

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Evaluación del desempeño diagnóstico de tres ensayos serológicos para la detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2

*Evaluation of the diagnostic performance of three serological assays for the detection of IgG assays against SARS-CoV-2*

Alcalde, María Belén<sup>1\*</sup>; Chiodini, Julieta<sup>1</sup>; Shepherd Safar, Melanie<sup>1</sup>; Accorinti, Ailin<sup>1</sup>; Alegre, María<sup>1</sup>; González, María Sandra<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio Central, Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica". La Plata, Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Alcalde, María Belén. Laboratorio Central, Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica", Calle 14 n°1651, La Plata (1900), Buenos Aires, Argentina; [alcaldemariabelen@gmail.com](mailto:alcaldemariabelen@gmail.com).

## Resumen

**Introducción:** En respuesta a la pandemia de COVID-19 se han desarrollado y aprobado con celeridad un gran número de pruebas serológicas, en diferentes formatos, para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2. Dada la gran oferta y variabilidad entre ensayos, la evaluación independiente de su rendimiento resulta fundamental. **Objetivos:** El objetivo de este trabajo fue analizar y comparar el desempeño diagnóstico de tres métodos de detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 disponibles en nuestro medio. **Materiales y métodos:** Se evaluaron tres tipos de ensayos serológicos, un inmunoensayo quimioluminiscente (Access® SARS-CoV-2 IgG), un enzimoimmunoensayo (COVIDAR IgG) y un inmunoensayo de flujo lateral (SARS-CoV-2 Antibody Test), utilizando muestras de suero de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada, y sueros recolectados antes del inicio de la pandemia. **Resultados:** Se procesaron un total de 168 muestras, 94 sueros de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada y 74 sueros prepandemia. Las sensibilidades de los métodos evaluados variaron entre 71,3 % y 89,4 %. La sensibilidad del ensayo COVIDAR IgG resultó ser significativamente mayor que la de los otros dos métodos ( $p < 0,05$ ). Las especificidades variaron entre 95,9 % y 100 %, sin diferencias significativas entre los tres métodos. Se encontró una concordancia sustancial entre el ensayo COVIDAR IgG y el Access® SARS-CoV-2 IgG (índice kappa: 0,74), y casi perfecta entre el SARS-CoV-2 Antibody Test y los otros dos ensayos (índices kappa: 0,80 y 0,89). **Conclusiones:** Este estudio demuestra un adecuado desempeño de los tres ensayos en nuestra población y la existencia de concordancia entre los mismos.

**Palabras claves:** COVID-19, SARS-CoV-2, serología, evaluación, diagnóstico, sensibilidad, especificidad.

## Abstract

**Introduction:** In response to the COVID-19 pandemic, a large number of serological tests for the detection of antibodies against SARS-CoV-2, in different formats, have been rapidly developed and approved. Given the large offer and variability between assays, independent evaluation of their performance is essential. **Objectives:** The objective of this work was to analyze and compare the diagnostic performance of three anti-SARS-CoV-2 IgG antibody detection methods available in our environment. **Materials and methods:** Three types of serological assays were evaluated, a chemiluminescent immunoassay (Access® SARS-CoV-2 IgG), an enzyme immunoassay (COVIDAR IgG) and a lateral flow immunoassay (SARS-CoV-2 Antibody Test), using serum samples from individuals with overcome SARS-CoV-2 infection, and sera collected before the start of the pandemic. **Results:** A total of 168 samples were processed, 94 sera from individuals with overcome SARS-CoV-2 infection and 74 pre-pandemic sera. The sensitivities of the methods tested varied between 71.3% and 89.4%. The sensitivity of the COVIDAR IgG assay was found to be significantly higher than that of the other two methods ( $p < 0.05$ ). The specificities varied between 95.9% and 100%, with no significant differences between the three methods. Substantial agreement was found between the COVIDAR IgG assay and the Access® SARS-CoV-2 IgG assay (kappa coefficient: 0.74) and almost perfect agreement between the SARS-CoV-2 Antibody Test and the other two assays (kappa coefficients: 0.80 and 0.89). **Conclusions:** This study demonstrates adequate performance of the three assays in our population and the existence of concordance between them.

**Key words:** COVID-19, SARS-CoV-2, serology, evaluation, diagnosis, sensitivity, specificity.

## Introducción

El coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) fue identificado por primera vez en enero de 2020 como el agente causal de un brote de neumonía en el municipio de Wuhan, China<sup>1,2</sup>. Desde entonces, los casos de enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) causada por SARS-CoV-2 se han diseminado rápidamente a través de todo el mundo, lo que condujo a la OMS a declarar, el 11 de marzo de 2020, el estado de pandemia<sup>3</sup>.

