

Potenciales usos, desafíos y limitaciones de la determinación de anticuerpos anti-SARS-CoV-2

Potential applications, challenges and limitations of Anti SARS-CoV-2 antibodies determination

Marvin Durán Delgado¹, Josué Solano Cerdas¹

¹Laboratorio clínico, Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense de Seguro Social, Costa Rica

Correspondencia: marvin2640@hotmail.com

Recibido: 16/09/2020; aceptado para publicación: 05/04/2021

Resumen

La detección oportuna de personas infectadas con el SARS-CoV-2 resulta fundamental en el abordaje y control de la enfermedad pandémica COVID-19 que ha atacado al mundo desde finales del 2019. La técnica RT-PCR representa la metodología de referencia diagnóstica, sin embargo, el surgimiento de determinaciones serológicas ha brindado una importante herramienta de apoyo en sensibilidad diagnóstica al trabajarse en conjunto con técnicas moleculares. Un papel fundamental de las pruebas serológicas se basa en la posibilidad de evaluar títulos de anticuerpos provenientes de exposiciones previas al SARS-CoV-2 o de tratamiento vacunal. Para poder entender la importancia y dar un correcto uso a las pruebas serológicas, se debe conocer la composición proteica del virus, su interacción con el organismo humano y la respuesta antiviral que se produce. En el presente trabajo, se revisarán los métodos serológicos disponibles para detectar anticuerpos anti-SARS-CoV-2, así como el perfil de seroconversión y los posibles usos de las pruebas serológicas, al igual que sus limitantes; se finaliza con una serie de recomendaciones que podrían optimizar la aplicación de estas pruebas en nuestra población.

Palabras clave

Serología, COVID-19, inmunoensayo, anticuerpos neutralizantes

Abstract

Early detection of people infected with SARS-CoV-2 is essential in the approach and control of the global pandemic COVID-19 disease that has attacked the world since December 2019. The RT-PCR technique represents the diagnostic reference methodology; however, the emergence of serological determinations has provided an important support tool in diagnostic sensitivity when working in conjunction with molecular techniques. A

fundamental role of serological tests is based on the possibility of evaluating antibody titers from previous exposures to SARS-CoV-2 or from vaccine treatment (in the future). In order to understand the importance and correct use of serological tests, it is necessary to know the protein composition of the virus, its interaction with the human body and the antiviral response that occurs. The present work reviews the serological methods available to detect Anti SARS-CoV-2 antibodies, as well as the seroconversion profile and the possible uses of serological tests, as well as their limitations; ending with a series of recommendations that could optimize the application of these tests in our population.

Keywords

Serology, COVID-19, immunoassay, neutralizing antibodies

Introducción

En el mes de diciembre del 2019, se identificó un brote de neumonía atípica de etiología desconocida en pacientes de Wuhan, China. A partir de diversos análisis realizados en dichos pacientes se logró aislar e identificar un nuevo coronavirus denominado SARS-CoV-2 (1). Este es un virus que pertenece a la familia *Coronaviridae*, específicamente dentro del género *Betacoronavirus*, donde se incluyen virus zoonóticos con un genoma de ARN de polaridad positiva (2). Los miembros más comunes de esta familia (HCov-229E, HCoV-NL-63, HCoV-oc43 y HCoV-HKU1) circulan continuamente en la población humana ocasionando cuadros respiratorios con severidad de leve a moderada, y tienen alta prevalencia en las poblaciones humanas. Dentro de la misma familia, existen dos miembros asociados con brotes importantes que remontan a 2002 con el SARS-CoV-1 y 2012 con el MERS-CoV; para ambos se reportaron cuadros severos respiratorios con importantes tasas de mortalidad. La principal importancia de conocer estos antecedentes sería establecer si existe algún grado de reactividad cruzada con SARS-CoV-2 y las posibles implicaciones de esto a nivel clínico y diagnóstico. El cuadro 1 resume los porcentajes de homologías de

aminoácidos de las distintas proteínas virales al realizar comparaciones entre miembros de la misma familia.

Cuadro 1. Homología expresada en porcentaje de los aminoácidos de la proteína de la nucleocápside (N), la proteína de la espícula (S), así como las subunidades (S1 y S2) del SARS-CoV-2 con respecto a los otros coronavirus de importancia clínica en humanos. Modificado de Okba *et al*, 2020

		HCoV-OC43	HCoV-HKU1	HCoV-229E	HCoV-NL63	SARS-CoV-1	MERS-CoV
SARS-CoV-2	N	34%	34%	28%	29%	90%	49%
	S	33%	32%	28%	29%	77%	33%
	S1	25%	25%	24%	21%	66%	24%
	S2	42%	40%	35%	36%	90%	43%

La enfermedad causada por SARS-CoV-2 se denomina COVID-19. Esta enfermedad tiene un amplio espectro de presentaciones clínicas que incluye individuos que cursan asintomáticos, aquellos que cursan con enfermedad respiratoria leve (entre 80 a 90%), moderada o grave y un pequeño grupo que desarrolla síndrome de distrés respiratorio, coagulopatías tromboticas y un síndrome similar al de activación macrofágica que puede llevar a fallo multiorgánico y muerte (3,4). Los individuos de mayor edad, así como aquellos con comorbilidades, son los que están en mayor riesgo de desarrollar la forma grave de la enfermedad.

El SARS-CoV-2 se transmite de persona a persona principalmente por secreciones derivadas de la vía respiratoria en forma de gotas o aerosoles o por medio de superficies contaminadas que pueden actuar a manera de fómites (5). El virus se dispersa fácilmente en poblaciones susceptibles en gran parte, probablemente, por una fuerte probabilidad de

transmisión durante la fase asintomática. Esta fase se caracteriza por un periodo de incubación medio de cinco días.

Para mediados de setiembre de 2020, en nuestro país, la mortalidad de este virus rondaba el 1% con una prevalencia cercana al 1.5% (6), sin embargo, estos datos son aproximaciones ya que se supone que hay un gran subregistro de la enfermedad (7) derivado, principalmente, de individuos asintomáticos, que podrían representar hasta el 40% de las infecciones totales (8).

