



DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE SARS-COV-2: PRUEBAS DE AUTODIAGNÓSTICO

Uso previsto y
recomendaciones
para su dispensación

Autores:

Pilar MARÍ CLARAMONTE (1)
Mar Olga PÉREZ MORENO (1)
Xavier TEJEDOR GANDUXE (1)
Natalia BOLUFER GARCÍA (1,4)
Miriam ALBERT HERNÁNDEZ (2)
José Antonio CARBAJAL DE LARA (2,3,4)

Especialistas en Análisis Clínicos (1), Microbiología y Parasitología (2),
Farmacia Hospitalaria (3), Farmacéutico Comunitario (4)



Farmacéuticos

Consejo General de Colegios Farmacéuticos

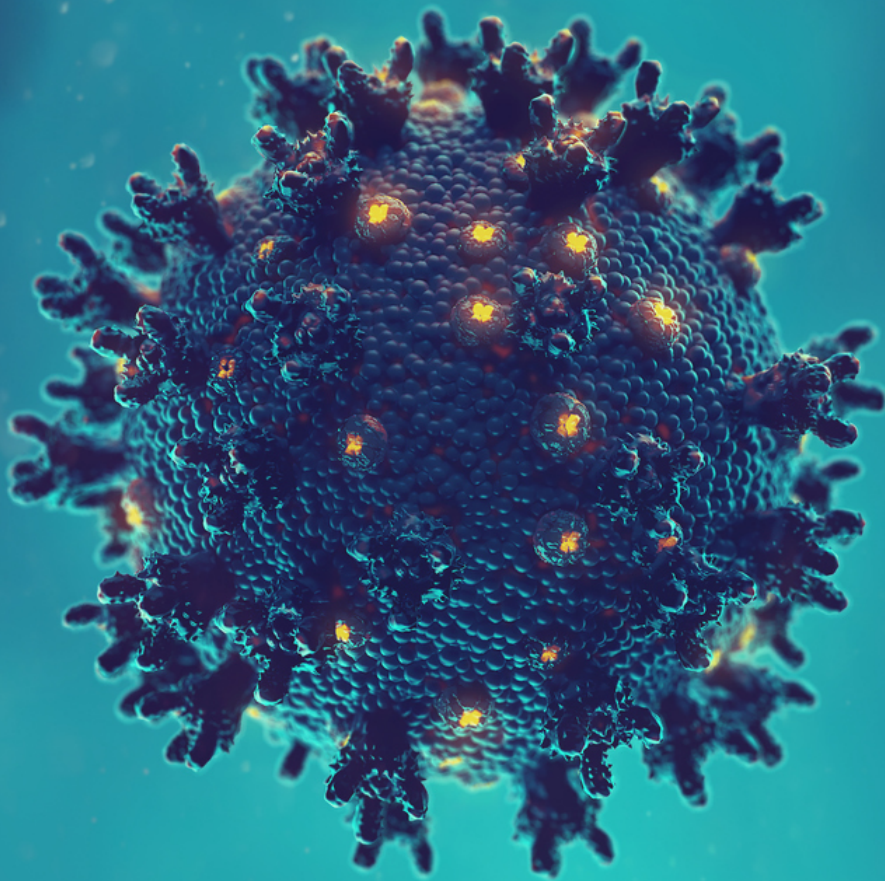
Vocalía Nacional de
Analistas Clínicos

Índice

1. Introducción	3
2. Pruebas de antígenos	5
2.1 Qué detectan. Metodología. Tipo de muestra	6
2.2 Cinética. Cuándo se deben realizar	8
2.3 Rendimiento y limitaciones	9
2.4 Interpretación de resultados	11
2.5 Pruebas realizadas en Laboratorio Clínico. Diferencias con las pruebas rápidas de antígeno (PRDA)	12
2.6 Uso previsto	14
2.7 Recomendaciones generales para su dispensación	15
3. Pruebas de anticuerpos	17
3.1 Qué detectan. Metodología. Tipo de muestra	18
3.2 Cinética. Cuándo se deben realizar	21
3.3 Rendimiento y limitaciones	22
3.4 Interpretación de resultados	25
3.5 Pruebas realizadas en Laboratorio Clínico. Diferencias con los test de autodiagnóstico	26
3.6 Uso previsto	28
3.7 Recomendaciones generales para su dispensación	30
4. Bibliografía	33
5. Anexos. Algoritmos	37

1. Introducción

¿Qué es la COVID-19?



La COVID-19 es una infección causada por el betacoronavirus SARS-CoV-2, que se caracteriza por tener un periodo de incubación medio de 5-6 días (2-3 días con la variante ómicron), con un rango que va de 1 a 14 días.

El 97,5% de los casos sintomáticos se desarrollan en los 11,5 días tras la exposición. Actualmente se considera que la transmisión de la infección comienza 1-2 días antes del inicio de síntomas.

El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la recuperación es de 2 semanas cuando la enfermedad ha sido leve y 3-6 semanas cuando ha sido grave o crítica. El tiempo entre el inicio de síntomas hasta la instauración de síntomas graves como la hipoxemia es de 1 semana, y de 2-8 semanas hasta que se produjera, en el peor de los casos, el fallecimiento.

El diagnóstico de la infección se basa en la observación de los síntomas clínicos, detección directa del virus o bien indirecta (producción de anticuerpos frente al virus) mediante técnicas basadas en la PCR o pruebas serológicas (IgG/IgM), respectivamente. Junto a estas técnicas de diagnóstico, la alteración de determinadas pruebas bioquímicas, inmunológicas y hematológicas realizadas en los laboratorios ayuda a establecer la gravedad y pronóstico de la infección (1).

En la Figura 1 podemos observar la estructura del agente causal y las dianas donde se centran las diferentes técnicas.

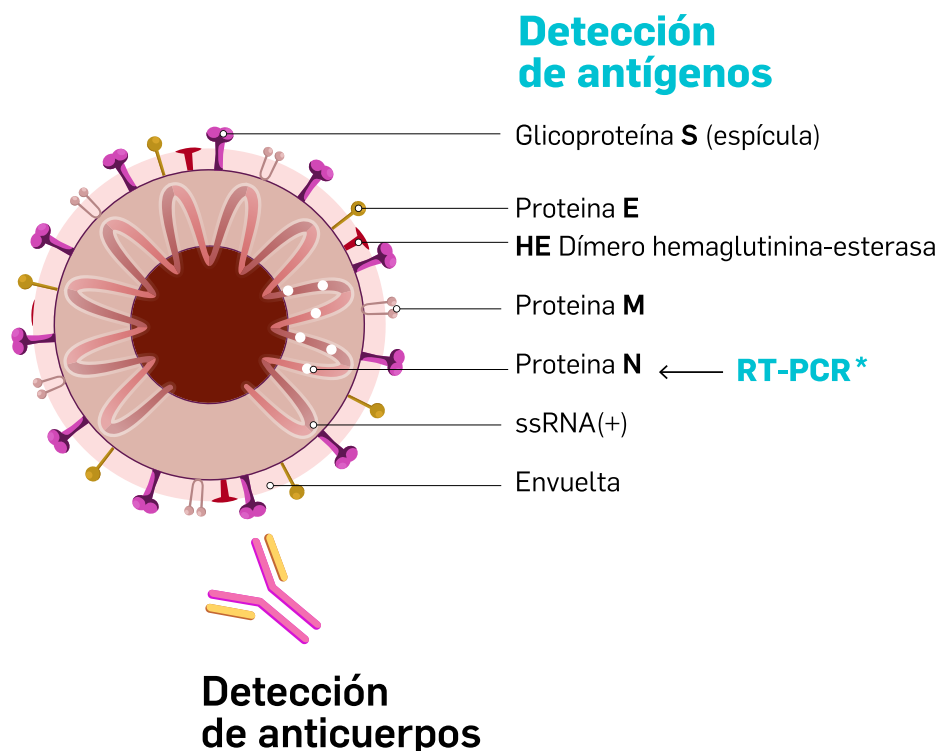


Figura 1. Estructura del coronavirus y objetivos a determinar con las diferentes técnicas

* En la RT-PCR se detectan secuencias específicas del gen N, pero también del S, de la RNA polimerasa, de ORF1ab...

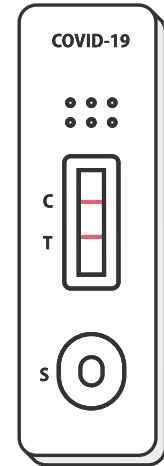
2. Pruebas de antígenos



2.1. QUÉ DETECTAN. METODOLOGÍA. TIPO DE MUESTRA

2.1.1. Qué detectan

Las pruebas rápidas de detección de antígeno (PRDA) exploran la presencia de antígenos del virus en la muestra, entre los que se encuentran la glicoproteína S de la espícula viral y la proteína N de la nucleocápside. La glicoproteína S a su vez está relacionada con la respuesta inmune del huésped.



2.1.2. Metodología

Se basan en la técnica de inmunoensayo de flujo lateral (IEFL), reacción antígeno-anticuerpos, con producción de banda visible.

Se han comercializado diversos kits para la captura y detección del antígeno (proteína N y/o S). Son dispositivos provistos de una tira reactiva donde se encuentran adsorbidos los anticuerpos específicos frente a los antígenos. Todos ellos se caracterizan por presentar una fase de pretratamiento de la muestra utilizando un buffer de extracción, cuya finalidad es liberar la proteína viral presente en la muestra, de manera que quede expuesta y pueda reaccionar eficientemente con los anticuerpos del inmunoensayo.

Estos kits incorporan una ventana de control, realizándose simultáneamente una reacción antígeno-anticuerpo utilizando como diana una proteína normalmente de origen animal. La reacción positiva del control garantiza que la cantidad de muestra ha sido suficiente y que todas las etapas del test se han sucedido correctamente.

La lectura de las pruebas es visual, a los 10-15 min según marca comercial, y el resultado es cualitativo (positivo/negativo), siempre tras comprobar la adecuada reactividad de la reacción de control (2).

2.1.3. Tipo de muestra

Las muestras a utilizar son de origen respiratorio y la muestra óptima va a depender de la presentación clínica y del tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas. Los test de autodiagnóstico comercializados actualmente en España utilizan muestras nasales o de saliva (generalmente con menor sensibilidad (S), aunque siempre deben cumplir con una sensibilidad mínima del 90% en todos los casos). Es importante que el tipo de muestra sea el que ha sido validado por el fabricante de la prueba comercializada.

La elección del tipo de muestra (saliva, frotis nasal, frotis nasofaríngeo o faríngeo) es crítica a la hora de hacer el diagnóstico temprano de la infección por coronavirus. De hecho, hay situaciones en las que se detecta antes mayor cantidad de virus en saliva que en fosas nasales (49). Parece ser el caso de la variante ómicron del SARS-COV-2, para la que ciertos autores recomiendan la toma de saliva en los estadios precoces frente a la toma nasal (50).

2.1.4. Toma de muestra

Para que el resultado sea fiable se requiere una correcta toma de muestra.

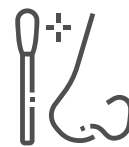
- **Muestra nasal:** introducir el hisopo en la nariz unos 3 cm y tomar muestra en las paredes girando 5 veces para así recoger células epiteliales y moco. Repetir la toma en la otra fosa nasal.
- **Muestra de saliva:** toser profundamente 3-5 veces cubriéndose la boca y a continuación escupir ligeramente el fluido oral en el embudo hasta el límite.