En este contexto, cientos de pruebas diagnósticas para la detección de infección por SARS-CoV-2 comenzaron a desarrollarse<sup>4</sup>. Las pruebas de diagnóstico directas, basadas en la detección del genoma viral o de antígenos virales cumplen, en la actualidad, un rol clave en el manejo del paciente y la contención de la pandemia. Estas pruebas son utilizadas eficientemente para el diagnóstico de infección aguda por SARS-CoV-2, pero su desempeño clínico disminuye progresivamente durante el curso de la enfermedad, asociado al aclaramiento viral<sup>5</sup>. Los métodos de diagnóstico indirectos, basados en la detección de anticuerpos anti-SARS-CoV-2, por lo contrario, tienen una utilidad limitada en el diagnóstico de la etapa aguda de la enfermedad, cuando la respuesta de anticuerpos aún no se ha desarrollado, pero son fundamentales para la determinación de exposición previa al SARS-CoV-2, especialmente en pacientes con potencial síndrome posCOVID-19, en la realización de estudios de seroprevalencia y en la identificación de donantes de plasma de convaleciente. Además, adquieren importancia en el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2, en casos con resultados por técnicas moleculares no concluyentes y en la evaluación de la inmunidad humoral posvacunación<sup>6-8</sup>.

Las características de la respuesta de anticuerpos a la infección por SARS-CoV-2 varían significativamente entre individuos, especialmente en lo que respecta a la cinética, clases de inmunoglobulinas y especificidad antigénica<sup>6,9</sup>. En la mayoría de los

pacientes con COVID-19, los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 son detectables tres semanas después de la infección con una seroconversión simultánea o cercana de las inmunoglobulinas IgM e IgG<sup>6,10</sup>. Sin embargo, el conocimiento sobre su persistencia y la protección que confieren aún es escaso<sup>11,13</sup>. Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 se dirigen contra diferentes proteínas estructurales del virus, de las cuales los principales inmunógenos son las proteínas espiga (S) y nucleocápside (N). Los ensayos serológicos a menudo utilizan como antígenos recombinantes las proteínas N, S y el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S<sup>14</sup>. A su vez, estos métodos pueden detectar uno o más isotipos de inmunoglobulinas (IgA, IgM o IgG) generadas contra el SARS-CoV-2. El desempeño de estas pruebas depende en gran medida del subdominio de la proteína elegido; del plegamiento resultante y, para algunos antígenos, de la conservación de la glicosilación de la proteína, además de la metodología empleada; del isotipo de inmunoglobulina detectada; del tiempo transcurrido desde la infección y de la población en la que se evalúan<sup>11,15</sup>.

En respuesta a la urgencia, se han desarrollado y aprobado con celeridad un gran número de pruebas serológicas comerciales para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2, en distintos formatos, que abarcan desde inmunoensayos de flujo lateral (LFIA) hasta enzimoimmunoensayos de adsorción (ELISA) e inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA). Dada la gran oferta y variabilidad entre los distintos ensayos de detección de anticuerpos, la evaluación y verificación independientes de su rendimiento son fundamentales<sup>16,18</sup>. El objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar el desempeño diagnóstico de tres métodos de detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 disponibles en el Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica", utilizando muestras de suero positivas y negativas bien definidas.

La importancia del estudio radica en aportar evidencia sobre

**Tabla I.** Resultados de los tres métodos serológicos.

	Resultado ensayo	COVID-19 Positivo N	COVID-19 Negativo N
Access® SARS-CoV-2 IgG	Positivo	67	0
	Negativo	27	74
	Indeterminado	0	0
COVIDAR IgG	Positivo	84	3
	Negativo	7	70
	Indeterminado	3	1
SARS-CoV-2 Antibody Test	Positivo	74	2
	Negativo	12	70
	Indeterminado	8	2

la utilidad diagnóstica de estos ensayos aplicados en nuestra población y sobre la toma de decisiones con respecto a su uso.

## Materiales y métodos

### Población y muestras

Se realizó un estudio analítico, de corte transversal para la evaluación y comparación de tres métodos serológicos de detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2. Se utilizaron muestras de suero recolectadas por conveniencia, de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada, y sueros recogidos antes del comienzo de la circulación de SARS-CoV-2 en Argentina, por lo que se asumieron como negativos.