Para minimizar el impacto de la pandemia, se ha empleado el distanciamiento social que ha logrado demostrar una disminución de la dispersión de la enfermedad en la población, sin embargo, este tipo de medida ha provocado una fuerte contracción económica, proyectándose como una medida insostenible a largo plazo. Otra estrategia exitosa ha sido la educación de la población en medidas de prevención basadas en la higiene: promoción del lavado de manos, desinfección de fómites y superficies, así como el empleo de mascarillas.

Por otro lado, la aplicación de pruebas diagnósticas basadas en laboratorio ha sido vital para identificar los casos de enfermedad activa e indicar medidas de aislamiento, así como realizar estudios de contactos. Hasta el momento, la técnica más empleada que es capaz de identificar enfermedad activa es la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, por sus siglas en inglés). Otras técnicas como la detección de anticuerpos se han propuesto para usos complementarios, como por ejemplo, estudios de seroprevalencia en trabajadores de la salud, complemento diagnóstico de la RT-PCR,

estudio de contactos y seroprevalencia en puntos calientes de transmisión e identificación de posibles donantes de plasma inmune de convaleciente; estas pruebas serológicas tienen la limitante de que no son un buen indicador de enfermedad activa y su positividad más bien parece indicar exposición pasada; tampoco hay evidencia de que la detección de anticuerpos correlacione con protección inmunológica contra posibles reinfecciones.

Respuesta inmune antiviral

La infección de la vía aérea por SARS-CoV-2 compromete las células epiteliales del tracto respiratorio que detectan el virus a través de sus receptores de reconocimiento de patrón desencadenando el estado antiviral que se caracteriza por la producción de interferón tipo I. Este interferón tipo I pone en marcha varios mecanismos innatos para interferir con la replicación del virus y favorecer el desarrollo de elementos de la inmunidad adaptativa (9). La proliferación y activación de linfocitos TCD4+ y linfocitos TCD8+ es importante para identificar células infectadas e inducir su apoptosis; por otro lado, algunos linfocitos B se diferencian a células plasmáticas secretoras de anticuerpos específicos que pueden colaborar con la eliminación del virus a través de secreción de anticuerpos con actividad neutralizante y anticuerpos no neutralizantes (7). Un reporte de caso, que dio seguimiento a un paciente que cursó la forma leve de la enfermedad, evidenció los hallazgos clásicos de la inmunidad antiviral en pacientes con COVID-19: evidenció proliferación de linfocitos T y B así como seroconversión de anticuerpos al séptimo día de evolución (10). En pacientes que cursan la forma grave de la enfermedad, es frecuente que la inmunidad antiviral exprese un fenotipo que se caracteriza por una severa linfopenia y concentraciones elevadas de anticuerpos y citocinas proinflamatorias que parecen ser incapaces de prevenir la

progresión de la enfermedad (11), pero que favorecen el desarrollo de la fase inflamatoria que se asocia con mayor gravedad (12).

Dianas de la respuesta inmunológica

El SARS-CoV-2 es un virus ARN monocatenario, envuelto cuyo virión está conformado por varias proteínas estructurales (Figura1): la proteína de membrana, la proteína de la envoltura, la proteína de la nucleocápside (N) y la proteína de la espícula (S) (13).

La proteína de la nucleocápside es la proteína más abundante e inmunogénica; es una proteína interna que está estrechamente ligada al material genético del virus por lo tanto no pareciera ser un blanco importante de anticuerpos neutralizantes, sin embargo, podría inducir anticuerpos no neutralizantes que medien otras funciones importantes como la citotoxicidad dependiente de anticuerpos. Los anticuerpos anti-N podrían ser detectados de manera más precoz (14, 15). Esta proteína es altamente conservada entre los coronavirus (16), por lo tanto, se espera que pueda generar algún grado de reactividad cruzada con otros coronavirus (17). Es de vital importancia que los fabricantes que empleen plataformas que detecten estos anticuerpos provean estudios que certifiquen que no hay reactividad cruzada con otros coronavirus.

La proteína de la espícula es una proteína muy expuesta y parece ser el blanco preferente de los anticuerpos neutralizantes (18). Está conformada por dos dominios S1 y S2; el dominio S1 contiene un dominio de unión al receptor (RBD, por sus siglas en inglés) que es clave para la entrada del virus al interactuar con el receptor ACE2 expresado en las células de la vía aérea y otros tejidos (19, 20). Actualmente, se piensa que los anticuerpos dirigidos

contra este dominio pueden neutralizar el virus y promover su eliminación (18). La proteína de la espícula es menos conservada entre los coronavirus, especialmente, el dominio de unión al receptor tiene poca homología con otros coronavirus (16), excepto con SARS-CoV-1, del cual no se encontraron reportes de su circulación en nuestra población.

Algunos estudios sugieren que ambas especificidades de anticuerpos pueden neutralizar el virus, *ex vivo* (21). Es probable que los anticuerpos que no son neutralizantes medien otros efectos *in vivo* como citotoxicidad dependiente de anticuerpos u opsonización para facilitar la fagocitosis de partículas virales; *ex vivo*, algunos anticuerpos no neutralizantes podrían mediar efectos que bloqueen la interacción del virus con el receptor, que no sean necesariamente una neutralización. Actualmente falta más evidencia de estos mecanismos.

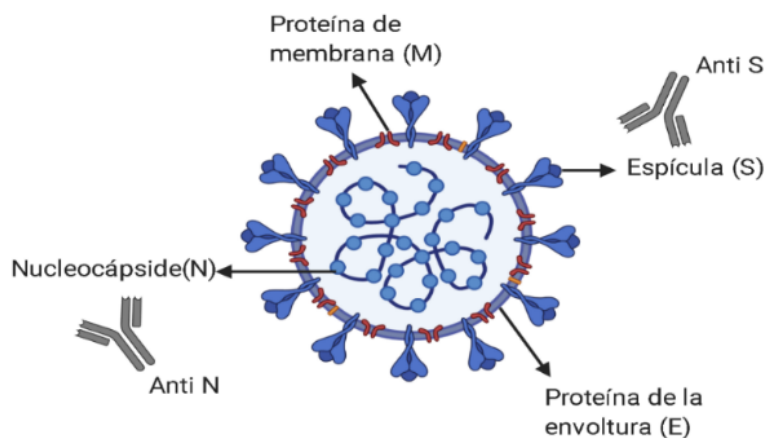


Figura 1. Estructura del SARS-CoV-2. Las dianas más importantes de los anticuerpos son las proteínas N y S.

