

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación de una prueba rápida versus un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2

Evaluation of a rapid test versus a chemiluminescent microparticle immunoassay for the detection of antibodies against SARS-CoV-2

Lara-Sanjuan Fredy,* Parra-Ortega Israel,† Sánchez Pérez Silvia,‡
Alcaraz Ramírez Diana,‡ Rodríguez Mijangos Fabiola,‡ López-Martínez Briceida†,§

Palabras clave:

SARS-CoV-2, ensayo de flujo lateral, IgG, IgM, CMIA.

Keywords:

SARS-CoV-2, lateral flow assay, IgG, IgM, CMIA.

* Facultad de estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

† Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México «Federico Gómez», México.

§ Dirección de Enseñanza e Investigación, Laboratorios Ruiz, Puebla, Pue.

Correspondencia:
Dra. Briceida López Martínez

Directora de Enseñanza e

RESUMEN

Introducción: La serología nos permite la detección rápida de pacientes positivos al SARS-CoV-2, aislarlos y cortar la cadena epidemiológica; por ello se han diseñado ensayos de flujo lateral (LFA) que identifican anticuerpos IgG/IgM en suero. En México la COFEPRIS aprobó distintas pruebas rápidas, usadas para el diagnóstico por COVID-19. **Material y métodos:** Se evaluó sensibilidad y especificidad con el Kit Vazyme 2019-nCoV IgG/IgM, comparándolo con los resultados de dos inmunoensayos automatizados, SARS-CoV-2 IgG/IgM (ARCHITECT, Abbott), utilizando suero de 75 pacientes con diagnóstico de SARS-CoV-2 y 25 negativos a SARS-CoV-2. **Resultados:** Se obtuvo la sensibilidad y especificidad de forma individual (100 y 52% IgG Vazyme, 15.2 y 100% IgM Vazyme) y global 100%, 60%, respectivamente. **Conclusión:** Demostramos que la prueba rápida Vazyme tiene bajo rendimiento en comparación con las pruebas ARCHITECT, por lo que se limita su uso para el diagnóstico por COVID-19.

ABSTRACT

Introduction: Serology allows us to quickly detect SARS-CoV-2 positive patients, isolate them and cut the epidemiological chain; Therefore, lateral flow assays have been designed to identify IgG/IgM antibodies in serum. In Mexico, COFEPRIS approved several rapid tests, used for diagnosis of COVID-19. **Material and methods:** The Vazyme 2019-nCoV IgG/IgM kit, was evaluated sensitivity and specificity compared to the results of two automated immunoassays, SARS-CoV-2 IgG/IgM (ARCHITECT, Abbott), using serum from 75 patients diagnosed with SARS-CoV-2 and 25 negative to SARS-CoV-2. **Results:** Sensitivity and specificity were obtained individually (100 and 52% IgG Vazyme, 15.2% and 100% IgM Vazyme) and globally 100%, 60%, respectively. **Conclusion:** We show that the Vazyme rapid test performs underperforming compared to the ARCHITECT test, so its use for COVID diagnosis is limited its use for the diagnosis of COVID-19.

INTRODUCCIÓN

A finales de diciembre de 2019, se detectaron en la provincia de Wuhan, China múltiples casos de neumonía, los cuales eran causados por un nuevo coronavirus, denominado SARS-CoV-2 al ser aislado de esos

pacientes una semana después.^{1,2} Desde entonces, se extendió e infectó a 114,140,104 millones de casos confirmados de COVID-19, incluidas 2,535,520 muertes hasta el 02 de marzo de 2021.³

El diagnóstico del SARS-CoV-2 se hace mediante técnicas moleculares como la RT-PCR

Citar como: Lara-Sanjuan F, Parra-Ortega I, Sánchez PS, Alcaraz RD, Rodríguez MF, López-Martínez B. Evaluación de una prueba rápida versus un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2. Rev Mex Patol Clin Med Lab. 2021; 68 (2): 45-50. <https://dx.doi.org/10.35366/103338>



Investigación,
Laboratorios Ruiz
Blvd. Díaz Ordaz
Núm. 808,
Col. Anzures, 72530,
Puebla, Puebla,
Tel: 22 3243-8100,
E-mail:
brisalopezmtz@gmail.
com

Recibido: 30/09/2021
Aceptado: 03/11/2021

amplificando diversos genes, los más comunes son RdRP, ORF1ab, N, E y S;⁴ tienen un tiempo de respuesta prolongado, requieren equipo de alto costo y profesionales con capacitación especializada.^{5,6}