Las muestras de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada fueron obtenidas de sujetos que concurrieron al Instituto de Hemoterapia de la Provincia de Buenos Aires para la preselección de potenciales donantes de plasma de convaliente, durante el mes de junio de 2021. Entre los requisitos que debieron cumplir estos individuos se incluyeron: poseer un diagnóstico de COVID-19 confirmado por laboratorio (RT-PCR positiva o detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2), haber transcurrido 30 días desde la desaparición de los síntomas y tener entre 18 y 65 años. Estas muestras fueron consideradas COVID-19 positivas. En cambio, las muestras prepandemia correspondieron a sueros recolectados durante el año 2019 por el Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas del Hospital de Niños "Sor María Ludovica" de La Plata (IDIP), almacenados a -20°C. Las mismas pertenecían a mujeres con edades comprendidas entre 17 y 38 años (25/74) y niños de 3 meses a 1 año (46/74) que concurrieron al Observatorio de salud materno - infantil del IDIP. Estas muestras fueron consideradas COVID-19 negativas.

Las muestras positivas fueron procesadas el mismo día de su recolección por los tres métodos serológicos, en tanto que las negativas fueron descongeladas y analizadas en un único día.

### Ensayos serológicos

Se utilizaron y evaluaron los siguientes ensayos serológicos:

- COVIDAR IgG (Laboratorio Lemos® SRL, Argentina), un ELISA heterogéneo, no competitivo, para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el virus SARS-CoV-2, el cual utiliza antígenos obtenidos por técnica de ADN recombinante que representan la proteína Spike (S) y un dominio de esta misma proteína que contiene el sitio de unión a receptor (RDB). El ensayo se llevó a cabo de forma manual, siguiendo las especificaciones del fabricante, y el punto de corte para la interpretación de los resultados fue calculado según las mismas especificaciones.
- Access® SARS-CoV-2 IgG, un CLIA de partículas paramagnéticas recubiertas, con el dominio de unión a receptor (RDB) de la proteína S del SARS-CoV-2 como antígeno recombinante específico. El ensayo se llevó a cabo de forma automatizada en un equipo Access®2 Immunoassay System (Beckman Coulter® Inc., Estados Unidos), de acuerdo con las especificaciones del fabricante.
- SARS-CoV-2 *Antibody Test* (Lepu Medical® Technology, China), un LFIA que utiliza una proteína recombinante no especificada del SARS-CoV-2, marcada con oro coloidal, para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra el virus. El ensayo se realizó siguiendo las especificaciones del fabricante. Se efectuó únicamente la lectura correspondiente a los anticuerpos del isotipo IgG.

**Tabla II.** Desempeño diagnóstico de los tres ensayos serológicos.

	Access® SARS-CoV-2 IgG	COVIDAR IgG	SARS-CoV-2 <i>Antibody Test</i>
Sensibilidad	71,3 % (62,1 - 80,4)	89,4 % (83,1 - 95,6)	78,7 % (70,4 - 87,0)
Especificidad	100,0 % (95,1-100,0)	95,9 % (91,5 - 100,0)	97,3 % (93,6 - 100,0)
VPP P= 5 %	100 % (94,6-100,0)	53,4 % (34,0 - 100,0)	61,4 % (36,7 -100,0)
VPN P= 5 %	98,5 % (98,0 - 100,0)	99,4 % (99,0 - 99,8)	98,9 % (98,4 - 99,3)
VPP P= 50 %	100 % (94,6-100,0)	95,6 % (90,7 - 100,0)	96,7 % (91,7 - 100,0)
VPN P= 50 %	77,7 % (72,5 - 83,6)	90,0 % (84,4 - 95,8)	82,0 % (76,0 - 88,5)
VPP P= 95 %	100 % (99,2-100,0)	99,8 % (99,5 - 100,0)	99,8 % (99,5 - 100,0)
VPN P= 95 %	15,5 % (12,2 - 21,7)	32,3 % (22,2 - 54,5)	19,4 % (14,3 - 28,8)
Índice de Youden	0,71	0,85	0,76

► VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; P, prevalencia de COVID-19.

### Análisis de datos

Para cada ensayo serológico, se calculó: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) con sus respectivos intervalos de confianza (IC 95 %), según el método de Wilson, con base en la caracterización antes descrita de las muestras, es decir, COVID-19 positivas o negativas. Los resultados indeterminados por ELISA y CLIA [zona gris] fueron considerados negativos para el cálculo de los parámetros de desempeño diagnóstico. Por otro lado, la aparición de una banda muy tenue de interpretación ambigua en el LFIA se registró como resultado indeterminado y fue considerado negativo para la realización de los cálculos. Los resultados reactivos y no reactivos por ELISA y CLIA fueron expresados como positivos y negativos, respectivamente, con fines prácticos. Se evaluó la existencia de diferencias entre las sensibilidades y especificidades de los distintos métodos y se consideró estadísticamente significativo un p-valor < 0,05. El índice de Youden fue calculado para analizar el desempeño global de cada prueba en función de los resultados cualitativos obtenidos, mientras que las curvas de característica operativa del receptor (ROC) fueron generadas para evaluar a través del valor del área bajo la curva (AUC) el rendimiento diagnóstico de los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG, utilizando los resultados expresados como índice S/CO (S: señal de la muestra; CO: señal del límite de decisión) que estos arrojaran.