Historia natural del virus y su implicación en el diagnóstico y manejo de la infección por SARS-CoV-2

Previo a la aparición de los síntomas y durante las primeras dos semanas, la técnica que tiene mayor probabilidad de detectar la presencia de SARS-CoV-2 es la RT-PCR. En

nuestro país, esta técnica se emplea utilizando como muestra el hisopado nasofaríngeo; la sensibilidad de esta técnica es máxima desde uno a dos días previo al desarrollo de síntomas y durante la primera semana, con un pico estimado a los cinco días de evolución (22, 23), luego tiende a disminuir conforme la carga viral disminuye o el virus se empieza a replicar en el tracto respiratorio inferior. La cantidad del virus puede ser heterogénea en distintos tipos de muestras del tracto respiratorio; adicionalmente, el virus puede mostrar una excreción errática y finalmente la calidad de la muestra impacta el rendimiento de la prueba; estos tres factores limitan la sensibilidad del método (24). Esta prueba puede ser indicativa de infección activa permitiendo valorar y dar seguimiento al estado de salud de los pacientes indicando medidas como aislamiento domiciliar u hospitalización. También permite realizar un estudio de contactos para minimizar la probabilidad de dispersión del virus en la población.

Por otro lado, la detección de anticuerpos indica exposición al virus, con una limitada capacidad de discriminar una infección activa de una infección pasada. Puede evidenciarse seroconversión en el suero de los individuos desde la primera semana de evolución con una sensibilidad aproximada del 20 al 40%. La sensibilidad aumenta durante la segunda semana donde rondaría entre el 50 y el 80%, y continúa incrementándose durante la tercera y cuarta semana, donde alcanzaría la sensibilidad más alta que rondaría entre el 80 y 95%; la media de seroconversión suele ser de diez días (25, 26). Los datos de sensibilidad pueden variar de método a método y en distintas poblaciones (asintomáticos, leves, moderados, graves y críticos); las variables más importantes entre métodos suelen ser el antígeno de la

fase de captura (N o S) así como el isotipo detectado (IgM, IgA, IgG). La figura 2 resume el impacto de la historia natural del virus sobre el diagnóstico basado en laboratorio.

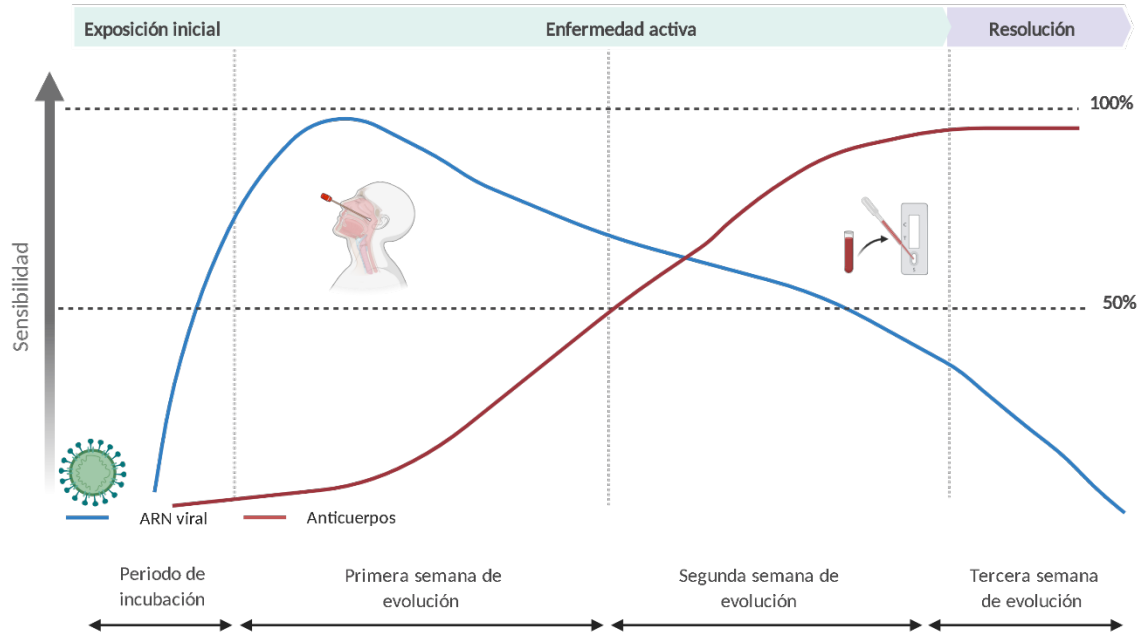


Figura 2. Historia natural del SARS-CoV-2 y su implicación en la sensibilidad del diagnóstico basado en laboratorio. Durante la fase aguda, cuando la enfermedad es activa y es más probable que se pueda transmitir el virus, la sensibilidad de la detección de ARN viral es máxima. Durante la segunda y tercera semana de evolución, la sensibilidad de la RT-PCR suele decaer mientras la probabilidad de detectar anticuerpos es más alta.

Tipos de pruebas serológicas

En el mercado hay disponibilidad de varios tipos de inmunoensayos para detectar anticuerpos anti-SARS-CoV-2; la oferta incluye inmunocromatografía de flujo lateral, ELISA y plataformas de inmunoensayo automatizadas. La fase de captura de los inmunoensayos contiene principalmente las proteínas S, N, RBD e incluso combinaciones

de S/N; adicionalmente, varían notablemente en la detección de isotipos con estrategias que incluyen detección de IgA, IgM, IgG o anticuerpos totales (27, 28). En laboratorios más especializados, se puede detectar anticuerpos neutralizantes. El ensayo de reducción de placas basado en neutralización viral (PRNT, por sus siglas en inglés) se considera el estándar de oro para el diagnóstico serológico de los coronavirus (16); su principal limitante es el tiempo de respuesta que suele ser de tres días o más y que para su ejecución se requiere de un laboratorio de bioseguridad tipo 3. Estos ensayos son muy informativos ya que normalmente la presencia de anticuerpos neutralizantes se puede asociar con protección inmunológica (16). Una variante de este ensayo emplea pseudovirus posibilitando su ejecución en laboratorios de bioseguridad tipo 2 (29). Algunas variantes de estos ensayos se han desarrollado para poder ser analizadas con mayor nivel de procesividad y en laboratorios de especialización media (30); por otro lado, también se han realizado estudios de correlación entre las técnicas de detección de anticuerpos convencionales y ensayos de neutralización encontrando un buen grado de correlación entre ambas pruebas (31). En nuestro país, hay una urgente necesidad de llenar vacíos de conocimiento con la aplicación de este tipo de inmunoensayos que detectan anticuerpos neutralizantes, particularmente enfocándose en el plasma inmune convaleciente y en la respuesta vacunal, así como la valoración inmunológica de los individuos recuperados. La figura 3 resume las principales características de algunos de los inmunoensayos que se han desarrollado para detectar anticuerpos anti-SARS-CoV-2.

