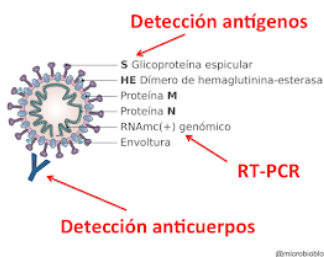


Alcances de las pruebas serológicas en COVID-19: Rápidas (cualitativa) y ELISA (cuantitativa)

La microbiología clínica de infecciones agudas hace uso de técnicas para la detección de microorganismos por métodos directos como el cultivo y las técnicas moleculares, y por métodos indirectos como la serología. **El monitoreo serológico tiene por objetivo evaluar de forma indirecta la respuesta del huésped ante una infección microbiana mediante la detección de antígenos o de anticuerpos en el suero sanguíneo.**

Es importante recordar que en la detección de covid19 ocasionada por el virus SARS-Cov-2 existen 3 blancos o *targets* para los cuales se han desarrollado las pruebas siguientes:



1. ARN del virus → detección molecular por RT-PCR / NGS
2. Proteína S de la cápside viral → detección de antígenos
3. Anticuerpos contra el virus → detección de anticuerpos

Fig.1. Blancos del SARS-CoV-2 en pruebas de detección. Disponible en: [Los tres test del coronavirus](#)

Con la finalidad de describir el uso de las pruebas de detección indirecta es necesario observar la siguiente gráfica que nos ayuda a entender las fases de respuesta de un individuo cuando se pone en contacto con un antígeno por primera vez, en este caso ante el virus SARSCov2:

1. Aparición precoz del anticuerpo específico de clase IgM

Etapas de aparición: Generalmente comienza a aumentar dentro de una semana después de la infección inicial.

Persistencia en sangre: Debido a que su concentración no es muy alta y a que su persistencia en sangre es generalmente corta, puede NO ser detectado en la etapa temprana de la infección.

Detección positiva: Se puede interpretar como un estado de infección aguda o en curso activo/reciente. Aunque también puede ser detectado en estados de infección crónica.

2. Aparición tardía del anticuerpo específico de clase IgG.

Etapas de aparición: Suele aparecer aproximadamente 14 días después de una infección o vacunación. Su concentración va en aumento hasta alcanzar, de 3 a 6 semanas, una meseta que desciende muy lentamente.

Persistencia en sangre: Suele ser muy prolongada, aún después de la recuperación y en ocasiones es detectable a lo largo de toda la vida.

Detección positiva: Se puede interpretar como el anticuerpo de protección. Aunque también puede ser detectado en un estadio de infección secundaria (reactivación o reinfección).

Si bien los datos en este punto aún son limitados, en la enfermedad por COVID-19 parece que la respuesta inicial del anticuerpo IgM no alcanza su punto máximo hasta 9 días después de la infección inicial y la respuesta del anticuerpo IgG no alcanza su punto máximo hasta el día 11.

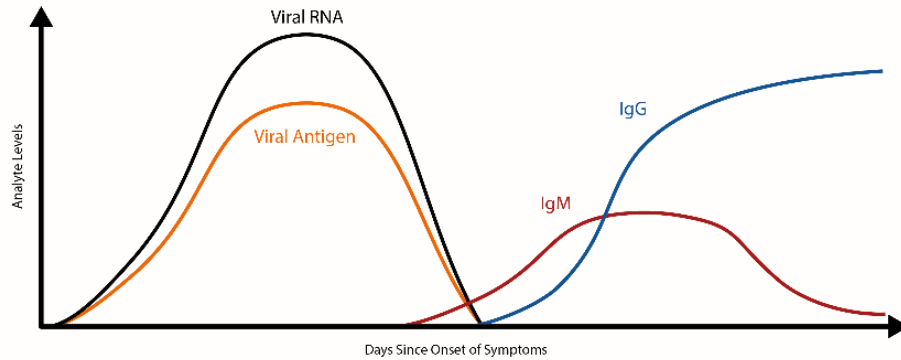


Fig.2. Estimación de los niveles generales de biomarcadores durante el curso típico de la infección por COVID-19 / SARS-CoV-2. Disponible en: [The Native Antigen](#)

Como puede observarse en la gráfica, los anticuerpos IgM e IgG sólo son detectables a partir de 7 a 9 días después de adquirida la infección, por lo que se entiende que: **las pruebas serológicas NO son pruebas de diagnóstico sino de detección para evaluar y monitorear la respuesta inmunitaria únicamente del individuo que ha atravesado por la infección y ha sido previamente diagnosticado positivo por los métodos moleculares (RT-PCR, NGS).**

Una vez entendido este concepto, definamos el uso de las pruebas serológicas.

Dependiendo de la prueba serológica, el objetivo puede ser: 1) interrogar la aparición de anticuerpos formados del huésped ante la infección o; 2) detectar antígenos producto de la presencia del agente infeccioso en el torrente sanguíneo (usualmente proteínas que pertenecen al virus).