Por ello, la detección de anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2 es buena opción para un diagnóstico rápido, sencillo y sensible.⁷ Las pruebas rápidas actuales detectan principalmente inmunoglobulinas de tipo IgM e IgG contra la proteína *spike* (S) y nucleocápside (N).⁸

Los niveles de anticuerpos en plasma se detectan entre tres a seis días para IgM e IgG entre seis y 14 días desde el inicio de los síntomas.^{5,9} Este último se mantiene elevado en la fase de convalecencia tanto en asintomáticos como sintomáticos.⁹

En la actualidad, se emplean distintas técnicas como inmunofluorescencia indirecta (IFI), inmunoanálisis quimioluminiscente (CLIA), inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA), ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (Figura 1) y pruebas rápidas, manifestando su eficacia dependiendo de la etapa que curse la enfermedad,¹⁰ si se monta una respuesta inmunológica, determinar la tasa de mortalidad por infección y aquellos individuos que generan una gran respuesta de anticuerpos para utilizarlos como donantes en terapias con suero convaleciente.¹¹

Sin embargo, un obstáculo para controlar la propagación del virus son los pacientes asintomáticos, ya que son portadores de éste, por lo que las pruebas rápidas buscan diferenciar los casos positivos de los negativos más rápido y así contener la cadena epidemiológica del SARS-CoV-2.^{12,13}

Los ensayos comerciales (CMIA) son de dos pasos, primero se combina e incuba la muestra, las micropartículas recubiertas con antígeno (*spike* o nucleocápside) del SARS-CoV-2 y el diluyente del ensayo. Después los anticuerpos IgG presentes en la muestra anti-SARS-CoV-2 se unen a las micropartículas y posteriormente con el conjugado de anticuerpo anti-IgG humano marcado con acridina forman la mezcla de reacción y se incuban. Después de los ciclos de lavado, se añaden las soluciones preactivadoras y activadoras, dando como resultado una

reacción de quimioluminiscencia que se mide en unidades relativas de luz (URL).

Las pruebas rápidas de anticuerpos (Ac) utilizan el método de inmunocromatografía en fase sólida para su captura y formar los conjugados entre los anticuerpos IgG/IgM presentes en la muestra con partículas de oro coloidal recubiertas por antígenos del SARS-CoV-2 debido a la acción capilar. Migran a la zona de captura (membrana de nitrocelulosa) y se inmoviliza por un anticuerpo IgG/IgM antihumana en la zona de captura correspondiente.

El objetivo del presente trabajo es determinar el rendimiento de prueba rápida comercial, comparándolo con los resultados de dos inmunoensayos automatizados en pacientes atendidos en el Hospital Infantil de México «Federico Gómez» con diagnóstico de neumonía por SARS-CoV-2.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 75 muestras de pacientes con diagnóstico confirmado por biología molecular de SARS-CoV-2 (mujeres n = 38; hombres n = 37; mediana de edad 38 años; rango, 0.8-68 años) entre mayo y julio de 2020 y positivos a la prueba de anticuerpos SARS-CoV-2 IgG (ARCHITECT, Abbott) y SARS-CoV-2 IgM (ARCHITECT, Abbott). Por otro lado, 25 muestras con ausencia de la infección por SARS CoV-2 (mujeres n = 15; hombres n = 10; mediana de edad 34 años; rango 24-58 años) dichas muestras presentaron un resultado negativo en la prueba de anticuerpos SARS-CoV-2 IgG (ARCHITECT, Abbott), para evaluar el Kit de detección 2019-nCoV IgG/IgM VAZYME (Nanjing Vazyme Medical Technology Co., LTD.).

Pruebas de laboratorio

Diagnóstico molecular de SARS-CoV-2: la extracción de ARN, purificación, detección de los genes virales ORF1ab, nucleocápside (N), *spike* (S), gen humano ARNasa P, amplificación y detección según lo descrito en publicaciones previas.

