

PROTOCOLO DE USO DE PRUEBAS RÁPIDAS PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA SARS- COV-2/COVID-19

1. Introducción

Los Coronavirus pertenecen a la familia *Coronaviridae*, en la que se incluyen cuatro géneros, Alfacoronavirus, Betacoronavirus, Deltacoronavirus y Gammacoronavirus. Los coronavirus que afectan a los humanos son endémicos y epidémicos, dentro de los epidémicos se encuentran los SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-COV-2 (betacoronavirus), este último causante de la pandemia que se originó en Wuhan, China en el año 2019 de origen zoonótico y que produce la enfermedad por coronavirus (COVID-19).(1)

El diagnóstico microbiológico de las infecciones en fase aguda implica la detección del microorganismo por métodos directos como el cultivo y los métodos moleculares o utilizando métodos indirectos como la serología. En el caso de COVID-19, su diagnóstico microbiológico a nivel mundial se basa, en la detección del material genético (ARN) viral del SARS-CoV-2 mediante técnicas de PCR, en muestras respiratorias de pacientes con síntomas compatibles. El cultivo celular por su parte, no es un método de empleo rutinario para el diagnóstico.(1)

Al momento existen ya en el mercado pruebas moleculares que cumplen las características de Point of Care (POC), es decir; un diagnóstico rápido, en sitios con poca infraestructura sanitaria y con un resultado rápido.(1)

2. Antecedentes y justificación

El procesamiento y análisis de pruebas diagnósticas de COVID-19, actualmente, está centralizado en los laboratorios INSPI de Quito, Cuenca y Guayaquil. Por lo tanto, la eficiencia del reporte de las mismas, depende de la infraestructura, equipamiento y del personal técnico que trabaja en estos laboratorios.

Al momento, en Ecuador, se han realizado un total de 15 526 pruebas, de las cuales 4 450 han reportado casos positivos y han descartado 4 208 casos (Boletín MSP, 08 de abril 2020). Aunque no existen cifras exactas al respecto, la gran cantidad de individuos sintomáticos en espera de un diagnóstico confirmatorio de COVID-19, sin duda representa una carga y un reto importante para la capacidad instalada del Sistema Nacional de salud.

El Centro para el Control de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), el CDC Europeo (ECDC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) actualmente recomiendan el diagnóstico de COVID-19 mediante pruebas moleculares que detectan el ARN del virus SARS-CoV-2. Sin embargo, estas pruebas requieren de un tiempo de entre cuatro y seis horas en el mejor de los casos para obtener un resultado. Además dependen de la disponibilidad de infraestructura especializada, personal entrenado y múltiples reactivos.(2,3)

En la emergencia sanitaria actual, las capacidades de diagnóstico están físicamente limitadas por la infraestructura, el personal disponible en los INSPI y la escasez de suministros. Todo ello

restringe de forma importante la capacidad de detección y la mantiene por debajo de la creciente demanda de diagnóstico de COVID-19. El estado actual de la pandemia podría dar paso al uso de pruebas rápidas para la detección de anticuerpos IgM/IgG anti-SARS-CoV-2, esto con el fin de ser una herramienta de tamizaje, pero previo a su implementación se deberá tomar en consideración algunos aspectos, como la formulación de una estrategia nacional clara y con criterios de inclusión para su futura implementación

Actualmente no hay evidencia, ni datos suficientes para recomendar alguna prueba rápida de anticuerpos y prueba rápida de antígeno por inmunocromatografía para el diagnóstico y seguimiento en la pandemia de COVID-19. Están en consideración algunas pruebas, debido a la urgencia, y necesidad de tomar decisiones frente a un gran número de población afectada. Este documento se actualizará a medida que haya nueva información disponible. Dada la escasa evidencia científica sobre las pruebas rápidas, estas son pautas provisionales.

3. Objetivo

Establecer las pautas de uso de pruebas rápidas para la detección de anticuerpos de SARS-CoV-2, de acuerdo al escenario epidemiológico de transmisión, disponibilidad de pruebas y capacidad de procesamiento de las muestras.