CONSEJOS A LA HORA DE REALIZAR LA TOMA DE MUESTRAS

La muestra debe tomarse y manipularse en condiciones de bioseguridad adecuadas como recomienda la OMS (3).

Lavarse las manos antes de cada prueba para reducir el riesgo de contaminación por contacto manual.

No se recomienda utilizar muestras que sean demasiado viscosas o que contengan sangre de forma visible para así evitar interferencias.



2.1.5. Realización del test

Es importante leer detenidamente y seguir las indicaciones recogidas en las instrucciones de uso del kit.

El kit se almacena en lugar seco y entre 2-30°C. No se debe congelar ni la muestra ni el kit.

La prueba se debe realizar inmediatamente a la toma de muestra, por lo que hay que abrir, etiquetar y preparar el reactivo antes de la toma de muestra.

2.2. CINÉTICA. CUÁNDO SE DEBEN REALIZAR

Los antígenos se expresan sólo cuando el virus se replica activamente; por lo tanto, tales pruebas están diseñadas para identificar infecciones agudas o tempranas.

Los datos de los estudios sugieren que las PRDA realizadas por personal especializado tienen una alta S en pacientes sintomáticos, aunque esta empeora pasados los primeros 5 días desde el inicio de los síntomas, ya que deben ser muestras con alta carga viral para que el test de antígeno sea capaz de detectarla. (Figura 2).

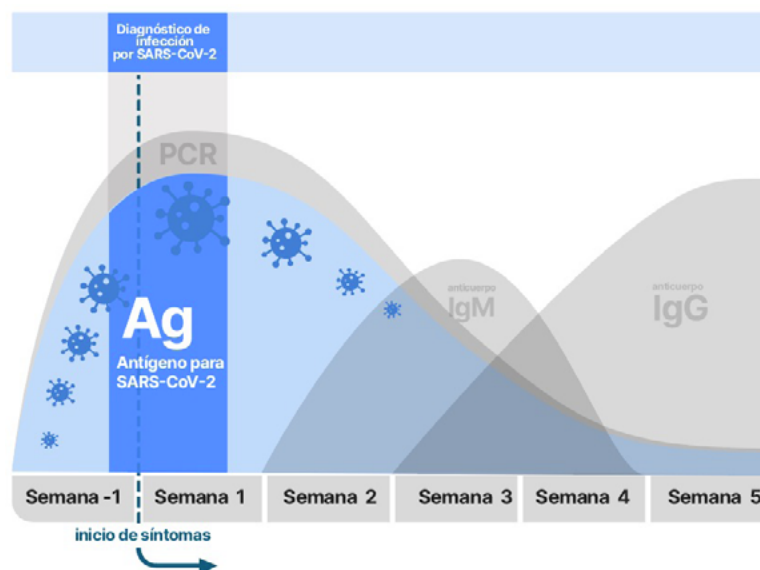


Figura 2: Periodo de detección de test rápido de antígeno para SARS-CoV-2 a lo largo de las semanas.
(Fuente: <https://www.iesmedical.es>)

La Figura 3 muestra la cinética tanto del ARN viral, como del antígeno y los anticuerpos (IgG e IgM). Se detecta un pico del antígeno a los 2 días tras la aparición de los síntomas y una menor detección a partir de los 5 días.

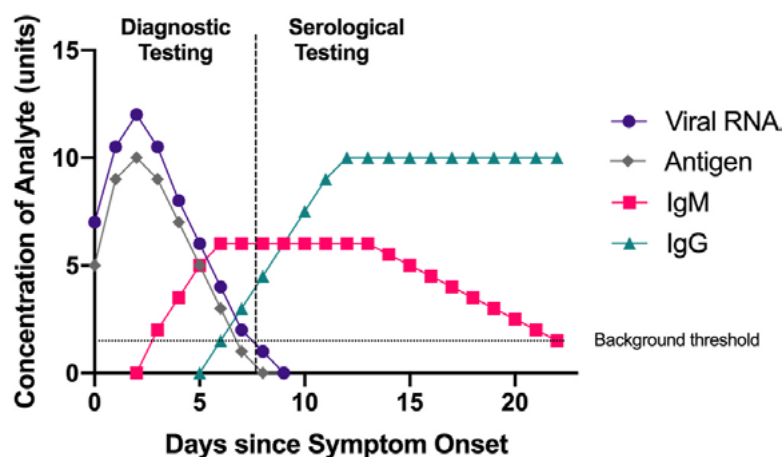


Figura 3: Cinética tras la aparición de síntomas del ARN viral, del antígeno y de los anticuerpos (IgG e IgM) (5).

2.3. RENDIMIENTO Y LIMITACIONES

Como ya se ha señalado anteriormente, se han desarrollado dos grandes grupos de técnicas de detección de antígenos de SARS-CoV-2, las pruebas rápidas basadas en el IEFL, que son las que se dispensan en farmacias como pruebas de autodiagnóstico, y las basadas en enzimoimmunoensayos (ELISA) o quimioluminiscencia (CLIA) que se realizan en laboratorios clínicos.

Las PRDA de SARS-CoV-2, por su facilidad de ejecución y corto tiempo de respuesta, ofrecen la posibilidad de ampliar el acceso de la población a los test y de agilizar el diagnóstico de la infección pero, en contrapartida, tienen una menor S diagnóstica que las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN), PCR y TMA, que son las de referencia (6,7).

El límite de detección de la mayoría de PRDA se ha situado entre 10^6 y $5,5 \times 10^7$ copias/ml, lo que significa que satisfarían las exigencias de la OMS en cuanto a la necesidad de que detecten de forma consistente a los pacientes más infecciosos (los que expresan $\geq 10^6$ genomas/ml; ciclo umbral o Cycle threshold (Ct) =entre 20 y 30) y, a ser posible, a los que expresen $>10^4$ copias/ml, de modo que contribuyan a disminuir la transmisión viral (3, 8,9).

Hasta el momento, no hay constancia de que la S analítica se haya visto afectada por la aparición de nuevas variantes del virus, lo que es lógico, ya que la mayoría de mutaciones se localizan en la región del genoma que codifica la espícula y no en la que codifica la nucleocápside. Por lo que respecta a la especificidad (E) analítica de las PRDA, esta parece ser excelente sin que haya interferencia por la presencia de otros virus respiratorios.

Sensibilidad (S) y especificidad (E) clínica de las pruebas rápidas de detección de antígeno de SARS-CoV-2

Tanto el ECDC como los CDC establecen el mínimo de S y E clínica para las PRDA en un 80 y 97% respectivamente (10,11).

Debido a la intensa, pero corta duración de la excreción del virus desde el tracto respiratorio superior, la S clínica de las PRDA es variable en función del tiempo de evolución de la enfermedad y también del tipo de muestra y técnica de toma de muestra, así como de la situación clínica y epidemiológica del paciente.

La S clínica de las PRDA está asociada a la carga viral, independientemente de que los individuos sean sintomáticos o asintomáticos, siendo superior o cercana al 90% en muestras con un $Ct < 30$ (7,12-15). Hay un gran número de estudios que avalan que en los pacientes presintomáticos y sintomáticos la S clínica es mayor en los primeros 5 días de la infección (aproximadamente del 93%), coincidiendo con el pico de carga viral, y que disminuye rápidamente en los días posteriores, mientras que en general es menor en sujetos asintomáticos, para los que en algunos ensayos no se alcanza una S del 80% incluso en pacientes con $Ct < 30$ (12,16,17).

En el caso de los individuos asintomáticos que no son contactos de un positivo es difícil evaluar la S de las PRDA, ya que no se puede datar la exposición, mientras que en los que sean contactos estrechos de un caso la máxima S se consigue entre el quinto y séptimo día post-exposición.

Hay que señalar, por otro lado, que las PRDA disponibles para diagnóstico *in vitro* de uso profesional han sido evaluadas por entidades independientes, mientras que los test de auto-diagnóstico son evaluados por un organismo notificado, designado por las autoridades, que audita a los fabricantes de productos sanitarios, verifica que el diseño y la información son adecuados para que sea utilizado por no profesionales y que cumple con los requisitos esenciales.

En cuanto a la influencia del modo de toma de muestra y la persona que realiza el test, hay varios estudios que demuestran que la S clínica de las PRDA en muestras recogidas por el propio usuario (que suele tratarse de una muestra nasal) es inferior que cuando la muestra es recogida por un profesional (que acostumbra a ser una toma nasofaríngea (8,17-19); una publicación reciente ponía en evidencia que para un mismo ensayo la S era ligeramente superior si el test lo lleva a cabo un profesional de laboratorio (76%) que si lo hacía un sanitario entrenado (70%), mientras que la diferencia era muy considerable cuando la ejecución e interpretación corre a cargo de un usuario (57%) (8). Estos resultados probablemente reflejan la mayor carga viral en las muestras nasofaríngeas comparadas con las nasales y que a menor experiencia y conocimientos mayor será el riesgo de no ceñirse estrictamente a las instrucciones de recogida de muestras y ejecución del test.

No obstante, las PRDA autorizadas como de autodiagnóstico están evaluadas por los Organismos Notificados para que puedan ser realizadas por un profano. Aunque una prueba realizada por un profesional sanitario se realiza con mayor destreza, lógicamente, la prueba de autodiagnóstico está preparada para poderse realizar por un profano y que los datos obtenidos sean consistentes.

Es por ello que en las autorizaciones excepcionales llevadas a cabo por la AEMPS en las últimas semanas de 2021, como medida temporal, se ha permitido la venta en farmacias de determinadas PRDA de uso profesional para su uso por la población en general. En esas autorizaciones excepcionales y temporales, se ha valorado por parte de la AEMPS, entre otros criterios, que se traten de pruebas únicamente con toma de muestra nasal y previamente validadas por la AEMPS, para así evitar los problemas asociados a un uso incorrecto de este tipo de dispositivos, en los que el profesional sanitario y de laboratorio son los profesionales habilitados para la correcta ejecución e interpretación.

La E clínica de las PRDA basadas en IEFL es en todos los casos estudiados superior al 98 % (9,12,16).

2.4. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Rendimiento de las pruebas rápidas de detección de antígeno de SARS-CoV-2 en función de la probabilidad pre-test: interpretación de los resultados

El rendimiento diagnóstico y la interpretación de los resultados de las PDRA dependen no sólo de la S y E (inherentes a cada ensayo), sino también de la probabilidad pre-test, que a su vez está condicionada por la prevalencia de la infección en la población estudiada y el contexto clínico o epidemiológico del paciente. (Figuras 4 y 5).

En términos generales, cuando la probabilidad pre-test es alta (elevada prevalencia de infección y paciente con una clínica sugestiva o contacto estrecho de un caso) el valor predictivo positivo (VPP) de una PRDA será elevado, mientras que el valor predictivo negativo (VPN) será bajo, lo que significa que un resultado positivo tendrá una alta fiabilidad, mientras que un resultado negativo (considerando las limitaciones de S de los test antigénicos) debería confirmarse por TAAN.

Por el contrario, en sujetos asintomáticos y que no tienen una historia conocida de exposición al SARS-CoV-2 el VPP de una PRDA será bajo, es decir, habrá un alto porcentaje de falsos positivos, lo que implica la necesidad de confirmar el resultado mediante TAAN (10,17)

En el caso de TDRA realizados por el paciente, algunas CCAA lo consideran diagnóstico, mientras otras exigen su confirmación por TAAN.