Prueba de anticuerpos anti SARS-CoV-2: las muestras utilizadas previamente se obtuvieron por punción venosa en tubos rojos

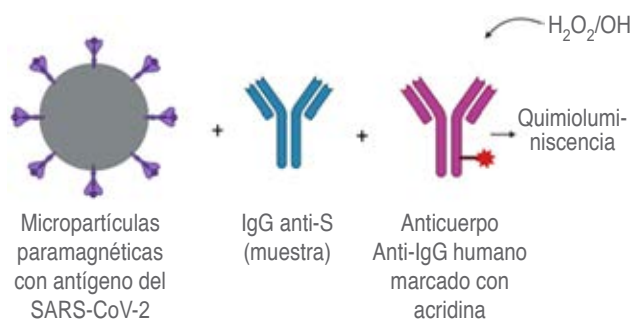


Figura 1: Detección de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 por CMIA.

y centrifugaron a 3,500 rpm/10 min, después en una campana de seguridad se separó el suero, depositándose en tubos criogénicos para su almacenamiento ($-70^{\circ}C$) y posterior análisis.

En el momento de su uso, las muestras se descongelaron y mezclaron con un agitador tipo vortex a baja velocidad o invirtiéndolos 10 veces, tomando 150 μL de muestra depositándolos en copas de recolección. Se procesaron en el instrumento Abbott Architect usando el ensayo Abbott SARS-CoV-2 IgM o IgG, previo al proceso de las muestras, se verificó la confiabilidad del ensayo con los criterios de control de calidad analítico establecidos en el laboratorio clínico.

Pruebas rápidas: el ensayo se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. Los kits de prueba se atemperaron previamente a su uso y se colocaron horizontalmente sobre una superficie plana. Usando el gotero provisto, se agregó una gota (20 μL) de suero/plasma y tres gotas (60 μL) de tampón de dilución en la almohadilla de muestra. El resultado fue leído después de 10 minutos y antes de 15 minutos ya que después de este tiempo el resultado es inválido.

Análisis estadístico: la sensibilidad y especificidad de las pruebas rápidas se obtuvieron al definir los verdaderos positivos y negativos, respectivamente. En el grupo de los positivos, se confirmaron por ensayos de quimioluminiscencia al igual que los controles. Para determinar el rendimiento de los ensayos se calculó el AUC, Índice Kappa, Índice de Youden y la precisión utilizando la base de datos WinEpi y Epidat 3.1.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 100 muestras de pacientes (75 positivas y 25 negativas), los cuales fueron procesados de manera simultánea en ambas plataformas Abbott SARS-CoV-2 IgM/IgG y prueba rápida 2019-nCoV IgG/IgM Vazyme.

La mediana de tiempo desde el inicio de la enfermedad hasta las pruebas de anticuerpos IgM/IgG fue de 35 días. En la [Figura 2](#) se muestra una fotografía representativa de las pruebas de anticuerpos IgM e IgG del SARS-CoV-2; la [Figura 2A](#) muestra la detección de IgM en baja concentración e IgG en alta concentración; la [Figura 2B](#) muestra IgG sólo en alta concentración al igual que en la [Figura 2C](#). No se presentó ningún caso de IgG negativo.

Se determinó el rendimiento de la prueba Vazyme por tipo de inmunoglobulina, obteniendo la sensibilidad y especificidad 100% [IC 95% (99.33-100)], 52% [IC 95% (30.42-73.58)] para IgG y 15.6% [IC 95% (3.86-27.26)], 100% [IC 95% (95-100)] para IgM, como se muestra en la [Tabla 1](#). Además combinando los anticuerpos IgG/IgM, siendo 100% [IC 95% (98.89-100)] y 60% [IC 95% (24.64-95.36)]. Diferente a las que se tiene en el inserto correspondiendo a 91.54 y 97.02% respectivamente.

Tomando como el valor real los ensayos ARCHITEC, Abbott detectó como positivas 15.6% para IgM y 100% IgG, como se muestra en la [Tabla 2](#).

Dentro del análisis, el área bajo la curva de las pruebas de IgG, las pruebas de IgM y las pruebas combinadas de IgM/IgG para el diagnóstico de COVID-19 fueron 0.76 (IC de 95%: 0.66-0.85), 0.69 (IC de 95%: 0.63-0.75) y 0.80 (IC de 95%: 0.64-0.96) ([Figura 3](#)).

