

Estudio clínico: El kit de diagnóstico para los anticuerpos IgG e IgM contra el SARS-CoV-2

1 Antecedentes del ensayo clínico

El nuevo coronavirus 2019 (o "2019-nCov") se detectó debido a un caso de neumonía viral en Wuhan en 2019. El 12 de enero de 2020 fue nombrado por la Organización Mundial de la Salud. El 7 de febrero de 2020, la Comisión Nacional de Salud de la República Popular de China nombró provisionalmente a la nueva neumonía por coronavirus: "Nueva neumonía por coronavirus" (NCP). El 18 de febrero de 2020 la OMS propuso un nombre oficial para la nueva enfermedad causada por el coronavirus: "COVID-19".

El 21 de febrero de 2020, la Comisión Nacional de Salud modificó el nombre en inglés de "nueva neumonía por coronavirus" por el de "COVID-19", el cual es consistente con el nombre que la OMS ha dado a la enfermedad. El virus causante de la enfermedad fue denominado SARS-CoV-2 por el Comité Internacional sobre la Taxonomía de los Virus (ICTV), que es independiente de la Organización Mundial de la Salud, y es una organización internacional que clasifica y nombra biológicamente a los virus y establece normas, habiendo nombrado anteriormente al coronavirus del SARS de 2003 y al coronavirus del MERS de 2012.

Desde diciembre del 2019, la influenza y las enfermedades conexas se han vigilado continuamente en Wuhan, provincia de Hubei, y se han detectado varios casos de neumonía viral, todos ellos diagnosticados como neumonía viral/infección pulmonar. Esta nueva neumonía se transmite de persona a persona. La Comisión Nacional de Salud ha decidido poner la neumonía infectada con el nuevo coronavirus bajo la administración de la clase B de enfermedades infecciosas prescritas por la ley, y tomar medidas preventivas y de control para las enfermedades infecciosas de la clase A.

El SARS-CoV-2 es el séptimo tipo de coronavirus aislado por los humanos. El virus pertenece al género β . Tiene una cubierta, y las partículas son redondas o elípticas, a menudo pleomórficas, con un diámetro de 60-140nm. Sus características genéticas son significativamente diferentes de las del SARSr-CoV y el MERSr-CoV. En la actualidad, la homología del coronavirus parecido al murciélago (Bat-SL-CoV ZC45) es superior al 85%. Actualmente, los expertos han obtenido la secuencia completa del genoma, fotos del virus en el microscopio electrónico y el cultivo de aislamiento in vitro ha sido exitoso. La comprensión de las características físicas y químicas del coronavirus proviene principalmente del estudio del SARSr-CoV y el MERSr-CoV. El virus es sensible a la luz ultravioleta; tratamiento térmico en 56°C durante al menos 30 min, etileno, etanol al 75%, desinfectante con cloro, ácido peracético, cloroformo y otros

disolventes lipídicos y, por lo tanto, puede ser efectivamente inactivado por estos métodos. La clorhexidina no inactiva el virus eficazmente.

El gen del SARS-CoV-2 codifica múltiples proteínas estructurales, como la proteína N, la proteína E y la proteína S, que incluyen múltiples epítomos de antígenos. Utilizando la unión específica entre el antígeno y el anticuerpo, la presencia de antígenos del SARS-CoV-2 puede ser detectada por la unión del anticuerpo específico con los anticuerpos contra los antígenos del SARS-CoV-2, demostrando así directamente la presencia del SARS-CoV-2 en la muestra.

La partícula del virus del SARS-CoV-2, como inmunógeno, estimula a las células plasmáticas a producir anticuerpos específicos contra los antígenos del SARS-CoV-2 a partir de la partícula del virus después de que éste haya infectado el cuerpo humano. Demostrar la presencia de anticuerpos contra los antígenos del SARS-CoV-2, por lo tanto, indirectamente prueba que el cuerpo humano ha sido infectado con el SARS-CoV-2. Los tipos de muestra apropiados para los reactivos de detección de anticuerpos son generalmente la sangre, incluyendo el suero, el plasma y la sangre entera. Los anticuerpos detectados se dividen principalmente en IgM e IgG. En la actualidad, se carece de una investigación sistemática sobre la producción y la duración de la síntesis de estos dos tipos de anticuerpos contra el SARS-CoV-2.