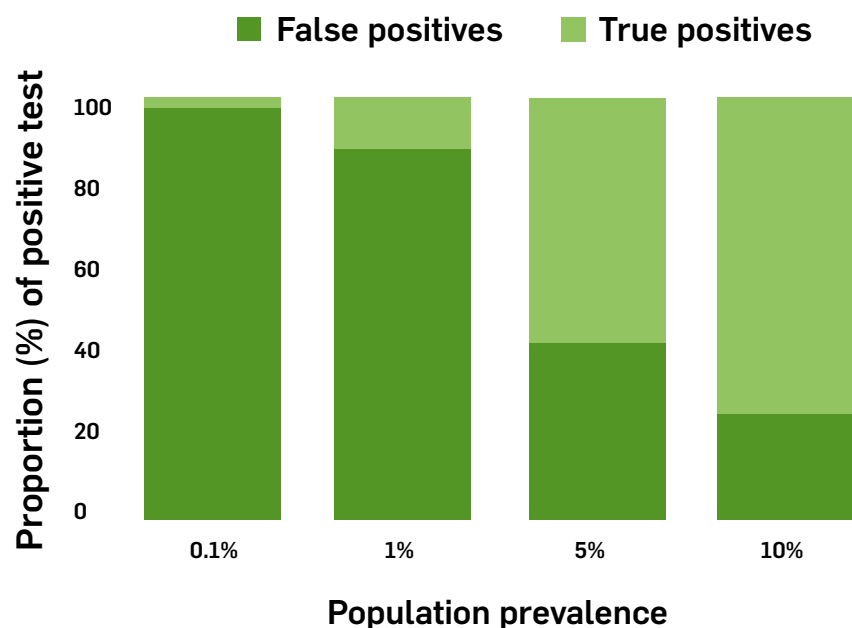


Figura 4: Proporción de resultados falsos positivos y verdaderos positivos por cada 10.000 pruebas realizadas, para una prevalencia entre 0,1% y 10% en ensayos que cumplan los requisitos mínimos recomendados por ECDC (sensibilidad 80% y especificidad 97%) (10).

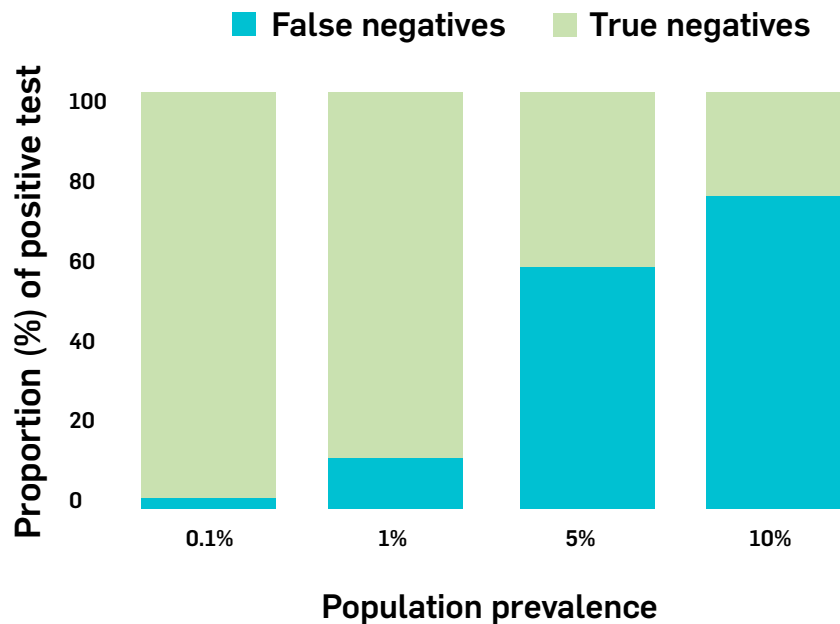


Figura 5: Proporción de resultados falsos negativos y verdaderos negativos por cada 10.000 pruebas realizadas, para una prevalencia entre 0,1% y 10% en ensayos que cumplan los requisitos mínimos recomendados por ECDC (sensibilidad 80% y especificidad 97%) (10).

2.5. PRUEBAS REALIZADAS EN LABORATORIO CLÍNICO. DIFERENCIAS CON LAS PRUEBAS RÁPIDAS DE ANTÍGENO (PRDA)

Debido a la baja S de la detección de anticuerpos en las primeras semanas de infección, el diagnóstico de la infección aguda se basa actualmente en la detección directa del SARS-CoV-2 mediante técnicas de TAAN (PCR y TMA) y/o de detección de antígeno (TDAg) (20-22) en Laboratorios Clínicos especializados.

Como ya se ha comentado, en la actualidad se han desarrollado dos grandes grupos de TDAg de SARS-CoV-2. Las más usadas se basan en los IEFL, utilizados como test de autodiagnóstico, y los CLIA o ELISA, técnicas realizadas en Laboratorios Clínicos especializados de forma automatizada. Ambos tipos de pruebas se basan en la detección de la proteína N, que destaca por su abundancia en el virión (≈ 1000 copias) y porque es una proteína interna en el virión y no unida a membrana, lo que facilita el proceso de extracción. Para la captura y detección del antígeno (proteína N), se emplean anticuerpos monoclonales generalmente de ratón, o policlonales de conejo, humanos o de otras especies. Algunas pruebas usan combinaciones de varios anticuerpos frente a la proteína N, incrementando la S y robustez de los ensayos (3).

Como hemos dicho anteriormente, los IEFL (sean pruebas de autodiagnóstico o no) se realizan de manera fácil y rápida, siendo la lectura habitualmente en unos 15 minutos (10-30 min según marca comercial) y de modo visual, proporcionando un resultado cualitativo (positivo/negativo). Sin embargo, la posibilidad de falsos negativos es alta (7). Los test de autodiagnóstico están diseñados para ser utilizados por el público en general, por lo que no necesitan conocimientos o entrenamiento especial para su empleo pero resulta fundamental leer atentamente las instrucciones de uso que han sido redactadas para que sean fácilmente comprensibles por cualquiera.

Es un hecho constatado que la falta de experiencia de un profano en comparación con el personal sanitario puede afectar al rendimiento de las pruebas.

Por tanto, es muy importante que el profesional que dispensa este tipo de pruebas realice el recordatorio, ante cualquier duda, sobre la necesidad de seguir las instrucciones de uso que acompañan al producto para garantizar que la toma de muestra es correcta y seguir paso por paso el procedimiento descrito, así como las instrucciones para la interpretación de los resultados.

Del mismo modo, resulta fundamental advertir de los errores potenciales que podrían darse en su ejecución por usuarios no expertos, como es el caso de la población general a la que se dispensan este tipo de pruebas.

Las TDag automatizadas, realizadas en Laboratorios Clínicos especializados presentan mayor S y rendimiento. Además, la señal lumínica producida en estas técnicas aumenta en relación a la cantidad de proteína N presente en la muestra y por ello el informe de resultados suele ser cuantitativo (pg/mL o TCID₅₀/mL); no obstante, en algunas marcas el resultado es cualitativo (S/CO). Todavía se desconoce el valor práctico de esta cuantificación, que es esperable que, como en el caso de las TAAN, presente importantes limitaciones como la variabilidad en la calidad de las muestras obtenidas, falta de estandarización entre pruebas, etc. El tiempo hasta la obtención de resultados es más prolongado (entre 35 y 160 minutos), según método, incluyendo la fase de pretratamiento. Su rendimiento es medio-elevado, entre 100 y 400 muestras/hora/analizador (3).

En resumen, las PDRA para la detección de antígeno del SARS-CoV-2 ofrecen ventajas prácticas como sencillez de uso, rapidez en los resultados, son económicas y sin necesidad de equipamientos complejos para su realización, lo que permitiría facilitar el acceso a los test diagnósticos y su frecuencia (22). Además, al detectar cargas virales más elevadas, su positividad se correlaciona mejor que la de los TAAN con la actividad de la infección y probablemente identifica a los sujetos con mayor probabilidad de transmitir la infección.

En contrapartida son menos sensibles, especialmente en individuos asintomáticos y presintomáticos (presumiblemente baja carga viral) en los que se podrían obtener falsos negativos. Los Laboratorios Clínicos especializados realizan las TDag automatizadas con mayor S, fiabilidad y rendimiento en los resultados.

Aunque el potencial de los test de autodiagnóstico puede ser clave en el control epidemiológico de la infección por SARS-CoV-2, la supervisión directa y constante de los Laboratorios Clínicos es esencial para la adecuada y eficiente implementación y ejecución de dichas pruebas, así como para la interpretación de los resultados obtenidos en los TDag y su integración en algoritmos diagnósticos.

2.6. USO PREVISTO

En resumen, las pruebas de autodiagnóstico son evaluadas por un Organismo Notificado. Se trata de un organismo independiente designado por las autoridades, que audita a los fabricantes de este tipo productos sanitarios, verifica que el diseño y la información son adecuados para que sea utilizado por no profesionales y que cumple con los requisitos esenciales. Si la evaluación es satisfactoria, emite un certificado CE.

En cambio los de uso profesional, se autocertifican para la obtención del marcado CE y, posteriormente, por regla general, se evalúan en instituciones independientes y los resultados obtenidos se publican en revistas científicas.

Las pruebas de autodiagnóstico no serán consideradas, salvo algunas excepciones, para el diagnóstico de confirmación para personas sintomáticas o contactos de casos confirmados, ni se admiten para pre-admisión a un evento, o tras volver de un área de riesgo. Tampoco se reconoce su utilización para certificar la recuperación ni para confirmar la ausencia de infección activa para certificado COVID digital de la Unión Europea (2,3).

Las pruebas de autodiagnóstico pueden ser de ayuda como complemento a otros métodos diagnósticos en el control de la pandemia de la COVID-19, al permitir detectar más sospechas de casos y, por tanto, ofrecer más oportunidades de controlar la transmisión.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que las pruebas de autodiagnóstico no serán consideradas, salvo excepciones, para el diagnóstico de confirmación de infección activa ni en personas con síntomas ni en asintomáticos.

Los resultados positivos en estas pruebas se consideran casos sospechosos que deberán confirmarse en un centro sanitario mediante una PDIA (prueba de diagnóstico de infección activa).

2.7. RECOMENDACIONES GENERALES PARA SU DISPENSACIÓN (VER EL ALGORITMO DEL ANEXO 1)

El objetivo de estas recomendaciones generales es ofrecer el adecuado soporte de información sobre los test de autodiagnóstico para la detección de antígenos del SARS-CoV-2 a los farmacéuticos comunitarios para realizar una adecuada dispensación de este tipo de test y facilitar la respuesta a las preguntas de los usuarios potenciales ante la dispensación de estos productos.

Es importante seguir las recomendaciones generales sobre la conveniencia de que las personas que presenten **síntomas compatibles con la enfermedad o contactos estrechos de casos confirmados** deben contactar con los servicios sanitarios de su Comunidad Autónoma para recibir indicaciones.

Los usuarios de estas pruebas deberán recibir indicaciones claras sobre cómo realizar la prueba, interpretarla y actuar ante un resultado positivo o negativo.

Antes de realizar la prueba

- Informar a la persona solicitante de la prueba cómo realizar la toma de muestra y los siguientes pasos, según las instrucciones de uso del test
- Aclarar posibles dudas o informaciones incorrectas
- Informar de los posibles resultados y las acciones a realizar según cada uno de ellos

Si tras la realización de la prueba

El resultado es negativo

- En el momento de realizar el test, la carga viral de SARS-CoV-2 es baja.
- No garantiza que no esté infectado, ya que podría estar en fase de incubación.
- En caso de estar infectado (falso negativo), es poco probable que pueda contagiar la enfermedad.
- Su validez es limitada. Es muy importante mantener las medidas básicas de prevención.