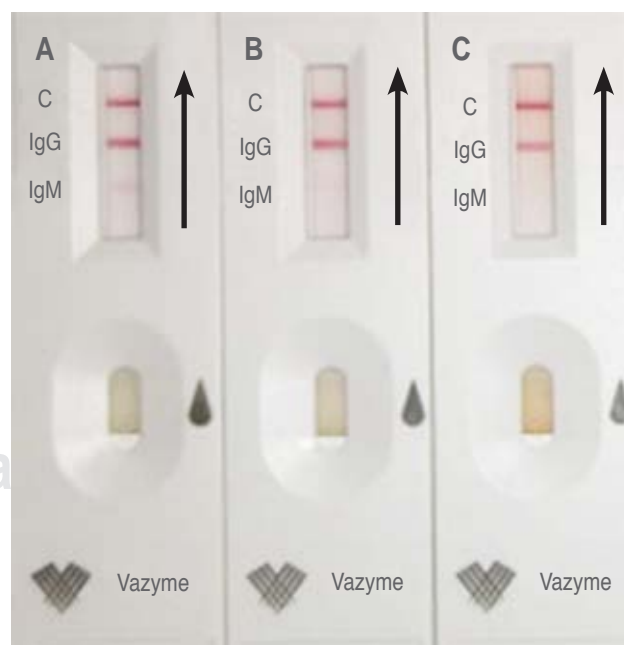


Figura 2: Resultado de la prueba Vazyme experimental.

Tabla 1: Rendimiento del kit de detección 2019-nCoV IgG/IgM Vazyme.

	IgG	IgM	IgG/IgM
Sensibilidad (IC 95%)	100 (75/75)	15.6 (7/45)	100 (45/45)
Especificidad (IC 95%)	52 (13/25)	100 (10/10)	60 (6/10)
Valor predictivo positivo	86.20	100.000	91.800
Valor predictivo negativo	100.00	20.800	100.000
Precisión	88.00	30.900	92.700
Índice de Youden	0.52	0.160	0.600
Índice kappa	0.62	0.063	0.711
Área Bajo la Curva	0.76	0.690	0.800

Tabla 2: Taza de positividad en la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2.

Muestras	Vazyme IgG % (n/N)	Vazyme IgM % (n/N)
Positivas	100 (75/75)	15.6 (7/45)
Negativas	52 (13/25)	100 (10/10)

DISCUSIÓN

La serología juega un papel importante en la seroprevalencia de la enfermedad, son pruebas indirectas que detectan anticuerpos IgG/IgM contra SARS-CoV-2, en plasma o suero. Además de apoyar el diagnóstico por RT-PCR.¹⁴⁻¹⁶

El incremento de los casos generó la necesidad de tener ensayos más rápidos para identificar pacientes positivos, así como asintomáticos, lo cual interrumpirá la cadena epidemiológica al aislarlos de los negativos.^{12,13}

En este estudio retrospectivo actual, incluimos a 75 pacientes confirmados de COVID-19, para investigar el rendimiento clínico de Vazyme, un ensayo de flujo lateral que detecta cualitativamente anticuerpos IgG/IgM del SARS-CoV-2 utilizando el método de referencia de serología CMIA IgG/IgM (ARCHITECT, Abbott), ya que siempre los comparan con ELISA o RT-PCR.^{15,16}

Los resultados obtenidos en este estudio fueron una sensibilidad de 100% y especificidad de 52% para anticuerpos de clases IgG, demostrando que hay reacción cruzada probablemente con otros antígenos, en cambio para anticuerpos de clases IgM, su sensibilidad fue de 15.6% con una especificidad de 100%, demostrando que tienen bajo rendimiento y moderado para IgG.¹⁷

Todas las muestras se tomaron en un promedio de 34 días después de presentar los síntomas, por lo que deben estar presentes anticuerpos IgM, ya que éstos se mantienen unos meses después.⁹

Esto se confirma ya que las muestras analizadas anteriormente se evaluaron con el ensayo CMIA IgG/IgM (ARCHITECT, Abbott) en el cual las muestras positivas y negativas fueron confirmadas por los ensayos anteriores.

El índice de Youden demuestra que para los anticuerpos IgG la prueba puede ser usada, pero para IgM no, al tener un puntaje menor de 0.5. Las pruebas diagnósticas IgM Vazyme e IgM ARCHITEC presentan un grado de concordancia escaso (kappa es igual a 0.063), para IgG presentan un grado de concordancia adecuado (kappa es igual a 0.619).