4. Alcance

Este protocolo está dirigido a los profesionales del Sistema Nacional de Salud involucrados directa o indirectamente en la atención de pacientes sospechosos o confirmados con COVID-19 (médicos generales, médicos especialistas, personal de enfermería, auxiliares de enfermería, tecnólogos de laboratorio, tecnólogos médicos, bioquímicos clínicos, personal médico en formación), así como a quienes ejercen un nivel de responsabilidad en el planeamiento, gerencia y dirección de servicios de salud de todos los niveles de atención.

5. Glosario de términos

- **Caso confirmado:** Persona con infección por el virus de la COVID-19 confirmada mediante pruebas de laboratorio, independientemente de los signos y síntomas clínicos.(4)
- **Caso sospechoso:** Se considera caso sospechoso a los pacientes que cumplan uno de los siguientes criterios: **A.** Pacientes con infección respiratoria aguda grave caracterizada por fiebre, tos, dificultad respiratoria y que requieren hospitalización, sin otra etiología incluyendo patologías respiratorias y que, además que tenga: Historial de viaje a China, Italia, Corea del Sur, Irán u otros países que tengan un brote activo de coronavirus COVID-19 en los últimos 14 días anteriores al inicio de los síntomas u; ocupación como trabajador de la salud en un entorno que atiende a pacientes con IRAG con etiología desconocida. **B.** Paciente con enfermedad respiratoria aguda leve o moderada (tos y fiebre) que no requiere internación y al menos uno de los siguientes: Visitar o trabajar en China, Italia, Corea del Sur, Irán u otros países que tengan un brote activo de coronavirus COVID-19, en los 14 días previos al inicio de los síntomas; o, compartir hogar o contacto cercano con un caso confirmado de COVID-19 en los 14 días previos al inicio de la enfermedad; o, trabajó o asistió profesionalmente en un centro de atención médica en los 14 días anteriores al inicio de los síntomas en los que se notificaron casos confirmados o probables de Coronavirus COVID-19.(4)

- **Profesional de primera línea:** personal sanitario, fuerza pública y otros altamente expuestos, por condiciones propias relacionadas a sus actividades laborales, o por no poder realizar sus actividades en aislamiento durante la emergencia sanitaria.
- **Pruebas moleculares:** Existen varios protocolos de RT-PCR en tiempo real para diagnosticar COVID-19, los protocolos mundiales de aplicación de esta técnica difieren en los genes que detectan, muchos protocolos examinan dos genes empleando dos pasos en el algoritmo, es decir; la identificación se lo hace con una prueba de *screening* mientras que la segunda corrida es una prueba confirmatoria. Existen otros protocolos que identifican tres genes en una sola corrida y no requieren confirmación en una segunda corrida. El protocolo utilizado inicialmente en el Ecuador detecta dos genes: uno de cribado o *screening* (gen E) y otro confirmatorio (gen RdRP). Sin embargo a partir de abril 2020 llegaron al país otros protocolos que incluyen la detección de tres genes (E, N, RdRP,) y el marco de lectura abierta Orf1ab (ORF = Open Reading Frame). Los resultados se interpretan como positivo, negativo o indeterminado. Al momento la RT-PCR es la prueba de referencia para el diagnóstico de la enfermedad, esta cumple con criterios de sensibilidad y especificidad bastante altos que le permiten ser una prueba confiable. Este tipo de técnica tiene un período de ventana de 4 o 5 días post infección y puede mantenerse como positiva hasta 28 días post infección.(1)
- **Prueba rápida de detección de anticuerpos:** tienen la ventaja de tener resultados en corto tiempo (alrededor de 15 a 20 minutos), a bajo costo y requerir poca infraestructura sanitaria para su aplicación, su metodología se basa en el flujo lateral o flujo continuo (inmunofiltración) estas pruebas hasta el momento han demostrado tener una sensibilidad variable. Este tipo de pruebas hasta el momento no se recomiendan para el diagnóstico, dado el amplio período de ventana (7-10 días), estas pruebas pueden servir de cribado o tamizaje a personas sintomáticas con antecedentes de contacto y para levantar el perfil de seroprevalencia de la población.(5)
- **Sospecha epidemiológica:** Son aquellas condiciones de tipo epidemiológico como lugar de residencia, antecedentes, edad, género, población, etnia, que generan una mayor probabilidad de contraer una enfermedad.
- **Serología:** Dentro de las técnicas serológicas se encuentra la electroquimioluminiscencia, el ELISA, entre otros, este tipo de técnicas son importantes para entender la epidemiología de la enfermedad sobre todo el rol en la infección asintomática, en el caso particular de este virus, estudios han demostrado que la mayoría de los pacientes desarrollan anticuerpos de 7 a 10 días post infección, sin embargo, algunos pacientes pueden desarrollar anticuerpos antes (hasta 5 días post infección).(6,7)