Se evaluó la concordancia entre los métodos estudiados a través del cálculo del índice kappa, precisando su IC 95 %, y se utilizó la valoración propuesta por Landis y Koch para interpretar los índices obtenidos [kappa: 0,0 – 0,20 = sin acuerdo; 0,21 – 0,39 = grado de acuerdo mínimo; 0,40 – 0,59 = acuerdo discreto; 0,60 – 0,79 = acuerdo moderado; 0,80 – 0,90 = acuerdo sustancial; > 0,90 = acuerdo casi perfecto]. Para evaluar la correlación entre los índices S/CO que arrojaron los inmunoensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG, se calculó el coeficiente de correlación de Spearman.

Los datos se recolectaron en planillas de Microsoft® Excel y para el análisis estadístico, se utilizó el programa IBM® SPSS Statistics.

### Consideraciones éticas

El trabajo fue aprobado por el Comité Institucional de Revisión de Protocolos de Investigación del Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas del Hospital de Niños “Sor María Lu-

dovica”, observando las normas declaradas en los siguientes documentos para la investigación en salud humana: *Declaración de Helsinki*, pautas CIOMS – OMS (Ginebra 2002), guías de buenas prácticas clínicas (GCP), Conferencia de Armonización, declaraciones y pactos a los que adhiere la República Argentina con jerarquía constitucional y las declaraciones universales e internacionales de la UNESCO aplicables a la investigación biomédica.

### Resultados

Se analizaron un total de 168 muestras, 94 sueros de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada y 74 sueros recolectados antes del inicio de la pandemia, por medio de los tres métodos serológicos para la detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla I.

La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN fueron estimados para cada test con sus respectivos IC 95 %, como se detalla en la tabla II. Los VPP y VPN fueron calculados asumiendo distintos escenarios de prevalencia de COVID-19.

Las sensibilidades de los métodos ensayados variaron entre 71,3 % [Access® SARS-CoV-2 IgG] y 89,4 % [COVIDAR IgG]. Mientras que la sensibilidad del ELISA [COVIDAR IgG] resultó ser significativamente mayor que la de los otros dos métodos (p < 0,05), no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las sensibilidades del CLIA [Access® SARS-CoV-2 IgG] y el LFIA [SARS-CoV-2 *Antibody Test*]. De las 94 muestras caracterizadas como COVID-19 positivas, 9 dieron resultados negativos o indeterminados por los tres métodos a la vez, otras 11 lo hicieron por dos de los métodos simultáneamente y 8 resultaron negativas o indeterminadas solo por uno de los ensayos a la vez.

En cuanto a las especificidades, variaron entre 95,9 % [COVIDAR IgG] y 100 % [Access® SARS-CoV-2 IgG], y no se encontraron diferencias significativas entre los tres métodos. El ensayo quimioluminiscente Access® SARS-CoV-2 IgG no arrojó ningún resultado falso positivo; por el ensayo de flujo lateral SARS-CoV-2 *Antibody Test* se obtuvieron dos resultados positivos y dos resultados indeterminados para muestras caracterizadas como COVID-19 negativas; en tanto que el enzimoensayo COVIDAR IgG arrojó un resultado indeterminado y tres resultados falsos positivos, dos de ellos presentaron un índice S/CO cercano al valor de corte, y el tercero, un índice S/CO ele-

**Tabla III.** Concordancia entre los tres ensayos serológicos analizados.

	Índice kappa (IC 95 %)	
	Access® SARS-CoV-2 IgG	COVIDAR IgG
SARS-CoV-2 <i>Antibody Test</i>	0,89 [0,74 - 1,00]	0,80 [0,65 - 0,95]
COVIDAR IgG	0,74 [0,60 - 0,89]	-

vado. Las cuatro muestras negativas que arrojaron resultados positivos o indeterminados por el ELISA (COVIDAR IgG) fueron negativas por los otros dos métodos, y lo mismo sucedió con las cuatro muestras negativas que dieron resultados positivos o indeterminados por el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*).

Como se muestra en la tabla I, el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) fue el ensayo que arrojó la mayor cantidad de resultados indeterminados, en tanto que por el CLIA (Access® SARS-CoV-2 IgG) no se obtuvo ningún resultado en zona gris.

Para evaluar el desempeño de los ensayos en escenarios de baja, media y alta prevalencia de infección por SARS-CoV-2, se calcularon los valores predictivos positivos y negativos para cada uno de los ensayos, asumiendo una prevalencia de COVID-19 del 5 %, 50 % y 95 % y utilizando los hallazgos de sensibilidad y especificidad del presente estudio. Los tres métodos mostraron un alto VPN en un escenario de baja prevalencia de la enfermedad, sin embargo, el ELISA (COVIDAR IgG) y el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) mostraron un bajo VPP en estas condiciones (53,4 % y 61,4 %, respectivamente). En escenarios de alta prevalencia, los VPP variaron entre 95,6 % y 100 %.