Un estudio realizado en Polonia que evaluó la misma prueba con una población de 516 voluntarios asintomáticos demostró que no sirve en la detección de casos asintomáticos, ya que sólo detectó siete para IgM y tres para IgG, bajo rendimiento en las pruebas.¹⁴

Además, en otro estudio determinaron que esta prueba rápida tiene un buen rendimiento para IgG pero uno pésimo para IgM, similar al demostrado en esta investigación.¹⁸

Al combinar las dos pruebas para IgG en serie se obtiene una reducción de los falsos positivos, y por lo tanto aumenta la especificidad (100.0%), aunque a costa de disminuir la sensibilidad (99.8%). Por el contrario cuando combinamos las dos pruebas para IgM en paralelo obtenemos una reducción de los falsos negativos, y por lo tanto aumenta la sensibilidad (99.9%), aunque disminuye la especificidad (99.8%), mejorando el diagnóstico al utilizar estas pruebas en conjunto.

CONCLUSIÓN

Demostramos que la prueba rápida Vazyme tiene bajo rendimiento para detectar anticuerpos IgM contra

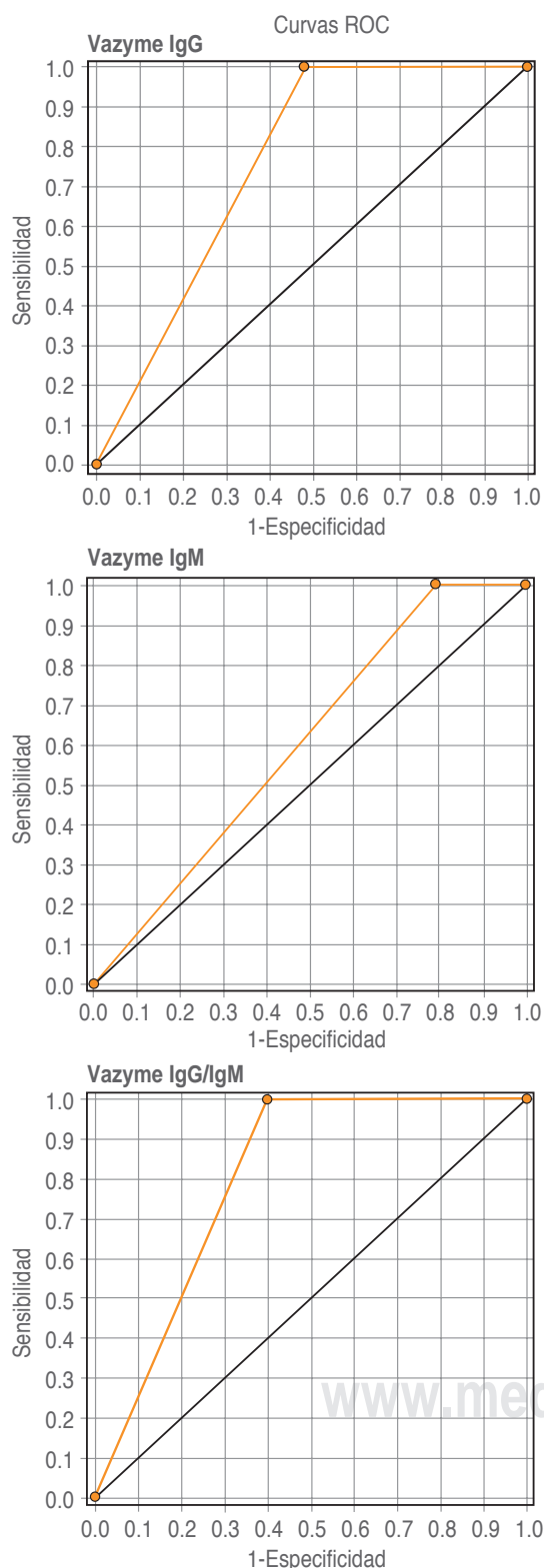


Figura 3: Área bajo la curva de las pruebas de IgG, las pruebas de IgM y las pruebas combinadas de IgM/IgG.

SARS-CoV-2 y reacción cruzada en IgG, por lo que no se recomienda su uso individual para el diagnóstico de COVID-19.