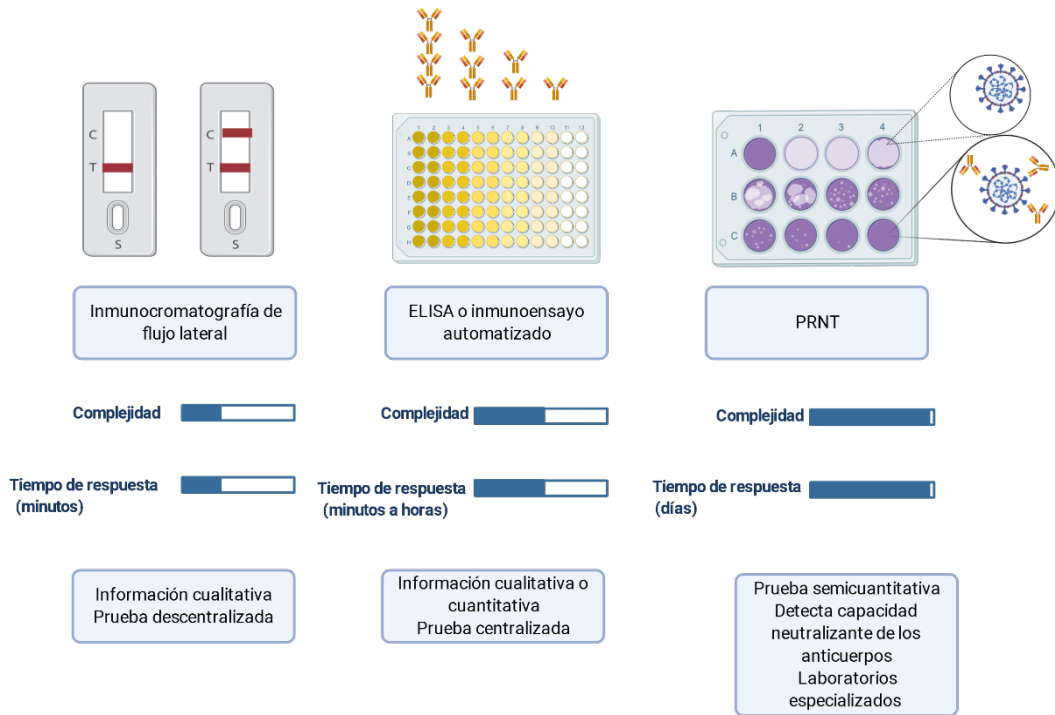


Figura 3. Esquema comparativo de los distintos inmunoensayos para la detección de anticuerpos. La ventaja de las pruebas rápidas es su poca complejidad que permite su descentralización permitiendo su aplicación en laboratorios satélite de todas las áreas de salud. Las pruebas más complejas, como los inmunoensayos automatizados, suelen estar centralizados y pueden ser más informativos al permitir la cuantificación de anticuerpos; normalmente cuentan con mejor sensibilidad y especificidad. Las pruebas de neutralización son más especializadas y pueden indicar cantidades de anticuerpos neutralizantes.

Limitaciones de los estudios de anticuerpos anti-SARS-CoV-2

1. Detección temprana y discriminación entre enfermedad activa y enfermedad pasada

Durante la etapa presintomática y los primeros diez días de evolución, la probabilidad de hallar anticuerpos es baja, la probabilidad continúa aumentando conforme el paciente evoluciona a través del tiempo; se recomienda realizar mediciones cerca del día 14 de

evolución. Dado este panorama, actualmente, no es recomendable realizar diagnóstico o cribado en la fase aguda empleando una prueba de anticuerpos en vez de un prueba molecular ya que la prueba tiene poca capacidad de descartar un caso activo. Para lograr descartar de manera más oportuna los casos sospechosos, los sueros tomados en fase aguda deben ser sometidos a una segunda prueba en la fase convaleciente para poder descartar el caso. Esta estrategia basada en sueros pareados es poco práctica para poder indicar seguimiento, aislamiento y estudio de contactos.

En algunos modelos de respuesta inmune como dengue o chikungunya, la detección de IgM suele asociarse a infección aguda e IgG suele asociarse con la fase convaleciente (32, 33); por su lado SARS-CoV-2 es un virus respiratorio y puede tener una respuesta inmune atípica con mucha heterogeneidad en los patrones de seroconversión. Algunos estudios apuntan a que puede ocurrir seroconversión simultánea de IgG e IgM (23), e incluso, que la seroconversión de IgG puede detectarse de manera más precoz (34); también la seroconversión varía de paciente a paciente, y aquellos que cursan la forma grave de la enfermedad parecen desarrollar anticuerpos más temprano y con mayores títulos (25). Por otro lado, se ha observado que algunos sujetos seroconvierten después de tres semanas de evolución (35) y una pequeña parte de sujetos recuperados podría no tener anticuerpos detectables (36). En un estudio recientemente divulgado, se encontró que 15% de los trabajadores de la salud con antecedente de COVID-19 no presentaban anticuerpos de ningún isotipo posterior a su recuperación; de manera notable, la mayoría de estos trabajadores cursó con la forma leve de la enfermedad (37). Algunos fabricantes también han apostado por la detección de IgA; algunos hallazgos apuntan a que la detección de IgA

puede ser más precoz y duradera que la de IgM (38); adicionalmente, se ha observado que los niveles de IgA son más elevados en pacientes que presentan las formas más graves de la enfermedad (39, 40). En una reciente revisión sistemática, la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) no encontró diferencia significativa en sensibilidad entre los distintos métodos (basados en N o S) y recomendó emplear técnicas serológicas hasta después de 14 días de evolución. Esta organización recomienda el uso de IgG o anticuerpos totales, mientras que sugiere que sobre la aplicación de IgM o IgA no hay suficiente evidencia y que podrían adolecer de especificidad suficiente para la prevalencia actual (41).