Por otro lado, al calcular el índice de Youden para evaluar el desempeño global de cada prueba, el ensayo COVIDAR IgG alcanzó el índice más alto (0,85) y, por lo tanto, el mejor desempeño (Tabla II). Además, para los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG fueron calculadas las curvas ROC, usando los valores de corte que especifica cada fabricante, y se obtuvieron valores de áreas bajo las curvas de 0,96 y 0,97 para el COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG, respectivamente, como se muestra en la figura 1, lo que indica un rendimiento diagnóstico muy bueno para ambos ensayos.

Se evaluó, también, la concordancia de los resultados cualitativos obtenidos por los tres métodos, con base en el cálculo del índice kappa, como se muestra en la tabla III. El grado de acuerdo entre el ensayo de flujo lateral SARS-CoV-2 *Antibody Test* y los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG fue casi perfecto. La mejor concordancia se obtuvo entre el ensayo de flujo lateral y el ensayo quimioluminiscente ( $\kappa = 0,89$ ). La concordancia entre el COVIDAR IgG y el Access® SARS-CoV-2 IgG fue sustancial, pues mostró el menor índice kappa de los calculados ( $\kappa = 0,74$ ).

Finalmente, los resultados de las muestras positivas arrojados por los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG, expresados como índices S/CO, fueron comparados de a pares (Figura 2). Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman y se obtuvo un valor de  $r = 0,911$ , que indicó la existencia de una asociación positiva entre ambos métodos con un nivel de significación del 0,01.

## Discusión

Dada la diversidad de métodos serológicos disponibles para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2, la evaluación exhaustiva de estos ensayos resulta necesaria para la toma de decisiones sobre su uso y la interpretación de sus resultados. En este estudio, se evaluó y comparó el desempeño clínico de un inmunoensayo quimioluminiscente (Access® SARS-CoV-2

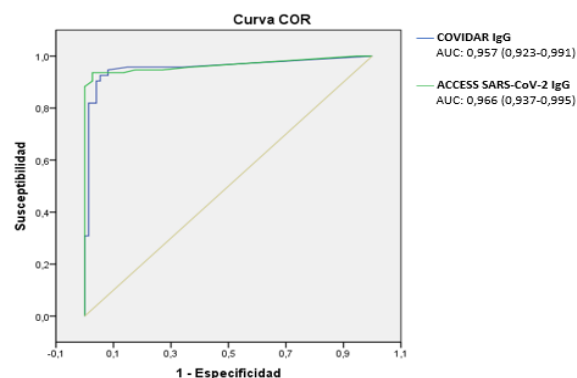
IgG), un enzoinmunoensayo (COVIDAR IgG) y un inmunoensayo de flujo lateral (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) para la detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2, tres ensayos de distinto fundamento metodológico con potencial aplicación en escenarios diferentes. El diseño del estudio incluyó sueros de potenciales donantes de plasma de convaleciente con diagnóstico de COVID-19 confirmado por laboratorio y sueros recolectados antes del inicio de la pandemia, lo que nos permitió contar con muestras positivas y negativas bien definidas para evaluar los parámetros de desempeño diagnóstico de cada prueba en nuestra población, compararlos entre sí y contrastarlos con las especificaciones de los fabricantes y los datos publicados en otros estudios.

En este estudio, los tres ensayos evaluados mostraron excelentes especificidades diagnósticas, comparables entre sí y mayores al 95 % en todos los casos. Los fabricantes enuncian una especificidad del 99,8 %, 97,6 % y 100 % para los ensayos Access® SARS-CoV-2 IgG, SARS-CoV-2 *Antibody Test* y COVIDAR IgG, respectivamente, similares a las de nuestro estudio. Los resultados falsos positivos podrían deberse a la unión no específica de anticuerpos u otras proteínas del suero, así como a la reactividad cruzada con otros virus. Tanto la proteína N como la proteína S muestran un grado de homología variable con otros miembros de la familia de los *Orthocoronavirinae*, por lo tanto, una infección reciente con un coronavirus (CoV) distinto del SARS-CoV-2 podría conducir a un resultado falso positivo<sup>19</sup>.