6. Desarrollo

6.1 Prueba rápida de detección de anticuerpos de SARS-CoV-2

La prueba rápida detecta inmunoglobulinas (Ig) del tipo G y M. Se basa en el flujo lateral y/o oro coloidal en casete, lo que abarata el costo. La IgM revela la respuesta inmunológica frente a infecciones activas, mientras que la IgG indica la presencia de infecciones no actuales, es decir aquellas que ya han desarrollado una respuesta inmunitaria secundaria.(5)

Por tanto, al ser una prueba de principio serológico (detección de anticuerpos) es necesario el desarrollo de la inmunidad humoral del paciente infectado para desarrollar los mismos, por lo

que dependiendo del tiempo entre el inicio de la infección y el uso de la prueba, la sensibilidad de ésta es variable.(8)

La evaluación de desempeño de una prueba serológica debe hacerse en condiciones reales de uso, para el empleo de estas en el ámbito epidemiológico, la SEIMC (Sociedad Española de

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) recomienda que estas pruebas deben evidenciar un desempeño de sensibilidad de al menos el 70% en escenarios epidemiológicos con alta prevalencia de enfermedad.(9)

Tabla 1. Interpretación de anticuerpos IgG e IgM en pruebas rápidas

IgG	IgM	Interpretación	Comentario
Negativo	Negativo	Ausencia de enfermedad	Si tiene cuadro clínico compatible con COVID-19 realizar RT-PCR. Considerar período de ventana (no desarrolla aún anticuerpos)
Positivo	Positivo	Presencia de la enfermedad	Paciente debe ser aislado
Positivo	Negativo	- Inmunidad - Fase final de la infección - Infección pasada y curada	Puede requerir prueba molecular para determinar si el paciente aún puede infectar a otros
Negativo	Positivo	- Inicio temprano de la enfermedad - Falso negativo de la IgM	Se debe repetir dentro de 5 a 7 días la prueba: - Si se mantiene la IgG (-) y la IgM (+) es un falso positivo. - Si IgG e IgM son positivos indica infección actual. Realizar RT-PCR si no hay la posibilidad de repetir la IgG y la IgM

Elaboración propia.

6.2 Aplicación de pruebas rápidas de detección de anticuerpos

a. Ámbito clínico-terapéutico

- Pacientes que acudan al servicio de emergencia o ingresen con más de cinco días de evolución y que se encuentren dentro de los 10 días posteriores al contacto de sospecha, debido a que pueden haber pacientes con contacto y asintomáticos.
- Seguimiento de la respuesta inmune en pacientes infectados con o sin síntomas.

b. Investigación epidemiológica

- Para comprender la epidemiología del COVID-19, permitiendo también saber el papel que podrían haber tenido las infecciones asintomáticas.
- Para inferir seroprevalencia en una localidad o población determinada.(10)

c. Investigación clínica

- Para trabajos de investigación (como posibles ensayos clínicos con plasma de pacientes inmunizados).
- Para evaluación de la vacuna.

d. Tamizaje

- La detección de anticuerpos se debería realizar en los profesionales de primera línea (sanitario, fuerza pública y otros altamente expuestos), lo que ayudaría a identificar a aquellos que han creado inmunidad (presencia de IgG) y puedan volver al trabajo cercano a posibles individuos infectados minimizando el riesgo de propagación del virus a colegas y demás población.