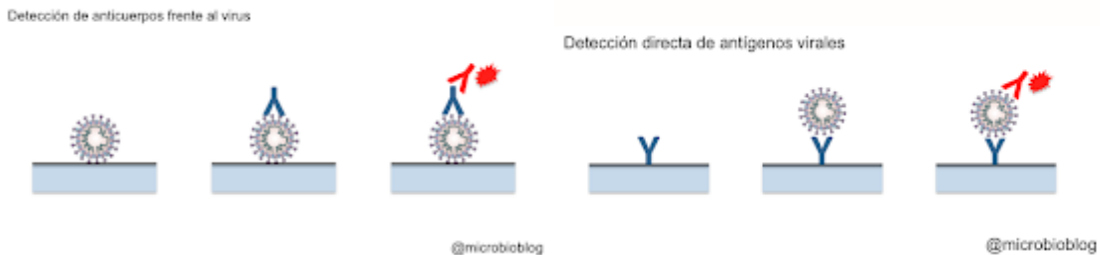
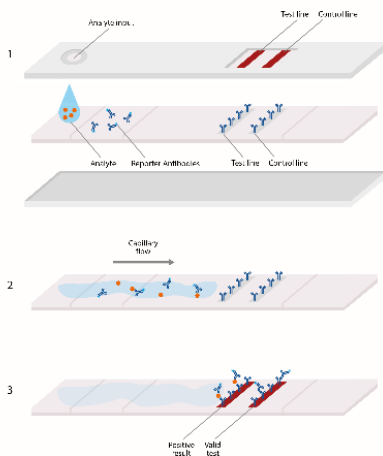


Fig.3. Pruebas serológicas para detección indirecta. Disponible en: [Los tres test del coronavirus](#)

El monitoreo serológico de anticuerpos o antígenos se realiza mediante alguno de los métodos siguientes:



1. Prueba rápida (cualitativa):

Consiste en una tira de papel (ensayo inmunocromatográfico) en la cual se coloca el suero del paciente que por acción capilar migra a lo largo de la tira hasta la zona que contiene anticuerpos conjugados a partículas coloreadas y que son específicos al analito de interés. En caso de que esté presente el analito, esta reacción dará una coloración que puede evaluarse a simple vista e interpretarse como positivo o negativo.

Fig.4. Ensayo inmunocromatográfico (Prueba rápida). Disponible en: [The Native Antigen](#)

2. Ensayo ELISA directo o indirecto (cuantitativa):

Consiste en un ensayo en microplaca (ensayo inmunoenzimático) en el que se incuba el suero en un pozo recubierto con anticuerpos o con antígenos marcados con una enzima y en caso de que el analito esté presente en la muestra, se lleva a cabo una reacción antígeno-anticuerpo primario que debe ser leída posteriormente (ELISA directo), o que puede ser detectada mediante otro anticuerpo secundario marcado con una enzima (ELISA indirecto), desarrollando un sustrato coloreado que sólo es detectable y cuantificable mediante un lector de luz visible.

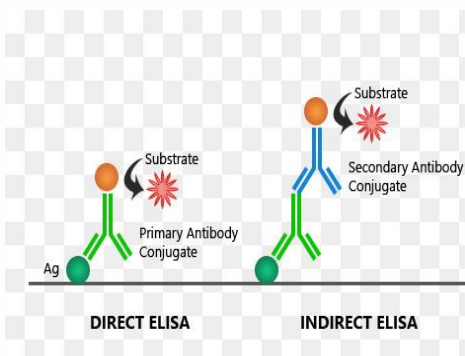


Fig.5. Ensayo ELISA cuantitativo.

Parámetros de calidad que DEBEN ser evaluados antes del uso para el monitoreo no diagnóstico

También es relevante mencionar que en la serología los parámetros de sensibilidad y especificidad tienen un impacto crucial al elegir un método serológico para la detección (contra el método de referencia diagnóstica: RT-PCR).

Sensibilidad: Probabilidad de clasificar correctamente a los infectados o, lo que es lo mismo, la proporción de verdaderos positivos. **Sensibilidad = verdaderos positivos / total de infectados.**

Especificidad: Probabilidad de clasificar correctamente a los sanos o, lo que es lo mismo, la proporción de verdaderos negativos. **Especificidad = verdaderos negativos / total de sanos.**

¿Por qué las pruebas rápidas están arrojando FALSOS NEGATIVOS?

Debido a que los porcentajes de sensibilidad y de especificidad son muy bajos actualmente. Esto suele relacionarse en gran parte a la baja calidad de los insumos usados para la manufactura de las tiras reactivas, a que las proteínas unidas en la tira NO corresponden al SARS-Cov-2 específicamente y se cruzan con otros virus, o, a que no las proteínas usadas no generan la reacción antígeno-anticuerpo.