En general, los distintos métodos serológicos para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2 muestran escasos falsos positivos debido a reactividad cruzada, con una especificidad reportada que oscila entre el 96 % y el 100 %, coincidente con los resultados de nuestro estudio<sup>7,17,20</sup>. Ha et al<sup>21</sup> reportaron en un estudio de desarrollo de ensayos serológicos, en el cual la respuesta específica de anticuerpos fue evaluada de acuerdo con la proteína viral en formato ELISA, una especificidad para la detección de IgG contra SARS-CoV-2 del 98 %, 100%, y 85%, utilizando como antígenos las proteínas S, RBD y N, respectivamente. Esto tiene relación con las especificidades estimadas en nuestro trabajo para COVIDAR IgG (95,9 %), que utiliza a las proteínas S y el dominio RBD como antígenos, y para el ensayo Access® SARS-CoV-2 IgG (100 %), que utiliza únicamente el dominio RBD.

En escenarios de baja seroprevalencia, la especificidad de una prueba es el parámetro de desempeño clínico más relevante y esta debe ser alta para asegurar un VPP aceptable y una menor tasa de resultados falsos positivos; este parámetro debe estar acompañado de una adecuada sensibilidad diagnóstica. Al estimar los VPP de cada prueba en un escenario de 5 % de prevalencia de COVID-19, se evidenció que el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) y el ELISA (COVIDAR IgG) alcanzan un VPP bajo, lo que demuestra que cuando la prevalencia de la infección por SARS-CoV-2 es baja, existe una alta probabilidad de falsos positivos, aun para ensayos con alta especificidad, y esto limita la utilidad de estas pruebas como única herramienta diagnóstica. En cambio, en escenarios de alta prevalencia los tres ensayos mostraron excelentes VPP, lo que justifica su

**Figura 1.** Comparación de las curvas ROC para los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG.



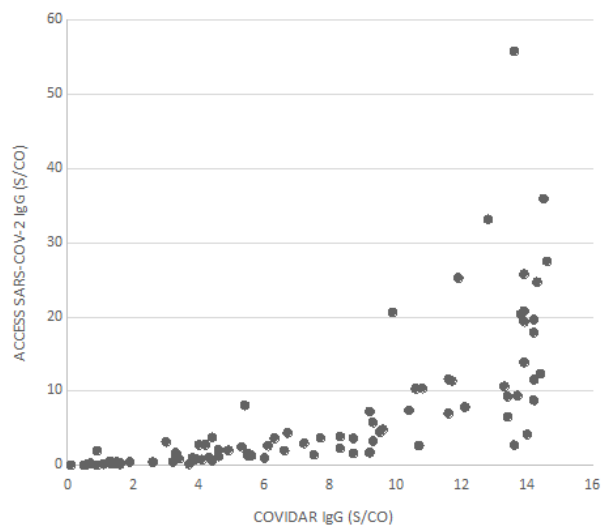
► AUC, área bajo la curva.

uso para la detección de anticuerpos en donantes de plasma de convaleciente, en la población vacunada, en pacientes COVID-19 hospitalizados o como complemento de las pruebas RT-PCR para controlar el curso clínico de la enfermedad.

Por otro lado, las sensibilidades de los tres ensayos estimadas en este estudio resultaron menores que las enunciadas por los respectivos fabricantes. Estos reportan una sensibilidad para el Access® SARS-CoV-2 IgG del 100 % en muestras recogidas luego de 18 días de la infección; para el SARS-CoV-2 *Antibody Test*, del 96,8 % (sin especificar el momento de recolección de las muestras) y para el COVIDAR IgG, del 100% entre 20 y 30 días posteriores a la infección. Las diferencias pueden estar relacionadas con la cinética de los anticuerpos, su variabilidad interindividual y el momento posinfección en el que hayan sido determinados. Este estudio no contó con la información del tiempo transcurrido desde la infección en los potenciales donantes de plasma incluidos ni con la expresión clínica de la enfermedad en estos sujetos, lo cual puede tener un gran impacto en la comparabilidad de nuestros resultados con los hallados por los fabricantes. Es posible que en algunos de los sujetos los anticuerpos contra SARS-CoV-2 hubieran aclarado y, por lo tanto, fueran indetectables en el momento de la toma de muestra o que algunos individuos no hubieran desarrollado niveles detectables de anticuerpos contra SARS-CoV-2 en absoluto. En el caso del ensayo LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*), la discrepancia con la sensibilidad declarada por el fabricante también puede atribuirse al efecto de error visual del observador, sobre todo en la interpretación de las bandas tenues. De hecho, el LFIA fue el ensayo que más resultados indeterminados arrojó y que, finalmente, fueron considerados como negativos para el cálculo de los parámetros de desempeño diagnóstico.