La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) se encuentra en proceso de autorización de pruebas para COVID-19 bajo una “Autorización de uso de emergencia” (EUA, por sus siglas en inglés); y hasta la fecha, la FDA ha autorizado una sola prueba serológica destinada a laboratorios clínicos y más de 70 se encuentran en el proceso. Es importante considerar ciertos indicadores de calidad al momento de escoger una prueba rápida. La Agencia de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) con fecha 8 de abril del presente, emitió un listado en el que se incluyen 25 kits de pruebas rápidas autorizadas para la venta en el territorio nacional, como criterios de selección deberían incluirse valores de sensibilidad y especificidad de las pruebas, certificaciones o aval de instituciones como la FDA o certificación europea entre otros.(11)

Tabla 2. Pruebas para SARS-CoV-2/COVID-19 y potenciales usos

Tipo de prueba	Toma de muestra	Valor	Beneficiario
RT-PCR*	Infección actual por SARS-CoV-2	<p>Informar al paciente sobre el estado de la infección para que pueda anticipar el curso de la enfermedad y tomar medidas para prevenir la transmisión.</p> <p>Informar sobre el manejo y las acciones necesarias para prevenir la transmisión.</p>	<p>Pacientes</p> <p>Establecimientos de salud</p> <p>Salud pública</p>
Pruebas de detección de anticuerpos	Posterior a exposición a SARS-CoV-2	<p>Detectar individuos susceptibles (anticuerpos negativos) y aquellos previamente infectados</p> <p>Identificar individuos con anticuerpos neutralizantes</p> <p>Facilitar el rastreo de contactos y vigilancia</p>	<p>Pacientes: identificar aquellos potencialmente inmunes a SARS-CoV-2 (si las pruebas pueden detectar inmunidad protectora, los individuos podrían retornar al trabajo)</p> <p>Establecimientos de salud</p> <p>Salud pública</p>

Adaptado de: Patel R. et al. 2020. (6)

6.3 Cuestionario para definición de caso o riesgo

a) Información demográfica

- Fecha de la entrevista (dd-mm-aa)
- Datos del paciente, apellidos paternos maternos, nombres
- Sexo F, M
- Fecha de nacimiento (dd-mm-aa)
- Dirección
- Razón de entrevista (contacto con caso conocido, exposición ocupacional, sintomático respiratorio)

b) Información de riesgo de contacto (últimos 10 días)

- Viaje fuera del país en los últimos 10 días
- Especifique país
- Contacto con caso sospechoso de Covid-19
- Hace cuántos días

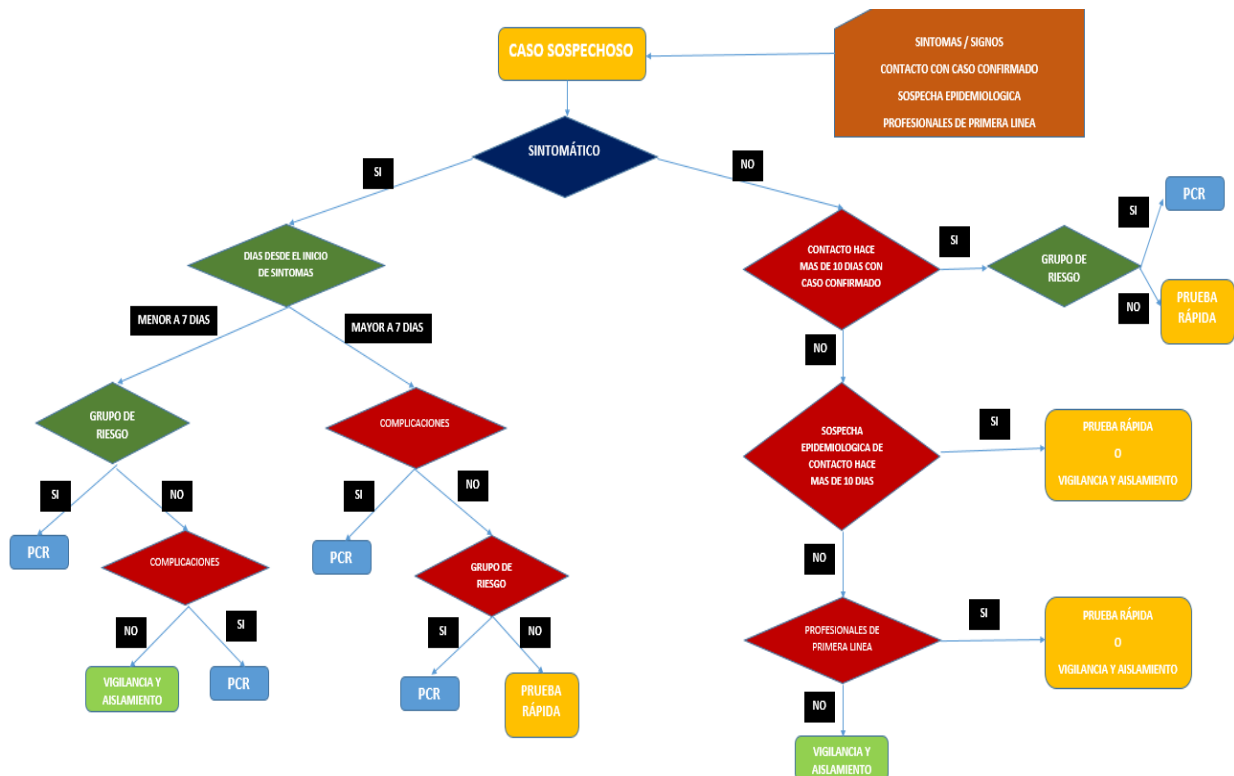
c) Sintomatología (uno o más califica como sintomático)

