LUGAR Y AÑO DE ESTUDIO	AUTOR	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Copan y Brescia, Italia, 2020	Cassaniti, et al.	- Estudio para validar la prueba rápida, por inmunoensayo, IgM/IgG VivaDaig® para el diagnóstico de COVID-19 30 muestras séricas de hospitalizados, colectadas al 7º día de confirmación por RT-PCR por COVID-19 30 muestras séricas de voluntarios sanos con muestras respiratorias negativas a SARS-Cov-2 por RT-PCR; diez de ellos con antecedente de infección por un coronavirus común como OC43, 229E, HKU1 y NL63) 50 muestras séricas tomadas al ingreso a urgencias, de pacientes con fiebre y síntomas respiratorios - Método: ELISA combinado, para determinar IgM e IgG en muestras sanguíneas. Estandarización con antígeno recombinante, de Medomics (dominio de unión del receptor MK201027 de SARSCoV-2) y anti IgG and IgM, de Nanjing Lefushidai Inc.	- De los 30 pacientes hospitalizados, 19 dieron positivo a IgM e IgG; cinco fueron débilmente positivas para IgM e IgG, cinco fueron negativos para ambas, y uno fue positivo para IgM pero negativo para IgG - Las 30 muestras de los sanos fueron negativas. No hubo reactividad cruzada en los 10 casos de infección por otros coronavirus - De los 50 pacientes que entraron por urgencias, 38 fueron positivos a COVID19 por RT- PCR. De ellos, 7 mostraron una reacción débil o francamente positiva a IgM y/o IgG; otros 31 fueron negativos. De los 12 (24%) negativos por RT-PCR, sólo 1 fue positivo a IgG/IgM con la prueba rápida, y 11 fueron negativos - Sensibilidad de la prueba: 18.4%; Especificidad: 91.7%. Valor Predictivo Negativo en pacientes ingresados por Urgencias: 26.2%. Valor Predictivo Positivo 87.5%	- La mayoría de pacientes que dieron positivo para COVID-19 mediante RT-PCR en tiempo real, se habrían identificado como negativos utilizando sólo el ensayo serológico rápido, lo que llevaría a un diagnóstico erróneo de la enfermedad de COVID-19 en la gran mayoría de los pacientes No se recomienda esta prueba para la identificación de pacientes con sospecha de COVID-19

Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de COVID-19

Lugar y año de estudio	Autor	Metodología	Resultados	Conclusiones
Wuhan, Hubei, China, 2020	Liu W, et al	- Estudio transversal para detectar anticuerpos IgM e IgG en 214 pacientes hospitalizados por COVID-19 (confirmada por RT-PCR en muestras faríngeas). La información general fue obtenida de los expedientes médicos electrónicos 397 muestras de pacientes confirmados por PCR 100 muestras clínicas negativas, de sujetos aparentemente sanos, como controles - Usaron dos métodos: - ELISA, para determinar IgM e IgG en muestras sanguíneas, usando el antígeno recombinante: Proteína rN de la nucleocápside del SARS-Cov-2 (Lizhu, Zhuhai, China) - ELISA, para determinar IgM e IgG en muestras sanguíneas, usando el antígeno recombinante: Proteína rS del SARS-Cov-2 (Hotgen, Beijing, China)	- Sensibilidad diagnóstica del método 1: IgM: 68.2%, y de IgG: 70.1% - Sensibilidad diagnóstica del método 2: IgM: 77.1% (superior al método 1), mientras IgG: 74.3% La tasa de positividad usando ambos métodos fue menor del 60% durante la fase temprana de la enfermedad (0-10 días de iniciada la enfermedad), pero aumenta después del décimo día en el caso de la IgG	El método puede ser complementario para el diagnóstico de COVID-19

Lugar y año de estudio	Autor	Metodología	Resultados	Conclusiones
Guangdong Province, China, 2020	Zhao J, et al	- Estudio longitudinal en 173 pacientes con infección por SARS-Cov-2 (535 muestras sanguíneas), para determinar los valores clínicos de anticuerpos IgM e IgG y la dinámica humoral durante la progresión de la enfermedad - Método usado: ELISA de Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co. Ltd., con especificidad >98.5%, que usa un antígeno recombinante del dominio de unión del receptor de la proteína espiga del SARS-CoV-2	- Los títulos más altos de anticuerpos se asociaron con la mayor gravedad clínica - Sensibilidad diagnóstica: 38.3% en la primera semana del inicio de los síntomas y >79% a partir del día 15 del inicio de los síntomas (se presenta lo contrario con PCR) - Porcentaje y mediana del tiempo de seroconversión de IgM: 93.1%; 11 días - Porcentaje y mediana del tiempo de seroconversión de IgG: 82.7%; 14 días	- La mediana, en días, para la seroconversión fue de 11–14, dependiendo del método usado - La aplicación simultánea de detecciones por PCR y anticuerpos, puede mejorar la sensibilidad diagnóstica de COVID-19

Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de COVID-19

Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de COVID-19

LUGAR Y AÑO DE ESTUDIO	AUTOR	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Finlandia, 2020	Haveri A, et al	• Estudio de caso. Se describen los datos clínicos y moleculares de una mujer turista China en Finlandia, así como los datos serológicos de tres de sus contactos • Tres días después de iniciar síntomas fue hospitalizada y se confirmó COVID-19 por RT-PCR • A los 8 días después de inicio de síntomas, estaba asintomática y 3 días después fue dada de alta • Respuesta humoral del caso: • Las muestras sanguíneas, tomadas al 4º, 9º, 10º y 20º día de iniciados los síntomas, fueron incubadas con los cultivos celulares Vero E6 infectados con SARS-CoV-2 y los anticuerpos fueron observados por inmunofluorescencia	• Los títulos de anticuerpos fueron detectables hasta el 9º día del inicio de síntomas • La respuesta de IgG más elevada se detectó en el día 20 • Durante la fase aguda de la infección se detectaron títulos bajos de anticuerpos neutralizantes en el caso índice, pero no se detectaron en los contactos	• Para que las pruebas serológicas sean útiles para el diagnóstico de COVID-19, es necesario determinar la cinética, así como mejorar la especificidad y sensibilidad de los métodos en desarrollo

Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de COVID-19

LUGAR Y AÑO DE ESTUDIO	AUTOR	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Wuhan, China, 2020	Du, et al, 2020	- Se midieron los títulos de anticuerpos anti-SARS-Cov-2 en 60 pacientes convalcientes de COVID-19, con un tiempo de inicio de los síntomas entre 6 y 7 semanas y pruebas moleculares negativas a SARS-CoV-2, para ver la progresión de la respuesta humoral - En 10 pacientes, se hizo una segunda medición una semana después de la primera toma de muestra sanguínea	- Primera muestra sanguínea: 78.3% de los pacientes tuvieron títulos positivos de IgM 100% de los pacientes tuvieron títulos positivos de IgG - Segunda muestra: Los títulos de IgM e IgG disminuyeron significativamente	La combinación de pruebas serológicas y moleculares podría ayudar a la identificación de personas infectadas, con cuadros atípicos o con infecciones subclínicas

Uso de pruebas rápidas para el diagnóstico de COVID-19

LUGAR Y AÑO DE ESTUDIO	AUTOR	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Hong Kong, 2020	To, et al	• Estudio de cohorte con 23 pacientes (SARS-CoV-2 positivos) de 62 años de edad (rango 37-75), 13 hombres y 10 mujeres, incluidos consecutivamente en dos hospitales • Se analizó la carga viral por qRT-PCR de 173 muestras (7.5 muestras por paciente en promedio) seriadas de saliva de orofaringe, así como la respuesta de anticuerpos (AC's) en muestras sanguíneas • Los títulos de AC's fueron determinados por EIA, en 108 muestras (4.7 muestras por paciente en promedio) usando la nucleoproteína (anti-NP) y el dominio de unión al receptor de la proteína espiga (anti-RBD); ambas proteínas fueron recombinantes • Los puntos de corte de la seropositividad fueron determinados con sueros de 93 sujetos sanos • Se hicieron ensayos de neutralización	• La carga viral fue de 5.2 log10 copias por mL (IQR 4.1–7.0), pero en 53% de los pacientes fue negativa • Los niveles de AC's IgM e IgG se elevaron hasta el 10º día del inicio de los síntomas, o después, en la mayoría de los pacientes. La respuesta humoral temprana fue la siguiente: • IgG antiRBP: 43% IgG antiNP: 9% • IgM antiRBP: 26% IgM antiNP: 17% • La seroconversión hacia IgG se detecta más rápido en los anticuerpos antiNP • En 70% de los pacientes la seropositividad de IgG hacia NP fue de 94% y de 100% hacia RBP. en el 14º día del inicio de los síntomas • No se observó asociación entre las comorbilidades, la edad, o la severidad clínica, con los niveles de AC's • Se observó correlación entre los niveles de AC's y los anticuerpos neutralizantes	• Con base en la correlación entre los niveles de AC's y los títulos de neutralización, se concluye que los resultados son importantes para el diseño de vacunas, así como para recomendar el estudio del plasma de pacientes convalecientes, con el propósito de obtener AC's policlonales terapéuticos o para diseñar AC's monoclonales