2. La detección de anticuerpos no se asocia al pronóstico clínico de la enfermedad ni a protección inmunológica

El hallazgo de anticuerpos en pacientes infectados tiene un significado clínico incierto. En una cohorte de 285 pacientes hospitalizados se logró evidenciar un 100% de seroconversión al día 19 desde el inicio de síntomas. El desarrollo de estos anticuerpos no correlacionó con la resolución clínica de la enfermedad aun cuando los niveles de IgG alcanzan su meseta (34); otros estudios también encontraron que no hay asociación entre la seroconversión y la resolución de la enfermedad (40, 42, 43).

Por otra parte, se sabe que los anticuerpos neutralizantes son claves cuando se piensa en protección inmunológica, sea contra la infección o contra enfermedad causada por SARS-CoV-2 (44). Algunos estudios demuestran que los pacientes recuperados de COVID-19 desarrollan niveles variables de anticuerpos neutralizantes. Se ha encontrado que pacientes recuperados cursaron con bajos títulos de estos anticuerpos y en otros casos no se

detectaron; por otro lado, los individuos añosos y quienes cursan la forma grave de la enfermedad tuvieron mayores niveles de anticuerpos (18, 45).

También se ha planteado que existe un potencial riesgo de que el desarrollo de respuestas de anticuerpos puedan causar efectos deletéreos cuando no son adecuados en cantidad y calidad (46).

Actualmente, no se puede asociar un nivel y una especificidad de anticuerpos dada con protección inmunológica (correlato de protección), tampoco se sabe el tiempo en el cual los anticuerpos permanecerán detectables en sujetos expuestos previamente. Reportes preliminares hablan de hasta seis meses en una gran cantidad de sujetos (47), mientras que otros hallazgos indican caídas importantes de los niveles de anticuerpos en pacientes recuperados (21). Finalmente, si esos anticuerpos son detectables, tampoco hay evidencia de si mediarán protección contra reinfecciones o al menos contra la forma grave de la enfermedad. Un reciente reporte de reinfección asintomática sugiere la posibilidad de protección inmunológica contra la enfermedad (48).

Dado este panorama, actualmente, no se recomienda emplear las determinaciones de anticuerpos para inferir protección inmunológica o pronosticar la evolución de un paciente.

3. La baja prevalencia de la enfermedad tiene como consecuencia un menor valor predictivo positivo (VPP) de las pruebas serológicas

Los falsos positivos son un problema inherente de los inmunoensayos, principalmente cuando la cantidad de verdaderos positivos en la población es baja, en cuyo caso la

probabilidad de clasificar inadecuadamente un sujeto negativo como positivo es más alta (49).

El VPP de una prueba se ve impactado por la prevalencia, más aún considerando que las pruebas de anticuerpos suelen asociar cierto riesgo de falsos positivos derivado de su especificidad imperfecta. Actualmente, la prevalencia del SARS-CoV-2 en la población general tiende a ser baja. Aún en países con brotes importantes y gran cantidad de fallecimientos, la prevalencia, que se puede estimar, en la población general, suele ser cercana al 5% (50). Cuando la prevalencia es baja el VPP de una prueba disminuye. La figura 4 muestra un escenario donde la especificidad de una prueba de detección de anticuerpos es de 99%, cuando la prueba se aplica a una población con una prevalencia de 1% el VPP de la prueba es aproximadamente 50%.

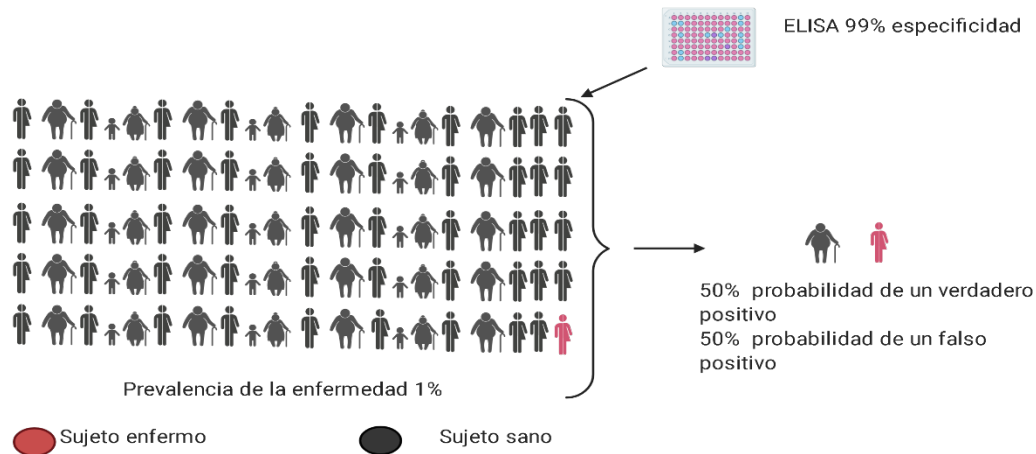


Figura 4. Impacto de la prevalencia sobre el VPP de una prueba. En una población con una prevalencia de 1% de COVID-19, la probabilidad preprueba es de un positivo cada 100 habitantes. Al emplear un ELISA con

99% de especificidad en una población de estas características, la probabilidad de falso positivo es cercana a 50%.

Actualmente se piensa que uno de los mayores riesgos de falso positivo es la reactividad cruzada con otros coronavirus, sin embargo, las interferencias ya conocidas para otras pruebas deben ser consideradas. Por ejemplo, el factor reumático y anticuerpos heterófilos. También es importante que las pruebas serológicas puedan mostrar capacidad de discriminar otras etiologías que sean diagnóstico diferencial. Conforme aumente la prevalencia de la enfermedad la cantidad de verdaderos positivos de la población aumentará, de igual forma aumentará el valor predictivo positivo de la prueba.