Si el resultado es positivo

- Se debe comenzar el aislamiento domiciliario y contactar, a través de los canales establecidos en cada CCAA, para que valoren la manera de actuar.

INDICACIONES PARA LA CUARENTENA

- Es necesario que se aisle durante 7 días en casos confirmados asintomáticos o con síntomas leves.
- Si convive con más gente, es muy importante que, en la medida de lo que sea posible, la habitación donde se instale:
 - Sea en una habitación individual y que quede siempre con la puerta cerrada.
 - Tengaventilación directa al exterior. Debe ventilarse un mínimo de 10 minutos, 3 veces al día.
- Pueda disponer un lavabo de uso particular. Si no es posible, debe desinfectar con lejía después de cada uso.
- No puede salir de las zonas de aislamiento designadas. En caso que sea imprescindible ir a zonas comunes, debe lavarse las manos, llevar mascarilla y extremar el distanciamiento con el resto de convivientes.
- No puede recibir visitas y debe evitar el contacto próximo con cualquier persona y con animales domésticos.
- Debe lavarse las manos con mucha frecuencia, preferiblemente con soluciones hidroalcohólicas.
- Debe taparse la boca y la nariz con pañuelos de un sólo uso al toser o estornudar o taparse con la parte interna del codo e inmediatamente, lavarse las manos y tirar el pañuelo usado.
- Cada vez que alguien necesite entrar en la habitación, debe ventilar el espacio previamente un mínimo de 10 minutos y ponerse la mascarilla, tanto el enfermo como la persona cuidadora.
- Si la persona aislada es una madre lactante, debe ponerse la mascarilla siempre que esté cerca de su bebé y lavarse las manos muy cuidadosamente antes del contacto.
- Debe ducharse y cambiarse de muda diariamente.

3. Pruebas de anticuerpos



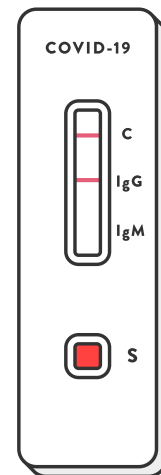
3.1. QUÉ DETECTAN. METODOLOGÍA. TIPO DE MUESTRA

3.1.1 Qué detectan

Se trata de una prueba para la detección de anticuerpos frente al coronavirus SARS-CoV-2, diseñada para que la propia persona recoja la muestra de sangre capilar, realice el autodiagnóstico e interprete su resultado.

La lectura es visual y el resultado cualitativo (presencia/ausencia), los 10-15 minutos, según marca comercial.

La presencia de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 no necesariamente constata una infección en curso. El efecto protector de los anticuerpos frente al SARS-CoV-2 a lo largo del tiempo sigue siendo investigado por la comunidad científica internacional, por lo que, la detección de anticuerpos no indica que la persona haya logrado inmunidad protectora.



Tipos de test de anticuerpos, en función de sus dianas:

Test de anticuerpos anti-N

La mayoría de los test rápidos de anticuerpos de los que disponemos en el mercado, detectan anticuerpos frente a la “nucleocápside” (N), aunque también pueden detectar anticuerpos frente a otras proteínas virales (S, M y E).

Los test de anticuerpos anti-N son válidos para confirmar inmunidad adquirida por infección natural, pero no para confirmar la inmunidad generada frente a la vacuna, excepto en el caso de vacunas que contengan el virus completo inactivado.

Test de anticuerpos anti-S

Los test de anticuerpos anti-S detectan anticuerpos frente al antígeno S (la proteína Spike del SARS-CoV-2), proteína frente a la que se genera inmunidad tras la vacunación (24) (Figura 1).

Son test de nueva generación, e incluyen en las instrucciones de uso como indicación “la evaluación de la respuesta inmune generada por la vacuna” y habitualmente, se denominan test de anticuerpos neutralizantes. A este respecto, indicar que no lo son exactamente (la detección de anticuerpos neutralizantes requiere conocimientos altamente especializados e instalaciones de cultivo con nivel de bioseguridad 3), sin embargo, los anticuerpos anti-S, muestran fuerte correlación con dichos anticuerpos neutralizantes, por lo que, en la práctica, se consideran equivalentes.

Estos test detectan anticuerpos IgG y/o IgM frente al antígeno S, y permiten poner de manifiesto, tanto los anticuerpos producidos en respuesta a la infección, como los generados post-vacunación.

3.1.2. Metodología

Los kits de anticuerpos deben contener (26):

- 1 bolsa de aluminio herméticamente sellada que contiene: 1 casete COVID -19 IgG e IgM RAPID TEST y una bolsa desecante;
- 1 bolsa de plástico transparente que contiene una pipeta capilar para la recolección de muestra de sangre;
- 1 frasco con gotero que contiene diluyente de prueba rápida para COVID 19 IgG/ IgM RAPID TEST suficiente para 1 prueba;
- 1 gasa limpiadora antiséptica para la piel;
- 2 lancetas esterilizadas para la auto extracción de muestra de sangre;
- 1 folleto de instrucciones de uso

Es un ensayo inmunocromatográfico rápido para la detección cualitativa de IgG e IgM anti SARS-CoV-2.

La técnica se basa en la afinidad que hay entre el antígeno y el anticuerpo mediante una reacción, formando un complejo que genera una banda visible.

Se realiza en un formato tira sobre un soporte físico que es una membrana de nitrocelulosa donde los componentes migran lateralmente por capilaridad.

En la tira hay tres zonas claramente diferenciadas:

- **Zona conjugada:** donde depositamos las gotas de sangre capilar con el diluyente
- **Zona de captura:** si hay anticuerpos quedarán fijados a la Ag, observando la banda que nos permitirá la lectura.
- **Zona de control:** es imprescindible que dé positiva, ya que, garantiza que ha habido muestra suficiente y la membrana se ha empapado correctamente. En caso de no positivizarse, invalida el test (Figura 5) (2).

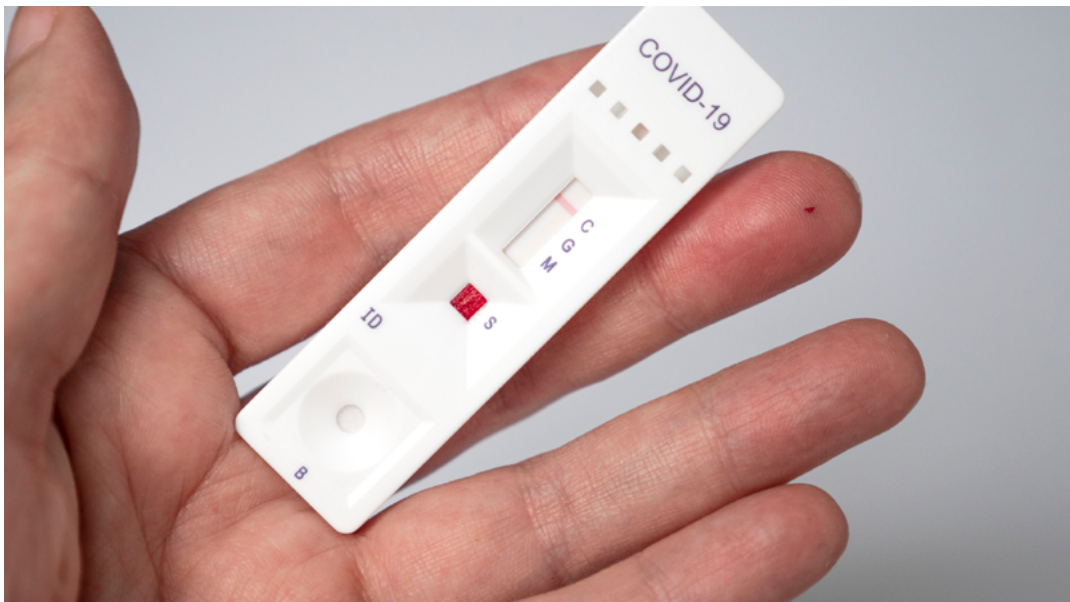


Figura 5: Autotest de anticuerpos frente al SARS-COV-2: ejemplo de positividad del control.

3.1.3. Tipo de muestra

El tipo de muestra es sangre capilar, obtenida por punción con lanceta en la yema del dedo. Para evitar la formación de burbujas que podrían afectar a la cantidad de muestra, se recomienda que la recogida de la muestra se haga con la pipeta colectora de la sangre, en posición horizontal sin presionar la ampolla y colocándola en contacto con la gota de sangre, de esta manera la sangre fluirá al interior de la pipeta mediante capilaridad.

También puede realizarse haciendo uso de una superficie plana con la punta sobresaliendo del borde. En esta posición, se coloca la gota de sangre en contacto con la pipeta, facilitando su entrada por capilaridad.

3.2. CINÉTICA. CUÁNDO SE DEBE REALIZAR

3.2.1. Cinética

En personas infectadas el periodo de incubación puede variar de 1 a 14 días, con una prevalencia de 5 a 6 días, desde el inicio de los síntomas.

Tras la infección, el sistema inmune produce anticuerpos frente a las distintas proteínas del coronavirus (Figura 6):

- **IgM- respuesta rápida.** Los niveles aparecen a los 7-10 días de inicio de la infección y se detecta mayor positividad a los 15 días, negativizando alrededor del día 20 desde el inicio de los síntomas.
- **IgG- respuesta tardía.** Aparece aproximadamente a los 10-15 días del inicio de la infección. Los niveles son máximos tras 14 días del inicio de los síntomas (27).

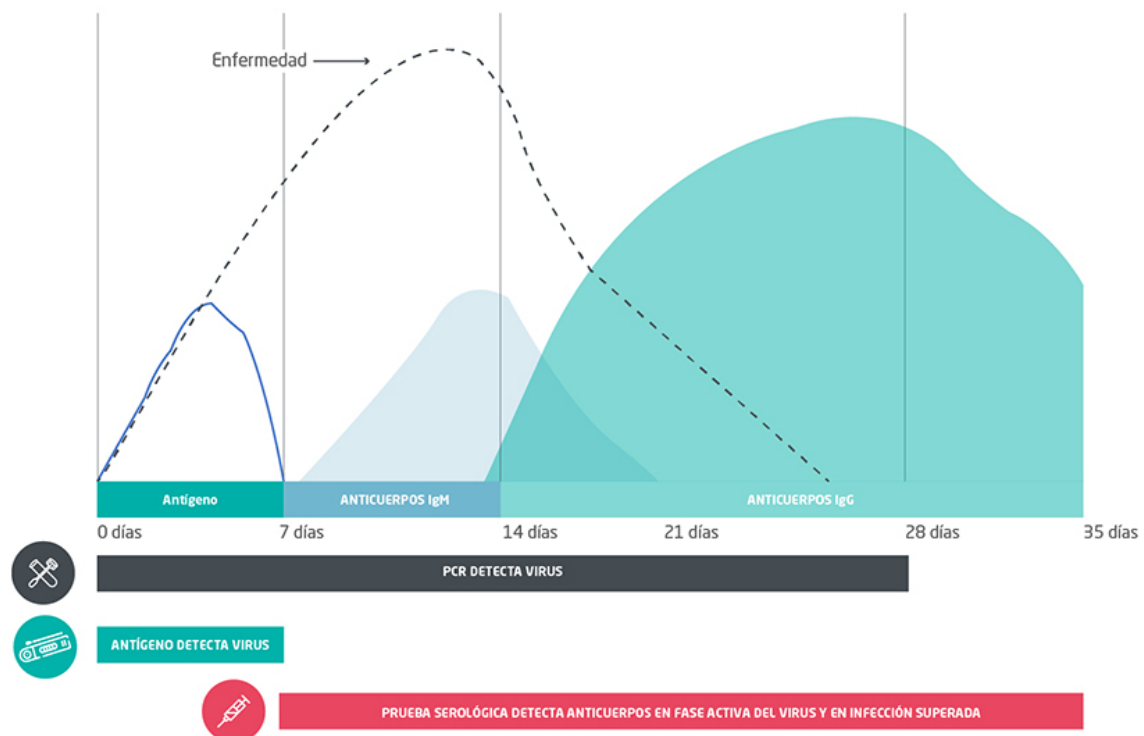


Figura 6: Cinética de la aparición de antígenos y anticuerpos (IgG e IgM) frente al SARS-CoV-2.
(Fuente: <https://www.quironsalud.es>)

Los anticuerpos frente a la proteína N aparecen antes que los anticuerpos frente a la proteína S, y a su vez, tienden a disminuir e incluso a negativizarse antes.