REFERENCIAS

1. Palacios CM, Santos E, Velázquez CMA, León JM. COVID-19, a worldwide public health emergency, *Revista Clínica Española*. 2021; 221 (1): 55-61. doi: org/10.1016/j.rce.2020.03.001.
2. Ludwig S, Zarbock A. Coronaviruses and SARS-CoV-2: A Brief Overview. 2020; 131 (1): 93-96. doi: 10.1213/ANE.0000000000004845.
3. WHO. WHO coronavirus disease (COVID-19) dashboard 2021 [citado 02/03/2021]. Available in: <https://covid19.who.int/>
4. IN-DRE. Listado de Pruebas Moleculares Útiles Por RT-PCR, evaluadas para el diagnóstico de SARS-CoV-2 (Última Actualización 17 De Febrero De 2021). Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/documentos/listado-de-pruebas-moleculares-por-rt-pcr-monoplexado-sars-cov-2?state=published>.
5. 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; 92: 1518-1524. Available in: <https://doi.org/10.1002/jmv.25727>
6. Nicol T, Lefevre C, Serri O, Pivert A, Joubaud F, Dubée V et al. Assessment of SARS-CoV-2 serological tests for the diagnosis of COVID-19 through the evaluation of three immunoassays: Two automated immunoassays (Euroimmun and Abbott) and one rapid lateral flow immunoassay (NG Biotech). *J Clin Virol*. 2020; 129: 104511. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104511>
7. Blacka MA, Shen G, Feng X, Garcia BWF, Feng Y, Vasudevaraja V. Analytical performance of lateral flow immunoassay for SARS-CoV-2 exposure screening on venous and capillary blood samples. *J Immunol Methods*. 2021; 489: 112909. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jim.2020.112909>
8. Pflüger LS, Bannasch JH, Brehm TT, Pfeifferle S, Hoffmann A, Norz D et al. Clinical evaluation of five different automated SARS-CoV-2 serology assays in a cohort of hospitalized COVID-19 patients. *J Clin Virol*. 2020; 130: 104549. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104549>
9. Naaber P, Hunt K, Pesukova J, Haljasmagi L, Rumm P, Peterson P et al. Evaluation of SARS-CoV-2 IgG antibody response in PCR positive patients: Comparison of nine tests in relation to clinical data. *PLOS ONE*. 2020; 15 (10): e0237548. Available in: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237548>
10. Van Tol S, Mogling R, Li W, Godeke GJ, Swart A, Bergmans B et al. Accurate serology for SARS-CoV-2 and common human coronaviruses using a multiplex approach. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9 (1): 1965-1973. doi: 10.1080/22221751.2020.1813636.
11. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, Nguyen T, Chromikova V, McMahon M et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. medRxiv: the preprint server for health sciences. 2020; 2020.03.17.20037713. Available in: <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037713>
12. Malagón-Rojas J, Gómez-Rendón C, Parra EL, Almentero J, Palma R, López R et al. SARS-CoV-2 y RT-PCR en pacientes asintomáticos: resultados de una cohorte de trabajadores del Aeropuerto Internacional El Dorado de Bogotá, 2020. *Biomédica*. 2020; 40 (Supl. 2): 166-172. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/5802>
13. Bai Y, Yao L, Wei T, Tian F, Jin DY, Chen L et al. Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. *JAMA*. 2020; 323 (14): 1406-1407. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2565>

14. Krygier R, Stepien PM, Zarebska-Michaluk D. Rapid serological tests for SARS-CoV-2 IgG/IgM- not worth attention? *Int J Occup Med Environ Health*. 2021; 34 (2): 203-209. Available in: <https://doi.org/10.13075/ijomeh.1896.01756>
15. Meng QB, Peng JJ, Wei X, Yang JY, Li PC, Qu ZW et al. Clinical application of combined detection of SARS-CoV-2-specific antibody and nucleic acid. *World J Clin Cases*. 2020; 8 (19): 4360-4369. Available in: <https://doi.org/10.12998/wjcc.v8.i19.4360>
16. Chan CW, Shahul S, Coleman C, Tesic V, Parker K, Yeo KJ. Evaluation of the truvian easy check COVID-19 IgM/IgG lateral flow device for rapid anti-SARS-CoV-2 antibody detection. *Am J Clin Pathol*. 2021; 155 (2): 286-295. Available in: <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa221>
17. Vizcaíno-Salazar GJ. Importancia del cálculo de la sensibilidad, la especificidad y otros parámetros estadísticos en el uso de las pruebas de diagnóstico clínico y de laboratorio. *Med Lab*. 2017; 23 (7-8): 365-386. Disponible en: <https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/34>
18. Xie X, Nielsen MC, Muruato AE, Fontes-Garfias CR, Ren P. Evaluation of a SARS-CoV-2 lateral flow assay using the plaque reduction neutralization test. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021; 99 (2): 115248. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115248>

www.medigraphic.org.mx