- Fiebre
- Tos
- Dificultad para respirar
- Pérdida de olfato
- Pérdida de gusto
- Hace cuántos días

d) Grupos de riesgo

- Población con riesgo de contacto: personal sanitario de atención, personal policial o militar movilizado, otra ocupación sin cuarentena.
- Población con riesgo clínico: enfermedad cardíaca, enfermedad pulmonar crónica, diabetes, insuficiencia renal, diálisis, inmunodepresión, enfermedad hepática, obesidad, personas viviendo con VIH y personas con trasplantes.

6.4 Algoritmo para aplicación de pruebas



Elaboración propia.

6.5 Algoritmo de conducta a seguir ante resultados de pruebas rápidas



*Considerar realización de RT-PCR
Elaboración propia.

6.6 Tipo y manejo de la muestra biológica

La muestra deberá ser suero, plasma o sangre total dependiendo de cada marca de prueba disponible.

6.7 Consideraciones de bioseguridad

Se deberán cumplir las precauciones universales de bioseguridad y normativa vigente de la Autoridad Sanitaria Nacional.

6.8 Procedimiento para la toma de muestra

- La toma de muestra e interpretación del resultado debe ser realizado por personal de salud capacitado, cada marca de prueba tiene el inserto correspondiente el cual deberá ser revisado de forma permanente durante la implementación de este tipo de muestras.
- Antes de realizar cualquier procedimiento, explicar al paciente el procedimiento a realizar y las molestias que éste le puede causar.
- El personal debe observar todas las normas de bioseguridad previo a la toma de muestra, al momento de realizar la toma de muestra, así como en el manejo de la muestra tomada y desecho de desperdicios infecciosos.