3.2.2. Cuándo se deben realizar

A medida que progresa la enfermedad, la PCR o los TDag puede producir falsos negativos, por lo que, en pacientes con sospecha fundada de infección, la detección de anticuerpos podría servir de apoyo al diagnóstico con una aceptable S a partir del día 7 tras la aparición de síntomas. Sin embargo, hay algunas objeciones a este respecto, pues como se muestra en la Tabla 1, la S de los IEFL, en el mejor de los casos, no superaría al 75% en los primeros 15 días.

En general, la población susceptible de utilizar estas pruebas es toda aquella persona que desee confirmar si presenta anticuerpos frente al SARS-CoV-2, sin olvidar que un resultado negativo no descarta una infección previa.

3.3. RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DE LAS TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A SARS-COV-2

Sensibilidad y especificidad clínica de las técnicas rápidas de detección de anticuerpos frente a SARS-CoV-2

Como se ha detallado en apartados anteriores, las pruebas serológicas disponibles para estudiar la respuesta inmune humoral frente a SARS-CoV-2 se basan en la detección de diferentes isotipos de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA o inmunoglobulinas totales) frente a distintos epítomos de las proteínas virales que han demostrado ser inmunogénicas (proteínas S, N o región RBD de S1) ya sea mediante técnicas de ELISA o CLIA o bien mediante IEFL, que son las pruebas rápidas empleadas también como autodiagnóstico.

El rendimiento analítico de las pruebas serológicas dependerá no sólo de la calidad de los reactivos, características del test (isotipo/s de inmunoglobulinas que detecta y contra qué antígenos van dirigidas), sino también del momento en que se toma la muestra respecto a la exposición o inicio de los síntomas, del curso de la infección y de las características del paciente en lo que concierne a su respuesta inmune.

Para los test que detectan IgM la mayor S clínica se consigue entre los días 16-21 y para los que detectan IgG a partir de los 21 días, mientras que en los primeros 10 días de la infección la mayor S analítica la presentan las pruebas que detectan anticuerpos totales. El mayor rendimiento, independientemente del tiempo transcurrido desde el inicio de la infección, lo ofrece la detección combinada y diferenciada de IgG e IgM (27).

La S clínica de las diferentes pruebas de IEFL existentes en el mercado es muy variable, aunque como norma es inferior a la de los ensayos que emplean ELISA y CLIA y disminuye cuando se emplea sangre total en lugar de suero (28), y además está condicionada por la subjetividad de la lectura. En la Tabla 1 se resume el rango de S clínica alcanzado por 11 pruebas de IEFL (3 dirigidas frente a S+N y en el resto no se especificaba) evaluadas en pacientes hospitalizados por COVID-19 en dos hospitales portugueses (29).

	<10 días	10-15 días	16-21 días	>21 días
IgM	38-64%	42-75%	62-85%	62-88%
IgG	38-71%	50-69%	70-85%	69-88%
Ig+IgM	50-64%	58-75%	71-85%	78-88%
Anticuerpos totales	61%	61%	91%	91%

Tabla 1: Sensibilidad clínica de 11 IEFL evaluadas en pacientes ingresados por COVID-19 en 2 hospitales portugueses (29)

En la Figura 7 se resume la S combinada, con los intervalos de confianza del 95%, de las diferentes clases de anticuerpos por semana desde inicio de los síntomas (estimaciones derivadas de 24 estudios que incluían ensayos de IEFL, ELISA y CLIA (31)

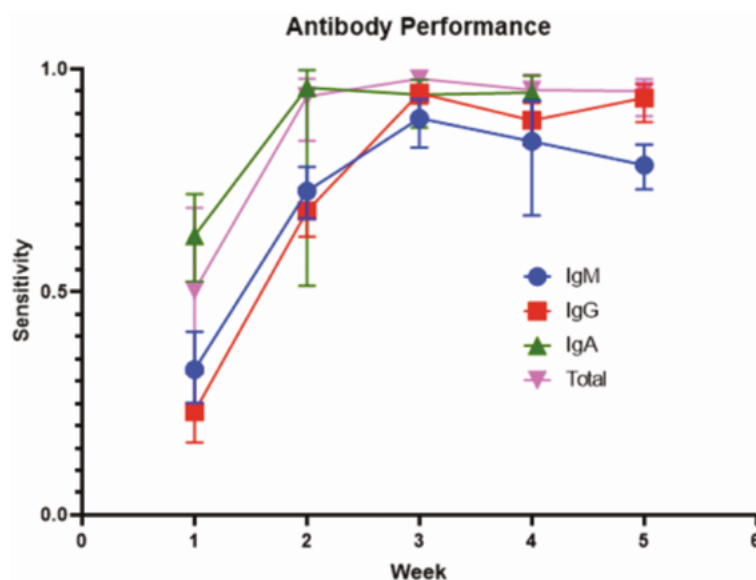


Figura 7: Sensibilidad combinada, con los intervalos de confianza del 95%, de las diferentes clases de anticuerpos por semana desde inicio de los síntomas (31) (Hanson et al).

La S clínica de las pruebas serológicas aumenta en pacientes con enfermedad grave. Wakita et al evaluaron la S de 4 dispositivos de IEFL que detectan IgG e IgM dirigida frente al RBD de la proteína S o RBD+N en 26 pacientes de COVID-19 con sintomatología leve o moderada y 8 con sintomatología grave: el rango de S que obtuvieron fue del 0-8% y 40-60% en la primera semana, del 25-75% y 63-88% en la segunda semana y del 50-89% y 100% después de la tercera semana desde el comienzo de los síntomas (31).

En términos generales, cuando las pruebas serológicas se empleen como un complemento a la detección del virus para el diagnóstico de infección pasada por SARS-CoV-2 la mayor S y especificidad se conseguirán a partir de la tercera semana (30), teniendo en cuenta que la OMS recomienda usar ensayos con una S mínima de 95% y una E del 98% (11).

Existe evidencia creciente de que a partir del tercer mes los niveles de IgG frente a SARS-CoV-2 empiezan a disminuir, sobre todo en pacientes asintomáticos o con sintomatología leve, pudiendo llegar a ser indetectables. También se ha descrito, que hay un pequeño porcentaje de pacientes que nunca llegan a desarrollar una respuesta humoral detectable (32,33). No hay datos de S de las pruebas serológicas en pacientes de edad avanzada o en personas inmuno-deprimidas (21).

La literatura disponible coincide en que la inmensa mayoría de test existentes en el mercado superan el 95% de E analítica, aunque es algo menor para la IgM en determinados grupos poblacionales como en pacientes gestantes, pacientes con enfermedades autoinmunes. También se ha descrito una ligera pérdida de E cuando se emplea sangre total en lugar de suero, como sucede en los test de autodiagnóstico (29).

En cualquier caso, tanto la S como la E de las diferentes pruebas deberían ser validadas para el entorno en que van a ser usadas.

3.4. INTERPRETACIÓN DE LAS PRUEBAS RÁPIDAS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A SARS-COV-2

Un resultado positivo en un individuo que no haya sido vacunado indicaría que este ha estado expuesto previamente al virus, con las siguientes salvedades:

La interpretación de los resultados de las pruebas de detección de anticuerpos frente a SARS-CoV-2 deben tener en cuenta su VPP y su VPN, que dependen no sólo de la S analítica, sino también de la prevalencia de infección. Cuanto menor sea la prevalencia menor será el VPP, de modo que, como indica la Figura 8, para una prevalencia de infección del 1% incluso una prueba con una especificidad del 99% nos dará un 50% de falsos positivos.

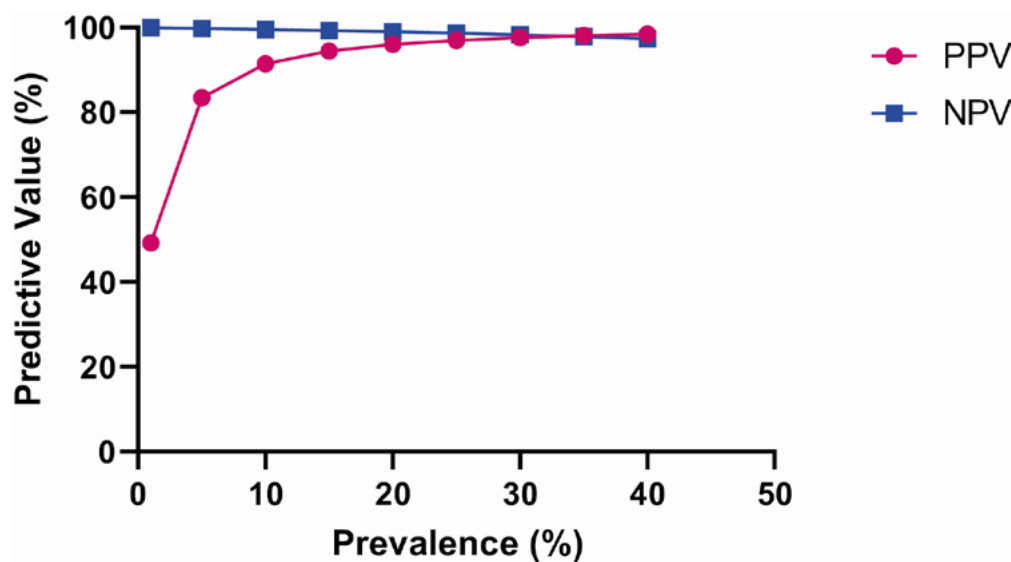


Figura 8: Impacto de la prevalencia en los valores predictivos de una prueba diagnóstica con un 96% de sensibilidad y un 99% de especificidad (31).

Un resultado positivo en un paciente con clínica respiratoria no es sinónimo de infección por SARS-CoV-2 activa o reciente, dada la persistencia en el tiempo de las IgG e incluso IgM, aunque esta sería más probable si se pudiese demostrar seroconversión o presencia de IgM.

Un resultado positivo no podría excluir la capacidad de contagio, ya que la seroconversión no se acompaña de una caída simultánea en la carga viral.

Un resultado negativo, dada la limitada S de las pruebas serológicas (particularmente algunos ensayos de IEFL) al principio de la infección y pasados más de 3 meses, sobre todo en pacientes con clínica leve, no excluye un contacto previo con el virus.