Adicionalmente, el ELISA (COVIDAR IgG) mostró una sensibilidad significativamente mayor que la de los otros dos ensayos evaluados y, consecuentemente, un mejor desempeño clínico global. Distintos metaanálisis, hallaron una sensibilidad combinada para ensayos: LFIA, del 78 % [IC 95 %: 71 % - 83 %], CLIA, del 92 % [IC 95 %: 86 % - 95 %], y ELISA, del 86 % [IC 95 %: 82 % - 89 %]<sup>7,17,22</sup>. Las sensibilidades encontradas en estos estudios para los distintos ensayos son concordantes con las

**Figura 2.** Correlación de los resultados de los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG expresados como índices S/CO.



obtenidas en el presente trabajo para el ELISA (COVIDAR IgG) y el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*), con valores estimados del 89,4 % [83,1 - 95,6] y 78,7 % [70,4 - 87,0], respectivamente. Sin embargo, el CLIA (Access® SARS-CoV-2 IgG) mostró una sensibilidad del 71,3 % [62,1 - 80,4], llamativamente menor que la reportada por los metaanálisis para el conjunto de este tipo de ensayos. Distintos factores técnicos pueden influenciar la sensibilidad de las pruebas serológicas, incluida la naturaleza del antígeno utilizado, la densidad del recubrimiento con este último, el tipo de señal generada por cada inmunoensayo y la forma de detectarla, así como la dilución del suero. Desde el punto de vista del recurso antigénico, Ha et al<sup>21</sup> hallaron que la sensibilidad de los ELISA desarrollados para la detección de IgG contra SARS-CoV-2 que utilizan como antígeno la proteína S, RBD o N fue del 89 %, 78 %, 85 %, respectivamente. Esto puede relacionarse con los hallazgos de nuestro estudio, ya que el ensayo de menor sensibilidad (Access® SARS-CoV-2 IgG) usa como antígeno únicamente el dominio RBD de la proteína S y el ensayo de mayor sensibilidad (COVIDAR IgG) utiliza, además del dominio RBD, la proteína S completa. La combinación de más de un target antigénico podría, además, mejorar la sensibilidad del ensayo.

A pesar de las diferencias antes mencionadas, los hallazgos del estudio demuestran una concordancia sustancial entre el ELISA (COVIDAR IgG) y el CLIA (Access® SARS-CoV-2 IgG) y una casi perfecta entre el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) y los otros dos ensayos, lo que indica que los resultados de los tres métodos son comparables. Además, las curvas ROC generadas para los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG demostraron que ambos métodos poseen un desempeño clínico muy bueno, con una excelente probabilidad de clasificación. Por otro lado, se encontró una fuerte correlación monótona positiva entre los índices S/CO de las muestras de donantes de plasma obtenidos por los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG.

Dada la comparabilidad de los resultados y el buen desempeño clínico de los tres ensayos evaluados, estos pueden ser utilizados en la práctica clínica, considerando distintos escenarios de aplicación de acuerdo con las ventajas y desventajas de cada metodología. El LFIA resulta propicio para realizar pruebas serológicas a gran escala en entornos que carecen de instalaciones de laboratorio, dado su fácil manejo, la falta de necesidad de instrumentación adicional, el requerimiento de un bajo volumen de muestra, la posibilidad de su aplicación sobre sangre entera y la emisión de resultados rápidos. El ELISA y CLIA son de elección para laboratorios de mayor complejidad y tienen como ventajas la automatización o la posibilidad de automatización, evitar la exposición prolongada a material biológico, un control de calidad disponible que asegura reproducibilidad de lote a lote y resultados que no son propensos a la interpretación subjetiva. El CLIA Access® SARS-CoV-2 IgG, por ser un ensayo totalmente automatizado, resulta la mejor opción para el procesamiento de grandes números de muestras y, dado el desempeño que demostró en el presente estudio, podría ser el ensayo de elección en escenarios de baja prevalencia, mientras que el ELISA COVIDAR IgG mostró el mejor desempeño global, lo que podría transformarlo en la mejor opción para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2, especialmente en escenarios de alta prevalencia.

Cabe mencionar como limitaciones de este estudio el desconocimiento del tiempo exacto transcurrido desde la infección hasta la toma de muestra de los donantes de plasma de convaleciente y de la gravedad de la enfermedad en estos sujetos, factores que podrían hacer variar los parámetros de desempeño de los distintos ensayos. Por otro lado, también son limitantes del estudio el desconocimiento del antígeno utilizado por el ensayo SARS-CoV-2 *Antibody Test* y el número reducido de muestras analizadas, lo que podría tener impacto en los resultados estadísticos.

En conclusión, este estudio demostró un adecuado desempeño de los tres ensayos evaluados y una buena concordancia entre los mismos, lo que corrobora su utilidad en la práctica clínica como herramienta en el enfoque diagnóstico, en estudios seroepidemiológicos, en el estudio de donantes de plasma y en la evaluación de la inmunidad humoral posvacunal con potencial aplicación de cada ensayo en escenarios diferentes.