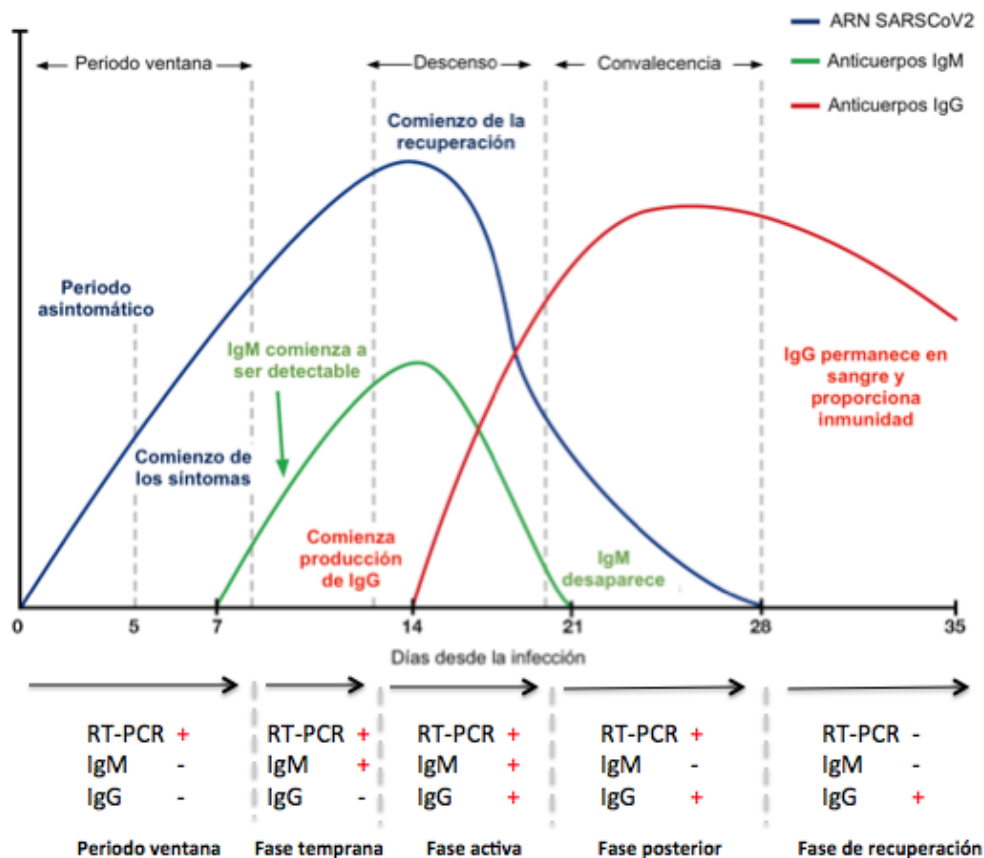
Hasta el 30 de abril de 2020, la FDA de los Estados Unidos ha aprobado 10 pruebas de anticuerpos (rápidas y ELISA) bajo autorización para el uso de emergencia y se reporta que la sensibilidad y la especificidad promedio de estas es 84.90% y 98.63%, respectivamente. La lista de estas 10 pruebas con los parámetros de calidad más altos se puede consultar en: <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa082>

Aproximadamente 90 pruebas de anticuerpos ofrecidas por varios fabricantes todavía están bajo revisión de la FDA, pero ya están disponibles en el mercado, sin sensibilidad y especificidad establecidas, y el riesgo es que se están utilizando en hospitales, laboratorios, Instituciones y empresas, como herramienta de detección.

Finalmente, la intención de este resumen técnico es explicar con claridad los siguientes puntos:

1. La diferencia entre las técnicas moleculares (RT-PCR, NGS) y las serológicas (prueba rápida, ELISA) radica en el objetivo que se pretende lograr: las primeras para el diagnóstico confirmatorio y las segundas para el monitoreo de la inmunidad. Además, el tiempo en que se toma la muestra es crucial para la interpretación de cada prueba. Las serológicas NO son diagnósticas, sólo las moleculares sí.

- La interpretación de cada resultado se realiza exclusivamente por un analista clínico o infectólogo.
- En la prueba diagnóstica por RT-PCR no se descarta la posibilidad de un FALSO NEGATIVO.
- El resultado NEGATIVO de IgM en una prueba rápida NO confirma la ausencia de infección ni permite identificar estados de co-infección debida a otros patógenos presentes.
- El resultado POSITIVO de IgG en una prueba rápida NO confirma la presencia de inmunidad sostenida, y siempre se encuentra latente la posibilidad de re-infección.
- Las técnicas avanzadas por NGS posibilitan la confirmación molecular mediante la detección inequívoca de ARN viral en una muestra, la presencia de co-infección con otros patógenos respiratorios y el monitoreo epidemiológico para el diseño de rutas de infección nacional y la evolución del virus para predecir un segundo brote.**



ESTA IMAGEN SOLO TIENE VALOR DIDÁCTICO Y DIVULGATIVO

Fig.6. Ejemplo de la relación entre el ensayo diagnóstico RT-PCR y el monitoreo serológico IgM/IgG durante el curso típico de la infección por COVID-19 / SARS-CoV-2.

Disponible en: [Los tres test del coronavirus](#)