Aunque las técnicas serológicas no se recomiendan para el diagnóstico de la infección aguda, podrían ayudar en el caso de clínica y pruebas de imagen muy sugestivas de infección y pruebas antigénicas o moleculares negativas, y su utilidad se reduce en la práctica a estudios de seroprevalencia (3,11,21,22).

Por lo que se refiere al papel de las pruebas de autodiagnóstico para detección de anticuerpos frente a SARS-CoV-2, debe tenerse claro que estas pruebas no detectan la presencia del virus, sino la respuesta inmunológica del individuo y por tanto no tienen utilidad para disminuir la transmisión de la COVID-19 ni mejorar el manejo de los pacientes.

En el caso de personas vacunadas, estas podrían presentar anticuerpos dirigidos frente a los antígenos S y RBD, pero no frente a N, por lo que la presencia de estos últimos anticuerpos indicaría una infección previa (3,22).

En resumen, por un lado, las pruebas serológicas son de limitada utilidad para el manejo de pacientes con sospecha de infección por SARS-CoV-2 y para el control de la epidemia y, por otro lado, la interpretación de sus resultados ha de hacerse con cautela requiriendo tomar en consideración muchas variables (momento en que se realiza la prueba, tipo de prueba, tipo de paciente, estado de vacunación, etc).

3.5. PRUEBAS REALIZADAS EN LABORATORIO CLÍNICO. DIFERENCIAS CON LOS TEST DE AUTODIAGNÓSTICO

En los Laboratorios Clínicos especializados la detección de anticuerpos frente a SARS-CoV-2 se basa en la realización de inmunoensayos, técnicas que presentan alta S y E (a partir de la tercera semana). Los inmunoensayos actualmente comercializados son capaces de detectar aisladamente las inmunoglobulinas de las clases IgA, IgM e IgG o bien los niveles de todas ellas en combinación (detección de anticuerpos totales). Actualmente hay varios centenares de pruebas disponibles en el mercado (34-36), pero, para la gran mayoría se dispone de datos limitados de validación clínica. Remarcar que tan sólo deben utilizarse pruebas con una S y E superiores al 95% y 98% respectivamente (37).

Existen diferentes plataformas para la realización de estas pruebas serológicas. Las más comúnmente utilizadas y recomendadas actualmente (20-22) son las plataformas automatizadas de gran capacidad y alto rendimiento basadas en ELISA o CLIA (38-40). Adicionalmente, algunos laboratorios clínicos de referencia pueden utilizar técnicas con cultivos celulares para la detección de anticuerpos neutralizantes.

Inmunoensayo (ELISA o CLIA)

Estas técnicas serológicas se realizan en muestras de suero o plasma. Los anticuerpos neutralizantes dirigidos contra los antígenos S y N son la diana de las actuales pruebas serológicas de detección de la infección por SARS-CoV-2 (41,42). La mayoría de estas pruebas proporcionan resultados cualitativos o semicuantitativos, sin que exista una indicación clara del valor clínico de la cuantificación, con excepción de la evaluación de la seroconversión.

En el contexto de condiciones especiales como el embarazo o enfermedades autoinmunes, es importante tener en cuenta que puede aumentar la frecuencia de resultados inespecíficos (falsos positivos) (3). Por otra parte, dado que la mayoría de la población ha estado expuesta a coronavirus humanos estacionales (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 o HCoV-HKU1) que presentan similitudes en su estructura antigénica con el SARS-CoV-2 (la proteína N está relativamente bien conservada en los coronavirus) (43), es importante asegurar que las técnicas serológicas no presentan reacciones cruzadas entre los diferentes coronavirus (44). Las pruebas serológicas actualmente comercializadas han demostrado poseer una especificidad superior al 98% (45) y, por tanto, son más fiables que los autotest. Sin embargo, presentan desventajas como la falta de estandarización internacional, la existencia de límites de detección variables, el uso de diferentes dianas antigénicas y la amplia variabilidad de S y E entre ensayos e incluso dentro de un mismo ensayo validado por diferentes usuarios (46), factores todos ellos que dificultan la comparación de resultados.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) (47) ha desarrollado un estándar internacional (NIBSC code:20/136) para armonizar y estandarizar los ensayos serológicos que detectan anticuerpos neutralizantes y que además puede utilizarse para comparar los que detectan anticuerpos específicos de unión a SARS-CoV-2. Cuando se utiliza para estandarizar ensayos de neutralización se le asignan unidades internacionales por mililitro (UI/mL), pero cuando se utiliza para ensayos serológicos que detectan anticuerpos específicos frente a SARS-CoV-2 se le asignan unidades de unión a anticuerpo por mililitro (BAU/mL, del inglés binding antibody units). En este último caso, la comparación de ensayos serológicos sólo será posible si determinan el mismo isotipo de anticuerpo (IgG, IgM, anticuerpos totales, etc) y tienen la misma especificidad antigénica (anti-N, anti-RBD, anti-S1, etc). Por ello, es importante reflejar en el informe clínico, para facilitar la interpretación de los resultados, frente a qué subunidad antigénica se unen los anticuerpos y que isotipo estamos detectando (IgG anti-S, anticuerpos totales anti-N, IgG anti-S1/S2, etc).

A pesar de los esfuerzos de estandarización, a día de hoy, con la variedad de ensayos serológicos utilizados, sin un punto de corte de inmunización ni unas UI/mL establecidas post-vacunales, no se aconseja informar del valor cuantitativo sino sólo del cualitativo. Incluso si existiera algún grado de correlación entre los títulos de anticuerpos y el nivel de neutralización vírica, se desconoce el título y la duración del nivel de protección y su validez frente a las futuras variantes víricas. Además, como en otras muchas enfermedades infecciosas, la confirmación serológica de una infección reciente es la demostración de una seroconversión de IgG entre dos muestras de suero, en fase aguda y convaleciente, analizadas mediante un ensayo cuantitativo o semicuantitativo y demostrando un incremento de cuatro veces del título de anticuerpos. Sin embargo, esta aproximación es tardía y exige la recogida de los sueros en fase aguda y convaleciente (3), no siendo siempre factible.

Pruebas de detección de anticuerpos neutralizantes en cultivo celular

Estas pruebas determinan la capacidad funcional de los anticuerpos para prevenir la infección por virus *in vitro*; analizan la inhibición del crecimiento viral en cultivos celulares cuando se incuban con suero o plasma del paciente. Las más utilizadas son la neutralización por reducción de placa y la microneutralización, mediante la utilización de un aislado clínico de SARS-CoV-2 o bien de pseudovirus recombinantes (como el virus de la estomatitis vesicular) que incorporan la proteína S del SARS-CoV-2. Estas técnicas, consideradas de referencia en muchas enfermedades infecciosas, requieren conocimientos altamente especializados e instalaciones de cultivo con nivel de bioseguridad 3, por lo que se realizan en un número limitado de laboratorios. Sin embargo, incluso una prueba de anticuerpos neutralizantes positiva, con los datos actuales, no garantiza la protección contra la reinfección o la durabilidad de los niveles de anticuerpos neutralizantes, especialmente en un escenario de gran dinamismo en la selección de nuevas variantes de SARS-CoV-2 en circulación (3).

En resumen, resaltar que a pesar de que las técnicas serológicas disponibles en los Laboratorios Clínicos especializados tienen mayor S y E que las utilizadas en las pruebas de autodiagnóstico, no se recomiendan en el diagnóstico de la infección aguda y su uso se halla prácticamente restringido a los estudios de seroprevalencia (20-22). Como excepción, se recomienda la serología como prueba de primera línea en el caso del síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico, trastorno que se ha relacionado con la infección por SARS-CoV-2 y que puede ocurrir semanas después de la infección aguda (48).

3.6. USO PREVISTO

Pruebas de anticuerpos dirigidos contra la proteína N

Los anticuerpos dirigidos contra la proteína N, a diferencia de lo que sucede con los dirigidos frente a la proteína S, únicamente se producen en respuesta a una infección natural, por lo que su principal indicación sería la de confirmar o descartar presuntivamente una infección previa por SARS-CoV-2. Los inmunoensayos son capaces de detectar las inmunoglobulinas de las clases IgA, IgM e IgG (3). Los ensayos de detección de anticuerpos totales están diseñados para detectar todas ellas en combinación.

Son técnicas fáciles de realizar y no requieren instrumental adicional, por lo que son adecuadas para su uso como pruebas de autodiagnóstico. En cualquier caso, siempre que sea posible, se prefiere realizar serología por ELISA o CLIA en laboratorios especializados.

Aunque las pruebas serológicas tienen una utilidad muy limitada en el diagnóstico de la infección aguda, en aquellos casos con clínica e imagen compatibles con infección COVID-19 y PCR negativa, la constatación de seroconversión podría ayudar a confirmar el diagnóstico.

A pesar de que los ensayos que detectan anticuerpos anti-N presentan una alta especificidad, hay que señalar que en casos con baja probabilidad pretest, la proporción de falsos positivos es elevada, principalmente en grupos de gestantes y enfermedades autoinmunes.

Su aplicación se restringe a:

- Estudios de seroprevalencia
- Síndrome inflamatorio multisistémico pediátrico.
- Apoyo al diagnóstico en casos de PCR negativa persistente.

Pruebas de anticuerpos dirigidos contra la proteína S

Los anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2, que inhiben la replicación viral *in vitro*, se dirigen principalmente a la región RBD de la subunidad S1, principal diana de los anticuerpos inducidos por las actuales vacunas (3).

Si el objetivo es estudiar los anticuerpos producidos tras la vacunación, únicamente interesa estudiar la IgG anti-S. Sin embargo, hay que señalar que si bien es cierto que los niveles de IgG anti-RBD se correlacionan bien con los niveles de anticuerpos neutralizantes, a fecha de hoy, no se dispone de ensayos estandarizados y se desconoce el título y la duración del nivel de protección y su validez frente a futuras variantes víricas. Por dicha razón, no se pueden utilizar para predecir el nivel de protección a la infección o para evaluar la necesidad de vacunación en una persona no vacunada.

En individuos no vacunados la detección de anticuerpos contra la proteína S sería indicativa de infección previa, mientras que en no vacunados una infección previa sólo podría confirmarse por la presencia de anticuerpos dirigidos contra la proteína N.

3.7. RECOMENDACIONES GENERALES PARA SU DISPENSACIÓN (VER EL ALGORITMO DEL ANEXO 2)

Antes de la realización de la prueba

Considerar los antecedentes de vacunación y/o infección previa

La posibilidad de poder diferenciar entre infección natural y vacunación podría ser una herramienta de salud pública útil a medida que se implementan los programas de vacunación, siempre y cuando las pruebas serológicas estén adecuadamente validadas para detectar con gran E anticuerpos frente a antígenos únicos.

Las personas vacunadas únicamente pueden ser positivas en las pruebas serológicas para la diana antigénica S (dominio de unión anti-receptor RBD), pero no para la proteína N, a excepción de las vacunas de virus atenuado. Por tanto, generalmente, la presencia de anticuerpos anti-N indica una infección previa.

PREGUNTA:

¿Está vacunado con pauta de vacunación completa? ¿Qué vacuna le han administrado?
¿Cuánto tiempo hace desde la segunda dosis?

Detectar infección previa

En pacientes vacunados sólo será posible confirmar una infección previa si se detectan anticuerpos frente a la proteína N. En pacientes no vacunados tanto la presencia de anticuerpos anti N como anti S serían indicativos de infección natural previa. En ambos casos un resultado negativo no descarta la infección previa.