LUGAR Y AÑO DE ESTUDIO	AUTOR	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Hong Kong, 2020	Lv H, et al.	- Se analizaron 15 muestras de plasma de pacientes infectados con SARS-CoV-2, entre los días 2 y 22 después de iniciar los síntomas - Se determinaron los títulos de anticuerpos (AC's) por ELISA, usando antígenos recombinantes del ecto dominio S y RBD, tanto del virus SARS-CoV-2 como del SARS- CoV - Los resultados fueron comparados con los obtenidos con el plasma de donadores sanos - Se analizaron las muestras sanguíneas de 7 pacientes convalecientes (3-6 semanas postinfección) - Se hicieron ensayos de neutralización con las muestras de ambos grupos de pacientes	- Pacientes en etapa de infección temprana: - Se observaron títulos altos de AC's a partir del 10º día de iniciados los síntomas - El plasma de los pacientes con COVID-19, reaccionó con los antígenos de SARS-CoV pero lo hizo más fuertemente con los antígenos de SARS-CoV-2 - El plasma de 5 pacientes (33%) reaccionó fuertemente con el antígeno RBD del SARS-CoV - Pacientes convalecientes - Se observó reactividad cruzada con las proteínas espiga, RBD y subunidad S2 - Ensayos de neutralización - Muestras de pacientes con SARS-CoV no neutralizaron al SARS- Cov-2	- La detección de AC's en pacientes con infección temprana no es oportuna para decisiones clínicas ni para acciones sanitarias de control - Es común la reactividad cruzada en las respuestas de anticuerpos hacia SARS-CoV-2 y SARS-CoV, pero la neutralización cruzada es rara



Comentarios finales

- Los métodos para la determinación de anticuerpos (AC's) en pacientes con COVID-19 (SARS-Cov-2) están en desarrollo
- La cinética de la detección de esos métodos, no ha sido determinada
- **La sensibilidad diagnóstica es baja (18.4-88.6%)**
- **La especificidad es discretamente superior a 90%**, por lo que aún debe disminuirse la reactividad cruzada, especialmente con los antígenos del SARS-CoV

Comentarios finales

- La detección de los niveles de AC's es muy útil al avanzar la enfermedad por SARS-Cov-2, porque en esa fase, la carga viral se reduce, **pero cuando se hace en la fase temprana de COVID-19, puede provocar un diagnóstico erróneo en la mayoría de los pacientes**

Comentarios finales

Las pruebas moleculares son las pruebas que confirman de manera definitiva a los portadores de SARS-Cov-2

La aplicación simultánea de PCR y la detección de niveles de AC's, puede mejorar la sensibilidad diagnóstica de COVID-19, y ayudaría a identificar personas infectadas con cuadros atípicos o con infecciones subclínicas

Es necesario realizar más estudios para validar los métodos serológicos actuales

Se requiere evaluar el uso del plasma de pacientes convalecientes para la obtención o diseño de AC's terapéuticos

Referencias bibliográficas

- Cassaniti I, Novazzi F, Giardina F, Salivaró F, Sachs M, Perlini S, et al. Performance of VivaDiag™ COVID-19 IgM/IgG Rapid Test is inadequate for diagnosis of COVID-19 in acute patients referring to emergency room department. J Med Virol. 2020 Mar 30. doi: 10.1002/jmv.25800
- Du Z, Zhu F, Guo F, Yang B, Wang T. Detection of antibodies against SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. J Med Virol. 2020 Apr 3. doi: 10.1002/jmv.25820. [Epub ahead of print]
- Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang, Yang F, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020 Mar 21. pii:ciaa310.doi:10.1093/cid/ciaa310
- Haveri A, Smura T, Kuivanen S, Österlund P, Hepojoki J, Ikonen N, et al. Serological and molecular findings during SARS-CoV-2 infection: the first case study in Finland, January to February 2020. Euro Surveill 2020 Mar;25(11). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.11.2000266
- Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. J Med Virol. 2020 Feb 27. doi: 10.1002/jmv.25727
- Liu W, Lui L, Kou G, Zheng Y, Ding Y, Ni W, et al. Evaluation of nucleocapsid and spike protein-based ELISAs for detecting antibodies against SARS-CoV-2. J Clin Microbiol. 2020 Mar 30. pii: JCM.00461-20. doi: 10.1128/JCM.00461-20
- Lu H, Wu NC, Tsang OT, Yuan M, Perera RAP, Leung WS, et al. Cross-reactive antibody response between SARS-CoV-2 and SARS-CoV infections. bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.15.993097>

Referencias bibliográficas

- To KK, Tsang OT, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Leung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2:an observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020 Mar 23. pii: S1473-3099(20)30196-1. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.
- Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Feb 17;9(1):386-389. doi: 10.1080/22221751.2020.1729071 eCollection 2020
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020. Mar 28. pii: ciaa344. doi: 10.1093/cid/ciaa344