Estudios futuros serán determinantes para mejorar la comprensión de la cinética de la respuesta inmune contra el SARS-CoV-2 y evaluar la potencial pérdida de anticuerpos a lo largo del tiempo, así como su capacidad de neutralización viral y protección contra la infección.

### Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. María Victoria Fasano por su colaboración en la revisión del diseño metodológico y el análisis estadístico del presente trabajo; al Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas del Hospital de Niños "Sor María Ludovica" de La Plata (IDIP) por habernos brindado las muestras prepanemia y al Instituto de Hemoterapia de la Provincia del Buenos Aires por brindarnos las muestras de los potenciales donantes

de plasma de convaleciente.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflicto de intereses.

### Referencias bibliográficas

1. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265-269.
2. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5(4):536-544.
3. Adhanom Ghebreyesus T. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet]. Ginebra, Suiza: World Health Organization; 2020 [consultado: 12 dic 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19--11-march-2020>.
4. Dong GP, Guo XJ, Sun YA, Zhang Z, Du LP, Li MY. Diagnostic Techniques for COVID-19: A Mini-review of Early Diagnostic Methods. *J Anal Test*. 2021;5(4):314-326.
5. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020; 26(5):672-675.
6. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nat Commun*. 2020;11(1):4704.
7. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev*. 2021;34(3):e00228-20.
8. Krone M, Güttling J, Wagener J, Lâm TT, Schoen C, Vogel U, et al. Performance of three SARS-CoV-2 immunoassays, three rapid lateral flow tests and a novel bead-based affinity surrogate test for the detection of SARS-CoV-2 antibodies in human serum. *J Clin Microbiol*. 2021;59(8):e0031921.
9. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020;71(16):2027-2034.
10. Ojeda DS, Gonzalez Lopez Ledesma MM, Pallarés HM, Costa Navarro GS, Sanchez L, Perazzi B, et al. Emergency response for evaluating SARS-CoV-2 immune status, seroprevalence and convalescent plasma in Argentina. *PLoS Pathog*. 2021;17(1):e1009161.
11. Emmerich P, von Possel R, Hemmer CJ, Fritzsche C, Geerdes-Fenge H, Menge B, et al. Longitudinal detection of SARS-CoV-2-specific antibody responses with different serological methods. *J Med Virol*. 2021;93(10):5816-5824.
12. Seow J, Graham C, Merrick B, Acors S, Steel KJA, Hemmings O, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nat Microbiol*. 2020;5(12):1598-1607.
13. Wu J, Liang B, Chen C, Wang H, Fang Y, Shen S, et al. SARS-CoV-2 infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19. *Nat Commun*. 2021;12(1):1813.
14. Gomes LR, Durans AM, Napoleão-Pêgo P, Waterman JA, Freitas MS, De Sá NBR, et al. Multiepitope Proteins for the Differential Detection of IgG Antibodies against RBD of the Spike Protein and Non-RBD Regions of SARS-CoV-2. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(9):986.
15. Lewin A, Drews SJ, Lieshout-Krikke R, Erikstrup C, Saeed S, Fady H, et al; Surveillance, Risk Assessment, Policy, the Virology Sub-groups of the ISBT Transfusion Transmitted Infectious Diseases Working Party. An international comparison of anti-SARS-CoV-2 assays used for seroprevalence surveys from blood component providers. *Vox Sang*. 2021;116(9):946-954.

16. Tešija Kuna A, Hanžek M, Vukasovi I, Nikolac Gabaj N, Vidranski V, elap I, et al. Comparison of diagnostic accuracy for eight SARS-CoV-2 serological assays. *Biochem Med (Zagreb)*. 2021;31(1):010708.
17. Ong DSY, Fragkou PC, Schweitzer VA, Chemaly RF, Moschopoulos CD, Skevaki C, et al. How to interpret and use COVID-19 serology and immunology tests. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(7):981-986.
18. Jacot D, Moraz M, Coste AT, Aubry C, Sacks JA, Greub G, et al. Evaluation of sixteen ELISA SARS-CoV-2 serological tests. *J Clin Virol*. 2021;142:104931.
19. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565-574.
20. Mekonnen D, Mengist HM, Derbie A, Nibret E, Munshea A, He H, et al. Diagnostic accuracy of serological tests and kinetics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibody: a systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol*. 2021;31(3):e2181.
21. Ha B, Jadhao S, Hussaini L, Gibson T, Stephens K, Salazar L, et al. Evaluation of a SARS-CoV-2 Capture IgM Antibody Assay in Convalescent Sera. *Microbiol Spectr*. 2021;9(2):e0045821.
22. Gong F, Wei HX, Li Q, Liu L, Li B. Evaluation and Comparison of Serological Methods for COVID-19 Diagnosis. *Front Mol Biosci*. 2021;8:682405.