Detectar anticuerpos post-vacunación

Si está vacunado con pauta completa y hace 15 días o más desde la segunda dosis, es posible utilizar un autotest que detecta anti-RBD, pero siempre hay que confirmar el resultado mediante ELISA en laboratorios especializados.

No se pueden utilizar, actualmente, para evaluar el nivel de protección después de la vacunación o para evaluar la necesidad de vacunación en una persona no vacunada.

A continuación, se dispensa la prueba

SI TRAS LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA EL RESULTADO ES NEGATIVO

Anti-N negativo:

- No infección natural
- Infección muy reciente. Aún no ha desarrollado anticuerpos, repetir pasados 15 días.
- Ha pasado algún tiempo y los anticuerpos se han negativizado.
- No todas las personas desarrollan anticuerpos

Anti-S negativo:

Vacunados

- No ha transcurrido tiempo suficiente desde la segunda dosis.
- Si el paciente tiene la pauta completa de vacunación y han transcurrido más de 15 días desde la segunda dosis, es probable que el reactivo utilizado sea en base a la proteína N.

No vacunados

- No infección natural
- Infección muy reciente. Aún no ha desarrollado anticuerpos, repetir pasados 15 días.
- No todas las personas desarrollan anticuerpos.

SI TRAS LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA EL RESULTADO ES POSITIVO

Anti-N positivo:

Infección natural

- IgM positivo, IgG negativo:
 - Infección reciente.
 - Falso Positivo de IgM

Ponerse en contacto con el sistema sanitario a través de su centro de salud o acudir a un laboratorio de diagnóstico clínico.

➤ IgM Positivo, IgG Positivo:

- Infección en fase de remisión.
- Se considera poco contagioso
- En algunos pacientes la persistencia de IgM puede ser prolongada.

➤ IgM Negativo, IgG Positivo:

- Infección pasada.

Anti-S positivo:

➤ Infección natural o post-vacunación.

Vacunados

Si sospecha de infección natural, realizar serología basada en proteína N

Confirmación post-vacunación. Insistir en que los resultados serológicos no se pueden utilizar, actualmente, para establecer el nivel de protección a la infección o enfermedad.

No vacunados

➤ IgM positivo, IgG negativo:

- Infección reciente.
- Falso Positivo de IgM

Ponerse en contacto con el sistema sanitario a través de su centro de salud o acudir a un laboratorio de diagnóstico clínico.

➤ IgM Positivo, IgG Positivo:

- Infección en fase de remisión.
- Se considera poco contagioso
- En algunos pacientes la persistencia de IgM puede ser prolongada.

➤ IgM Negativo, IgG Positivo:

- Infección pasada.

4. Bibliografía

- 1. Actualización del diagnóstico por el laboratorio del virus SARS-COV-2, agente de la infección COVID-19. Vocalía Nacional de Análisis Clínicos CGCOF. Enero 2021.
- 2. Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19 Ministerio de Sanidad. (Actualizado a 12 de agosto de 2021). Disponible en https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublic/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf
- 3. Cilla Eguiluz G, Navarro Mari JM, Galán Montemayor JC, Folgueira López MD, Pumarola Suñé T. Diagnóstico microbiológico de la infección por SARS-CoV-2. 2021. 73. Tomás Pumarola (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). SEIMC. 2021.
- 4. Nov 26;dx-2020-0131. doi: 10.1515/dx-2020-0131. Epub ahead of print. PMID: 33554523
- 5. Ravi N, Cortade DL, Ng E, Wang SX. Diagnostics for SARS-CoV-2 detection: A comprehensive review of the FDA-EUA COVID-19 testing landscape Biosensors and Bioelectronics. 165 (2020) 112454.
- 6. Mina MJ, Parker R, Larremore DB. Rethinking Covid-19 Test Sensitivity - A Strategy for Containment. N Engl J Med. 2020 Nov 26;383(22):e120.
- 7. Mattiuzzi C, Henry BM, Lippi G. Making sense of rapid antigen testing in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) diagnostics. Diagnosis (Berl). 2020
- 8. Peto T; UK COVID-19 Lateral Flow Oversight Team. COVID-19: Rapid antigen detection for SARS-CoV-2 by lateral flow assay: A national systematic evaluation of sensitivity and specificity for mass-testing. E Clinical Medicine. 2021 Jun;36:100924.
- 9. Corman VM, Haage VC, Bleicker T, Schmidt ML, Mühlemann B, Zuchowski M, Jo WK, Tscheak P, Möncke-Buchner E, Müller MA, Krumbholz A, Drexler JF, Drosten C. Comparison of seven commercial SARS-CoV-2 rapid point-of-care antigen tests: a single-centre laboratory evaluation study. Lancet Microbe. 2021 Jul;2(7):e311-e319.
- 10. European Centre for Disease Prevention and Control. Considerations on the use of self-tests for COVID-19 in the EU/EEA - 17 March 2021. ECDC: Stockholm; 2021.
- 11. WHO. Recomendations for National SARS-CoV-2 testing strategies and diagnostic capacities. Interim guidance 25 juny 2021. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/342002>
- 12. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane Database Syst Rev2020;8:CD013705.

- 13. Peña M, Ampuero M, Garcés C, Gaggero A, García P, Velasquez MS, Luza R, Alvarez P, Paredes F, Acevedo J, Farfán MJ, Solari S, Soto-Rifo R, Valiente-Echeverría F. Performance of SARS-CoV-2 rapid antigen test compared with real-time RT-PCR in asymptomatic individuals. *Int J Infect Dis.* 2021 Jun;107:201-204.
- 14. Alemany A, Baró B, Ouchi D, Rodó P, Ubals M, Corbacho-Monné M, Vergara-Alert J, Rodon J, Segalés J, Esteban C, Fernández G, Ruiz L, Bassat Q, Clotet B, Ara J, Vall-Mayans M, G-Beiras C, Blanco I, Mitjà O. Analytical and clinical performance of the Panbio COVID-19 antigen-detecting rapid diagnostic test. *J Infect.* 2021 May;82(5):186-230.
- 15. Torres I, Poujois S, Albert E, Colomina J, Navarro D. Evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag rapid test device) for SARS-CoV-2 detection in asymptomatic close contacts of COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Apr;27(4):636.e1-636.e4.
- 16. Baro B, Rodo P, Ouchi D, Bordoy AE, Saya Amaro EN, Salsench SV, Molinos S, Alemany A, Ubals M, Corbacho-Monné M, Millat-Martinez P, Marks M, Clotet B, Prat N, Estrada O, Vilar M, Ara J, Vall-Mayans M, G-Beiras C, Bassat Q, Blanco I, Mitjà O. Performance characteristics of five antigen-detecting rapid diagnostic test (Ag-RDT) for SARS-CoV-2 asymptomatic infection: a head-to-head benchmark comparison. *J Infect.* 2021 Jun;82(6):269-275.
- 17. Coste AT, Egli A, Greub G. Self-testing for SARS-CoV-2: importance of lay communication. *Swiss Med Wkly.* 2021 Jun 5;151:w20526
- 18. McCulloch DJ, Kim AE, Wilcox NC, Logue JK, Greninger AL, Englund JA, Chu HY. Comparison of Unsupervised Home Self-collected Midnasal Swabs With Clinician-Collected Nasopharyngeal Swabs for Detection of SARS-CoV-2 Infection. *JAMA Netw Open.* 2020 Jul 1;3(7):e2016382
- 19. Lindner AK, Nikolai O, Kausch F, et al. Head-to-head comparison of SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid test with self-collected nasal swab versus professional-collected nasopharyngeal swab. *Eur Respir J* 2021; 57: 2003961
- 20. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. Interim Guidance 11 September 2020. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>
- 21. European Centre for Disease Prevention and Control. The use of antibody tests for SARS-COV-2 in the context of Digital Green Certificates. 20 May 2021. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/use-antibody-tests-sars-cov-2-context-digital-green-certificates>
- 22. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for COVID-19 antibody testing. Updated 21 sep 2021. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines>
- 23. Haage V, Ferreira de Oliveira-Filho E, Moreira-Soto A, Kühne A, Fischer C, Sacks JA, et al. Impaired performance of SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid diagnostic tests at elevated and low temperatures. *J Clin Virol.* 2021; 138:104796. doi: 10.1016/j.jcv.2021.104796.