6.9 Recomendaciones generales

- Se debe contar con un registro estandarizado para vigilancia epidemiológica, el mismo que debe ser universal en la Red Pública Integral de Salud y la Red Privada Complementaria.
- Los resultados negativos no deben ser usados como criterio absoluto para descartar un caso, sobre todo aquellos en los que la historia clínica y los antecedentes epidemiológicos se alinean a la definición de caso sospechoso o probable.
- Realizar la prueba rápida de detección de anticuerpos a partir de los primeros siete días de presentación de síntomas para disminuir la probabilidad de resultados falsos negativos.
- La Agencia de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) deberá regular el tipo de pruebas que estarán disponibles en el país, en cumplimiento de la normativa vigente.
- Las pruebas rápidas de detección de anticuerpos deberán ser previamente validadas con sueros madre (INSPI, institutos de investigación públicos y privados, academia), una vez obtenido esto y comparado con la prueba diagnóstica de oro, correr estas pruebas en una muestra de la población ecuatoriana para ver su correspondiente desempeño, finalmente luego de este proceso, se podrá aplicar estas pruebas rápidas en la población.
- El personal que deberá tomar las pruebas deberá ser el personal de salud (médicos, enfermeras, odontólogos, obstetras) previa la capacitación de los mismos para evitar errores en el desempeño, aplicación, lectura, interpretación de estas pruebas, es decir; se deberá implementar de forma rápida pero correcta.
- Se deberá realizar una estrategia de aplicación de la prueba, es decir; desde qué nivel de atención en salud se aplicará la prueba y a qué grupo poblacional lo hará, tomando en cuenta que de acuerdo a los resultados obtenidos la población podrá ir saliendo de forma paulatina a sus actividades laborales; esto enmarcado en la dinámica de la pandemia de cada país, es decir; de acuerdo al momento de la enfermedad que se viva en ese territorio puntualmente.
- De acuerdo a los recursos existentes en cada país se deberá decidir qué estrategia de identificación y condición de testeo utilizará la población, por ejemplo; algunos países usarán brazaletes, códigos de color semáforo en sus teléfonos celulares sincronizados con códigos QR, carnés, etc. Todas estas acciones encaminadas a permitir que de forma paulatina la población se reintegre, tomando en cuenta que una vez que exista una vacuna disponible y segura habrá que replantear este escenario.

7. Referencias

1. Loeffelholz MJ, Tang Y. Laboratory Diagnosis of Emerging Human Coronavirus Infections. The State of the Art. 2020;1751.
2. Centers for Diseases Control and Prevention. PRIORITIES FOR TESTING PATIENTS WITH SUSPECTED COVID-19 INFECTION [Internet]. 2020. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/priority-testing-patients.pdf>
3. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. who. 2020;
4. Ministerio de Salud Pública. LINEAMIENTOS OPERATIVOS DE RESPUESTA FRENTE A CORONAVIRUS COVID-19. 2020.

5. Ministerio de Sanidad. Gobierno de España. GUÍA PARA LA UTILIZACIÓN DE TESTS RÁPIDOS DE ANTICUERPOS PARA COVID-19. 2020;
6. Patel R, Babady E, Theel ES, Storch GA, Pinsky BA, George K St., et al. Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of Diagnostic Testing for SARS–CoV-2/COVID-19. Am Soc Microbiol. 2020;11(2):1–5.
7. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. DOCUMENTO DE POSICIONAMIENTO DE LA SEIMC SOBRE EL DIAGNÓSTICO MICROBIÓLOGO DE COVID-19. 2020;
8. Clínica Universidad de Navarra. Diccionario medico [Internet]. 2020. Disponible en: <https://www.cun.es/diccionario-medico>
9. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Reflexiones de SEIMC sobre el uso de la detección de antígenos y anticuerpos para diagnóstico de COVID-19. 2020;
10. World Health Organization. Information and criteria for prioritizing diagnostic tests for SARS-CoV-2 in order to address the procurement needs of health systems. 2020;
11. Administration FUSF and D. Coronavirus (COVID-19) Update: Serological Tests [Internet]. 2020. Disponible en: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-serological-tests>

8. Elaboradores y colaboradores

Esteban Avilés, Especialista, Dirección Nacional de Normatización, MSP

Carlos Barba O, Ph.D. Bioquímica, Universidad de las Américas

Denisse Calle, Analista, Subsecretaría Nacional de Gobernanza de la Salud, MSP

Linda Guamán B, MSc. Ph.D. Microbiología, Universidad UTE

Vickarlia López, Especialista, Dirección Nacional de Normatización, MSP

Kleber Saenz, MD PATH, Coordinador Posgrado Patología Clínica, UCE

María Yerovi, Especialista, Dirección Nacional de Estrategias de Prevención y Control, MSP

Camilo Zurita Salinas, MSc Inmunología

Jeannete Zurita Salinas, Msc. Microbiología clínica

Revisado y aprobado por: Esp. Julio López Marín, Subsecretario Nacional de Gobernanza