Usos potenciales de los estudios de anticuerpos anti-SARS-CoV-2

1. Incremento de la sensibilidad diagnóstica en etapas tempranas

Las pruebas serológicas se pueden emplear en combinación con las moleculares para tratar de obtener mejores sensibilidades a través del tiempo; en este panorama, se propone que los pacientes que consulten de manera tardía en el tiempo tengan una mejor probabilidad de ser clasificados correctamente al emplear ambas pruebas de forma simultánea. Dos estudios mostraron que la combinación de ambas técnicas permite mejorar la sensibilidad de la detección de la enfermedad hasta cerca de un 80% en la primera semana, llegando a cerca del 100% en la segunda semana (51, 25).

2. Confirmación diagnóstica en escenarios de alta sospecha clínica en etapas tardías de la enfermedad

Cuando un sujeto con alta sospecha clínica esté negativo por RT-PCR, la detección de anticuerpos podría ayudar a confirmar la sospecha diagnóstica; este puede ser el caso de los pacientes que se presenten de forma tardía a consultar o aquellos cuyas manifestaciones clínicas son tardías, por ejemplo, la presencia de un síndrome multisistémico infantil cuyo inicio parece ser tardío (52).

3. Identificación y caracterización serológica de potenciales donantes de plasma inmune, un uso potencial

Actualmente, no se dispone de fármacos específicos para prevenir o tratar la COVID-19, ante tal situación se ha propuesto el uso de plasma convaleciente con el fin de trasladar de manera pasiva los anticuerpos de los sujetos recuperados a los sujetos con enfermedad activa (53). Esta terapia tiene un importante registro de éxito histórico en el contexto del tratamiento del virus Junin; este estudio aleatorizado doble ciego mostró una reducción de la mortalidad del 16% al 1% al emplear plasma inmune de convaleciente como tratamiento en fases tempranas de la enfermedad (54). En este contexto, el empleo de una prueba serológica permite evaluar la presencia de anticuerpos en los sujetos recuperados y titularlos o cuantificarlos; de este modo, se puede predecir con mayor certeza la probabilidad de éxito de aplicar esta terapia (55). Los usos de una terapia de esta naturaleza parecen tener sus mejores resultados cuando se administran plasmas con altos títulos de

anticuerpos neutralizantes y durante los primeros cinco días de evolución, donde es probable que puedan prevenir la infección viral (56, 57).

4. Estudios epidemiológicos

Los estudios de seroprevalencia pueden ser muy informativos para labores propias de la vigilancia epidemiológica asociada a este tipo de brotes. Con estos estudios se puede estimar la mortalidad y la prevalencia, así como analizar nuevas estrategias para el estudio de contactos e incluso incentivar tamizajes comunitarios basados en una combinación de prueba serológica con prueba molecular.

Recomendaciones

Como se discutió anteriormente, estas pruebas no son útiles para descartar la infección en etapas tempranas (enfermedad activa). Una estrategia de mejorar el rendimiento de estas pruebas es realizar el análisis empleando sueros pareados (58); esto podría aumentar la probabilidad de registrar adecuadamente un caso como negativo o positivo, sin embargo, esta aproximación parece poco práctica ya que demora el diagnóstico al menos una semana más, lo cual no permite indicar de manera oportuna el aislamiento.

Por otro lado, cuando la prevalencia es baja, se recomienda emplear este tipo de pruebas únicamente a grupos de individuos donde la probabilidad preprueba (prevalencia estimada) sea razonablemente alta. El cuadro 2 resume las probabilidades esperadas asociadas a algunos grupos de interés.

Cuadro 2. Posibles poblaciones diana de pruebas serológicas y su probabilidad preprueba asociada esperable

Población diana	Probabilidad preprueba esperable
Trabajadores de la salud expuestos y sintomáticos	Muy alta
Trabajadores de la salud con alto grado de exposición	Alta
Contactos cercanos de sujetos positivos	Mediana
Pruebas masivas a nivel comunitario en sitios calientes	Baja
Población general sintomática	Baja
Población general asintomática	Muy baja

Una estrategia recomendada para aumentar el valor predictivo positivo es realizar una determinación de anticuerpos en dos pasos. Este tipo de estrategia permite alcanzar un umbral de confianza mayor en los resultados generados (59). Uno de los primeros grupos en desarrollar y socializar un inmunoensayo emplea esta estrategia (60). La figura 5 resume una aplicación sugerida de esta propuesta.

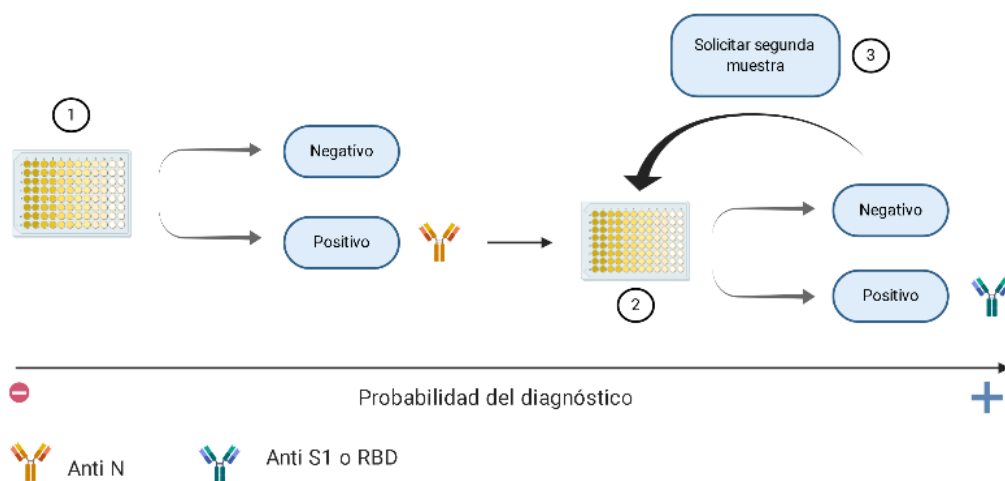


Figura 5. Propuesta de una estrategia para mejorar el desempeño diagnóstico de las pruebas de anticuerpos anti-SARS-CoV-2. En la siguiente propuesta un ensayo con buena sensibilidad con N en la fase de captura se emplea en una etapa inicial. Si este inmunoensayo resulta positivo se requiere una confirmación con un ensayo de otra metodología, por ejemplo, un inmunoensayo basado en S. En caso de que la segunda prueba resulte negativa se indica reconsulta en 7-10 días para valorar seroconversión.