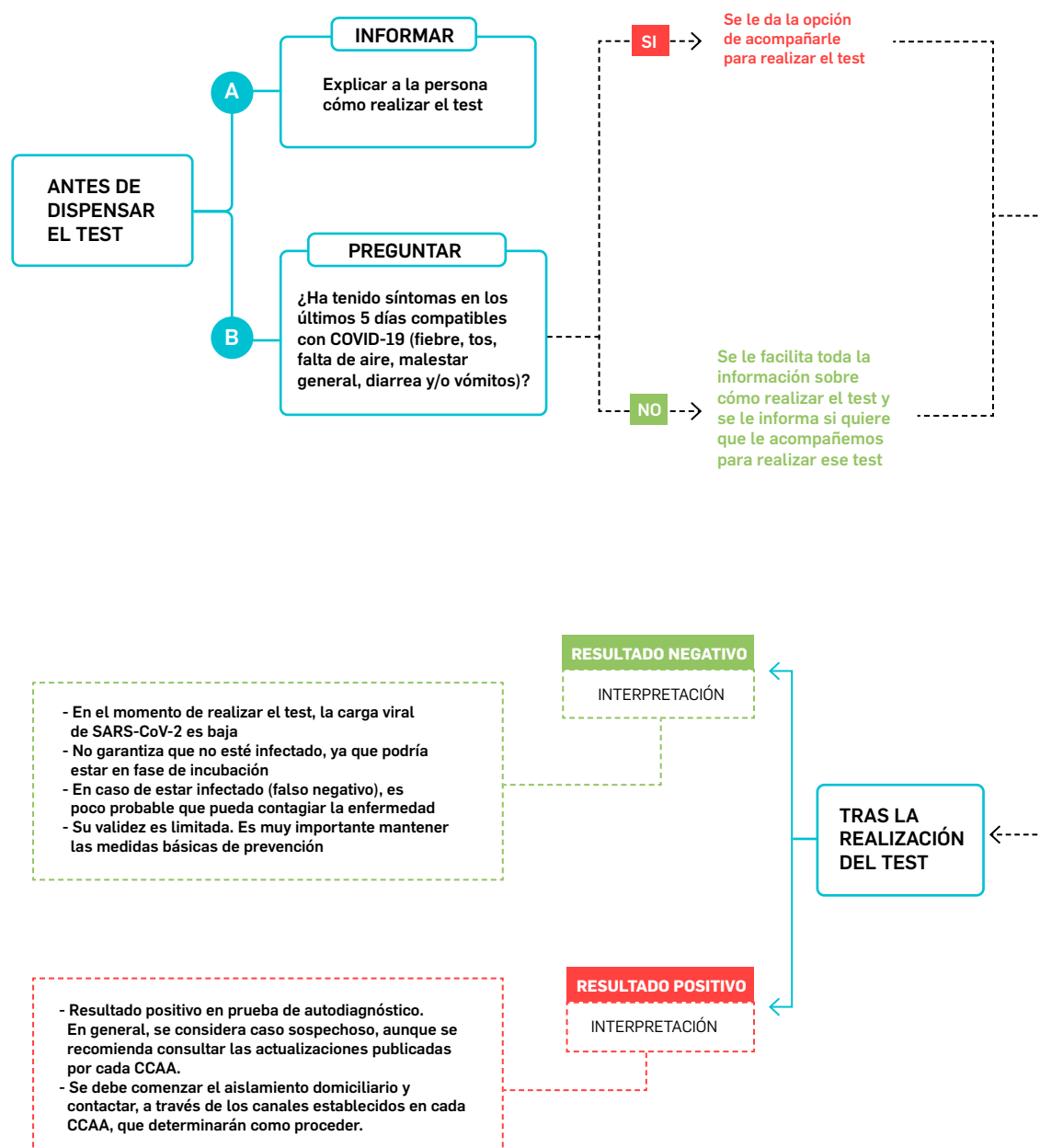
- 24. Kamps BS, Hoffmann C. Covid Reference. Es Steinhauser Verlag. 7 abr 2020
- 25. Ficha técnica de Primacovid®
- 26. Sociedad Española de Inmunología Test rápidos para la detección de SARS-CoV-2 (Inmunocromatografía).
- 27. Gong F, Wei H, Li Q, Liu L and Li B (2021) Evaluation and Comparison of Serological Methods for COVID19 Diagnosis. Front. Mol. Biosci. 8:682405.
- 28. Péré H, Mboumba Bouassa RS, Tonen-Wolyec S, Podglajen I, Veyer D, Bélec L. Analytical performances of five SARS-CoV-2 whole-blood finger-stick IgG-IgM combined antibody rapid tests. J Virol Methods. 2021 Apr;290:114067. doi: 10.1016.
- 29. Serre-Miranda C, Nobrega C, Roque S, Canto-Gomes J, Silva CS, Vieira N, Barreira-Silva P, Alves-Peixoto P, Cotter J, Reis A, Formigo M, Sarmento H, Pires O, Carvalho A, Petrovykh DY, Diéguez L, Sousa JC, Sousa N, Capela C, Palha JA, Cunha PG, Correia-Neves M. Performance assessment of 11 commercial serological tests for SARS-CoV-2 on hospitalised COVID-19 patients. Int J Infect Dis. 2021 Mar;104:661-669. doi: 10.1016/j.ijid.2021.01.038.
- 30. Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, Englund JA, Hayden MK, Lee MJ, Loeb M, Patel R, Altayar O, El Alayli A, Sultan S, Falck-Ytter Y, Lavergne V, Morgan RL, Murad MH, Bhimraj A, Mustafa RA. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. Clin Infect Dis. 2020 Sep 12;ciaa1343. doi: 10.1093/cid/ciaa1343. Epub ahead of print. PMID: 32918466; PMCID: PMC7543294.
- 31. Wakita M, Idei M, Saito K, Horiuchi Y, Yamatani K, Ishikawa S, et al. (2021) Comparison of the clinical performance and usefulness of five SARS-CoV-2 antibody tests. PLoS ONE 16(2): e0246536.
- 32. Long QX, Tang XJ, Shi QL, Li Q, Deng HJ, Yuan J, Hu JL, Xu W, Zhang Y, Lv FJ, Su K, Zhang F, Gong J, Wu B, Liu XM, Li JJ, Qiu JF, Chen J, Huang AL. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Nat Med. 2020 Aug;26(8):1200-1204.
- 33. Petersen LR, Sami S, Vuong N, Pathela P, Weiss D, Morgenthau BM, Henseler RA, Daskalakis DC, Atas J, Patel A, Lukacs S, Mackey L, Grohskopf LA, Thornburg N, Akinbami LJ. Lack of antibodies to SARS-CoV-2 in a large cohort of previously infected persons. Clin Infect Dis. 2020 Nov 4;ciaa1685. doi: 10.1093/cid/ciaa1685. Epub ahead of print. PMID: 33147319; PMCID: PMC7665429
- 34. Find. SARS-COV-2 diagnostic pipeline. 2020. Disponible en: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline>
- 35. EC. European Comission. COVID-19 In Vitro Diagnostic Devices and Test Methods Database. Disponible en: <https://covid-19-diagnostics.jrc.ec.europa.eu/>
- 36. Food and Drug Administration. Independent evaluations of COVID-19 serological tests. Disponible en: <https://open.fda.gov/apis/device/covid19serology/>
- 37. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance 19 March 2020. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331501>

- 38. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020; 6(6):CD013652. doi: 10.1002/14651858. CD013652.
- 39. Estrela P, Koczula KM, Gallotta A. Lateral flow assays. *Essays Biochem*. 2016; 60:111-120. doi: 10.1042/EBC20150012.
- 40. Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK, Campbell JR, Haraoui LP, Johnston JC, et al. Diagnostic accuracy of serological tests for COVID-19: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020; 370:m2516. doi: 10.1136/bmj.m2516.
- 41. Robbiani DF, Gaebler C, Muecksch F, Lorenzi JCC, Wang Z, Cho A, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature*. 2020; 584:437-442. doi: 10.1038/s41586-020-2456-9.
- 42. Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, Martinez DR, Raut R, Markmann A, et al. The receptor-binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Sci Immunol*. 2020; 5(48):eabc8413. doi: 10.1126/sciimmunol.abc8413.
- 43. Bradburne AF. Antigenic relationships amongst coronaviruses. *Arch Gesamte Virusforsch*. 1970; 31:352-364. doi: 10.1007/BF01253769.
- 44. Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. *Virus Res*. 2014; 194:175-183. doi: 10.1016/j.virusres.2014.03.018.
- 45. Zheng M, Song L. Novel antibody epitopes dominate the antigenicity of spike glycoprotein in SARS-CoV-2 compared to SARS-CoV. *Cell Mol Immunol*. 2020; 17:536-538. doi: 10.1038/s41423-020-0385-z.
- 46. Espejo AP, Akgun Y, Al Mana AF, Tjendra Y, Millan NC, Gomez-Fernandez C, Cray C. Review of current advances in serologic testing for COVID-19. *Am J Clin Pathol*. 2020; 154:293-304. doi: 10.1093/ajcp/aqaa112.
- 47. World Health Organization. WHO/BS.2020.2403 Establishment of the WHO international standard and reference panel for anti-SARS-CoV-2 antibody. November 2020. March 2021. Disponible en: <https://www.who.int/publications/m/item/WHO-BS-2020.2403>.
- 48. Centers for Disease Control and Prevention. Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) associated with coronavirus disease 2019 (COVID-19) 2020. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/69/wr/mm6932e2.htm>
- 49. Savelle ES, Winnett A, Romano AE, Porter MK, Shelby N, Akana R, Ji J, Cooper MM, Schlenker NW, Reyes JA, Carter AM, Barlow JT, Tognazzini C, Feaster M, Goh Y, Ismagilov RF. Quantitative SARS-CoV-2 viral-load curves in paired saliva and nasal swabs inform appropriate respiratory sampling site and analytical test sensitivity required for earliest viral detection. *J Clin Microbiol* doi:10.1128/JCM.01785-21 (pendiente de publicación).
- 50. Marais G, Hsiao N, Iranzadeh A, Doolabh D, Enoch A, Chu C, Williamson C, Brink A, Hardie D. Saliva swabs are the preferred sample for Omicron detection. *MedRxiv preprint* doi: <https://doi.org/10.1101/2021.12.22.21268246>.

5. Anexos. Algoritmos

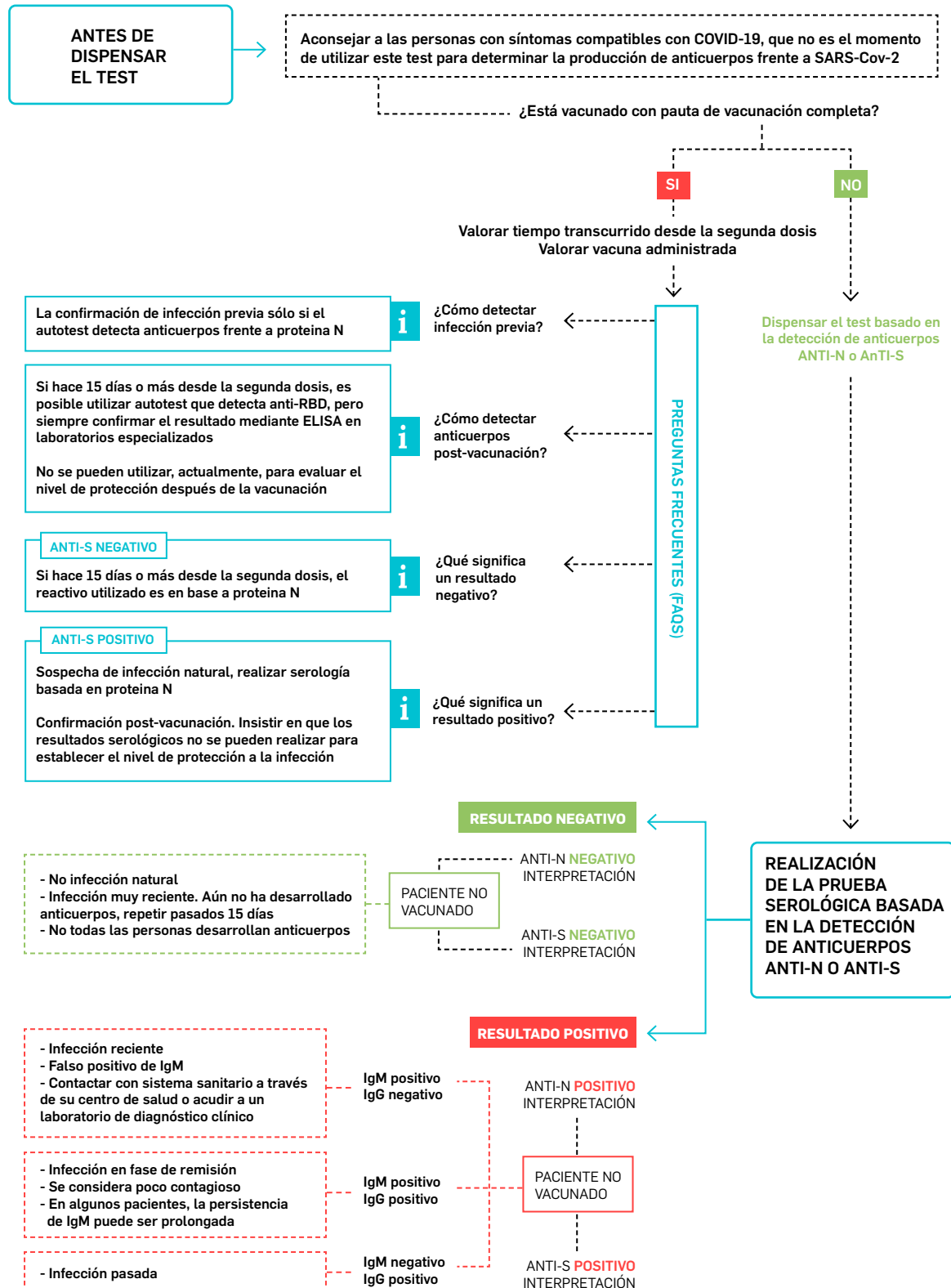
ANEXO 1

Algoritmo guía en la dispensación de los test antigénicos de autodiagnóstico



ANEXO 2

Algoritmo guía en la dispensación de los test de autodiagnóstico de anticuerpos





DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE SARS-COV-2: PRUEBAS DE AUTODIAGNÓSTICO

Uso previsto y recomendaciones
para su dispensación



Farmacéuticos

Consejo General de Colegios Farmacéuticos

Vocalía Nacional de
Analistas Clínicos