Para garantizar un buen desempeño del papel complementario de los test serológicos en el diagnóstico, se debe emplear prioritariamente técnicas con especificidad (acuerdo predictivo positivo) cercana al 99.5%, preferiblemente, probada en varios estudios independientes donde no exista conflicto de interés. Es importante que los métodos tengan al menos la aprobación de emergencia de la FDA.

La premisa de nuestras autoridades debe ser no adquirir ninguna prueba serológica hasta que no haya sido evaluada de manera independiente en una población que represente la

población que será objetivo de estas pruebas; adicionalmente, el mejor test serológico disponible debe ser acompañado por una adecuada estrategia para emplearlo, dictada por nuestras autoridades competentes (cribado con anticuerpos y confirmación con PCR, evaluación de sueros pareados para descartar o determinación de anticuerpos en dos pasos para confirmar) (58, 61). La determinación de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 debe siempre indicarse en un contexto de sospecha clínica o epidemiológica adecuado, limitando al máximo su empleo en sujetos asintomáticos sin exposición o sujetos que quieran satisfacer su curiosidad de una virtual previa exposición. Se debe reconocer que sus usos potenciales actualmente son limitados, principalmente debido a su incapacidad de discriminar infección activa de infección pasada.

Conclusiones

Existe una amplia variedad de estrategias para la determinación de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 que difieren entre sí por la especificidad y clase de los anticuerpos determinados. Es posible que esto tenga un impacto en términos de especificidad y sensibilidad, así como en términos de sus aplicaciones. La gran cantidad de estrategias y la poca uniformidad en los estudios publicados en la literatura explica en gran parte la falta de consenso en temas como el patrón de seroconversión típico de la infección. Es necesario que nuestro país realice evaluaciones independientes del desempeño de las plataformas disponibles para conocer su rendimiento en nuestra población.

Al emplear las determinaciones de anticuerpos anti-SARS-CoV-2, se asume el riesgo de clasificar inadecuadamente a los pacientes; se pueden clasificar falsamente negativos en las primeras dos semanas desde el inicio de síntomas o falsamente positivos en cualquier

momento por una combinación de especificidad imperfecta con baja prevalencia de la enfermedad.

Finalmente, se concluye que es de vital importancia emplear test serológicos para caracterizar adecuadamente los plasmas de convaleciente empleados de forma terapéutica. En este sentido, los autores recomiendan revalorar el proyecto de administración de plasma convaleciente y definir la idoneidad de un donante no solo basándose en requisitos de seguridad desde el punto de vista del plasma como un hemoderivado sino en términos de eficacia del plasma como un tratamiento que debe contener cantidades importantes de anticuerpos neutralizantes. Este dato debe ser incluido en la base de datos del hemocomponente y los clínicos deben contar con esta información. Las pruebas serológicas también serán importantes para estudios epidemiológicos y a futuro para valoración de la respuesta vacunal e incluso inferir protección si los anticuerpos están presentes en una determinada especificidad y concentración (correlato de protección). En este sentido, es importante que las autoridades correspondientes apoyen el desarrollo de pruebas serológicas en los laboratorios de nuestro país que detecten anticuerpos neutralizantes *ex vivo*; estas pruebas pueden tener gran valor a la hora de predecir el éxito de la transferencia pasiva de anticuerpos o bien, a futuro, valorar la respuesta vacunal en grupos de interés.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no presentan conflictos de interés.

Figuras

Todas las figuras de este artículo son originales y fueron generadas con el software Biorender.

Referencias

1. Zhu N, *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China. *N. Engl. J. Med.* 2019; 382 (8), 727–733.
2. Jiang S, Hillyer C, Du L. Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses. *Trends Immunol.* 2020; 41 (5), 355–359.
3. Siddiqi HK, Mehra, MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical–therapeutic staging proposal. *J. Hear. Lung Transplant.* 2020; 39 (5), 405–407.
4. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA - J. Am. Med. Assoc.* 2020; 323 (13), 1239–1242.
5. Van Doremalen N, *et al.* Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382 (24), 1564–1567.
6. CCSS. COVID-19 CCSS | Estadísticas. (2020). Disponible en: <https://www.ccss.sa.cr/web/coronavirus/estadistica>.
7. Petherick A. Developing antibody tests for SARS-CoV-2. *Lancet.* 2020; 395 (10230), 1101–1102.
8. Oran DP, Topol EJ. Prevalence of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection. *Ann. Intern. Med.* 2020; 173 (5), 362–367.
9. Ivashkiv LB, Donlin, LT. Regulation of type I interferon responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14 (1), 36–49.
10. Thevarajan Irani, LS. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nat. Med.* 2020; 26 (4), 450–452.
11. Lin L, Lu L, Cao W, Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1), 727–732.
12. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry, PA Ng, FP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat. Rev. Immunol.* 2020; 20(6), 363–374.
13. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17(3), 181–192.
14. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo, A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *Jama.* 2019; 323 (22), 2249–2251.
15. Burbelo PD, *et al.* Sensitivity in Detection of Antibodies to Nucleocapsid and Spike Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Patients With Coronavirus Disease 2019. *J. Infect. Dis.* 2020; 222(2), 206–213.
16. Okba N. *et al.* Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7), 1478–1488.
17. Krammer F, Simon V. Serology assays to manage COVID-19. *Science.* 2020(6495); 368, 1060–1061 (2020).
18. Wu F, *et al.* Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered 2 patient cohort and their implications. *medRxiv*

- <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365> (2020).
19. Yan R, Zhang Y, Guo, Y, Xia L, Zhou Q. Structural basis for the recognition of the 2019-nCoV by human ACE2. *Science* 2020; 2762, 1–10.
 20. Vabret N, et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity* 2020. doi:10.1016/j.immuni.2020.05.002
 21. Brochot E, et al. Anti-Spike anti-Nucleocapsid and neutralizing antibodies in SARS-CoV-2 hospitalized patients and asymptomatic carriers. *Medrxiv*. 2020; 1–25. doi:10.1101/2020.05.12.20098236
 22. Wölfel R, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020; 581(7809), 465–469.
 23. To KK, 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; 20(5), 565–574.
 24. Wang , et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA - J. Am. Med. Assoc*. 2020; 323(18), 1843–1844.
 25. Zhao J, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin. Infect. Dis*. 2020; 71(16), 1–22. doi:10.1093/cid/ciaa344
 26. Whitman JD, et al. Test performance evaluation of SARS-CoV-2 serological assays. *medRxiv Prepr. Serv. Heal. Sci*. 2020; 29, 30.
 27. FDA. EUA Authorized Serology Test Performance | FDA. (2020). Disponible en: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/eua-authorized-serology-test-performance>. (Accessed: 9th September 2020)
 28. FIND. FIND evaluation update: SARS-CoV-2 immunoassays - FIND. (2020). Disponible en: <https://www.finddx.org/covid-19/sarscov2-eval-immuno/>. (Accessed: 9th September 2020)
 29. Nie J, et al. Establishment and validation of a pseudovirus neutralization assay for SARS-CoV-2. *Emerg. Microbes Infect*. 2020; 9(1), 680–686.
 30. Muruato AE, et al. A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation. *Nat. Commun*. 2020; 11(1), 1-6.
 31. GeurtsvanKessel CH, et al. An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. *Nat. Commun*. 2020; 11(5), 1-5.
 32. Guzman MG, et al. Dengue : a continuing global threat. *Nat. Publ. Gr*. 2010; 8(12), S7–S16.
 33. Weaver SC, Lecuit M. Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease. *New England Journal of Medicine*. 2015; 372(13), 1231–1239.
 34. Long Q.-X, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat. Med*. 2020; 26(6), 845-848. doi:10.1038/s41591-020-0897-1
 35. Lou B, et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptoms onset. *medRxiv* 2020.03.23.20041707 (2020). doi:10.1101/2020.03.23.20041707
 36. Wu F, et al. Neutralizing Antibody Responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 Recovered Patient Cohort and Their Implications. *SSRN Electron. J*. 2020.03.30.20047365 (2020). doi:10.1101/2020.03.30.20047365

37. Garcia-Basteiro AL, et al. Seroprevalence of antibodies against SARS-CoV-2 among health care workers in a large Spanish reference hospital. *Nature Communications*. 2020;11(1), 1-9.
38. Padoan A, et al. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A longitudinal study. *Clin. Chim. Acta*. 2020; 507(1), 164–166.
39. Yu H, et al. Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients. *Eur. Respir. J.* 2001526 (2020). doi:10.1183/13993003.01526-2020
40. Hu Q, et al. The Production and Clinical Implications of SARS-CoV-2 Antibodies. *SSRN Electron. J.* 2020.04.20.20065953 (2020). doi:10.1101/2020.04.20.20065953
41. Hanson KE, et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. www.idsociety.org/COVID19guidelines/serology. (2020). Disponible en: www.idsociety.org/COVID19guidelines/serology.
42. Tan W, et al. Viral Kinetics and Antibody Responses in Patients with COVID-19. *medRxiv* 2020.03.24.20042382 (2020). doi:10.1101/2020.03.24.20042382
43. Huang J, et al. *Long period dynamics of viral load and antibodies for SARS-CoV-2 infection: an observational cohort study*. *medRxiv* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2020). doi:10.1101/2020.04.22.20071258
44. Altmann DM, Douek DC, Boyton RJ. What policy makers need to know about COVID-19 protective immunity. *The Lancet*. 2020; 395(10236), 1527–1529.
45. Wang X, et al. Neutralizing Antibodies Responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 Inpatients and Convalescent Patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020 71(10), 2688-2694. doi:10.1093/cid/ciaa721
46. Iwasaki A, Yang, Y. The potential danger of suboptimal antibody responses in COVID-19. *Nat. Rev. Immunol.* 2020; 20(6), 339-341. doi:10.1038/s41577-020-0321-6
47. Wu J, et al. SARS-CoV-2 infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19 Correspondence. *medRxiv* 2020.07.21.20159178 (2020). doi:10.1101/2020.07.21.20159178
48. To KK-W, et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin. Infect. Dis.* 2020. doi:10.1093/cid/ciaa1275
49. Ismail, A. ANNALS EXPRESS: Serological tests for Covid-19 antibodies: limitations must be recognised. *Ann. Clin. Biochem. Int. J. Lab. Med.* 2020;57(4),274-276. 000456322092705. 2020. doi:10.1177/0004563220927053
50. Salje H, et al. Estimating the burden of SARS-CoV-2 in France. *Science*. 2020; 369(6500), 208–211.
51. Guo L, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71(1), 778–785.
52. Verdoni L, et al. An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *Lancet*. 2020; 395(10239), 1771–1778.
53. Casadevall A, Pirofski LA. The convalescent sera option for containing COVID-19. *Journal of Clinical Investigation*. 2020; 130(4), 1545–1548.

54. Maiztegui J, Alba J, Fernandez, NJ. Efficacy of immune plasma in treatment of Argentine haemorrhagic fever and association between treatment and a late neurological syndrome. *Lancet*. 1979; 54(1), 1216–1217. 1216–1217.
55. Bloch EM, et al. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19. *Journal of Clinical Investigation*. 2020; 130(6), 2757–2765.
56. Adarsh Bhimraj A, et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Treatment and Management of Patients with COVID-19. www.idsociety.org/COVID19guidelines/treatment. 2020. Disponible en: www.idsociety.org/COVID19guidelines.
57. Duan K, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2020; 117(16): 4690–4696. doi:10.1073/pnas.2004168117
58. World Health Organization. *Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases*. 2020; 1–7.
59. Molina Arias, M. Lectura crítica en pequeñas dosis características de las pruebas diagnósticas. *Pediatr. Aten. Primaria*, 2013; 15(1), 169–173.
60. Amanat F, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat. Med.* 2020; 26(1), 1033-1036..
61. CDC. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing | CDC. (2020). Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>.