En circunstancias normales, el anticuerpo IgM se produce poco después de la infección, se produce rápidamente, la síntesis se mantiene sólo poco tiempo y la desaparición es rápida. La detección positiva de IgM humana contra los antígenos del SARS-CoV-2 en la sangre puede utilizarse como indicador de una infección temprana por SARS-CoV-2. La producción de anticuerpos IgG se estimula más tarde, el tiempo de mantenimiento es largo y la desaparición es lenta. Por lo tanto, una detección positiva de IgG humana en la sangre puede utilizarse como indicador de una infección en curso más antigua o de un episodio de infección anterior.

En la etapa inicial (los primeros días) de la infección por el SARS-CoV-2, la síntesis de IgM puede ser bastante baja, mientras que la síntesis de IgM e IgG en los últimos días del período de infección y la enfermedad será mucho mayor. Por lo tanto, es recomendable también realizar una prueba de PCR para mostrar los ácidos nucleicos del SARS-CoV-2 en esta fase inicial, a pesar de que este tipo de pruebas depende obviamente de que se detecte una partícula de virus cuando se toma el hisopo de la garganta - o de lo contrario se obtendrá un falso negativo. Pero con la combinación de los dos tipos de pruebas, hay una probabilidad muy alta de que se encontrará en los pacientes infectados - también en la fase inicial. Más tarde, sólo es necesario probar los anticuerpos IgM e IgG contra los antígenos del SARS-CoV-2.

Además, durante el período de recuperación de la infección, la IgG sigue aumentando y la IgM desaparece gradualmente. Por lo tanto, la IgM es menos detectable en el período de recuperación. Por lo

tanto, la detección de la respuesta combinada de anticuerpos IgG e IgM puede mejorar la detectabilidad de las diferentes etapas de la enfermedad, y también puede dar información valiosa sobre la etapa de la infección.

En vista de las características y el statu quo de los reactivos de detección de antígenos/anticuerpos, su sensibilidad y especificidad son limitadas y no pueden utilizarse como única base para el diagnóstico y la exclusión de una nueva neumonía.

2 Diseño de ensayos clínicos

De conformidad con las "Directrices técnicas para los ensayos clínicos de reactivos de diagnóstico in vitro" y los "Puntos clave para el examen técnico del registro de los nuevos reactivos de detección de antígenos/anticuerpos de coronavirus 2019 (ensayo)", el rendimiento clínico del producto se confirmó mediante un estudio comparativo entre el kit de ensayo y las normas de referencia clínica disponibles. Debido al brote repentino de neumonía causada por la infección del SARS-CoV-2, hay pocos estudios sobre los anticuerpos relacionados con la neumonía causada por la infección del SARS-CoV-2. En la actualidad, sólo se dispone de equipos y métodos que han sido aprobados en una emergencia, y es necesario observar y estudiar más a fondo su rendimiento en comparación con el diagnóstico clínico.

La comparación entre el equipo de prueba y los resultados del diagnóstico clínico se realizó para evaluar el rendimiento clínico del equipo de prueba. La población inscrita fue la de los pacientes sospechosos de padecer neumonía por SARS-CoV-2. Las muestras clínicas se obtuvieron según el principio de la aleatorización completa y las muestras continuas se recogieron de pacientes con neumonía con infección por SARS-CoV-2 en diferentes momentos. Además, se compararon al mismo tiempo los resultados de la detección de ácido nucleico (por el método de la PCR) para evaluar si había diferencias entre los dos métodos en cuanto a su capacidad de detección y si el plazo de tiempo de los dos métodos de detección de las infecciones por SARS-CoV-2 era comparable. Estas pruebas se realizaron para demostrar que el rendimiento clínico del equipo de pruebas cumple los requisitos de uso previsto.

3 Resultados y análisis de los estudios clínicos

3.1 Inclusión de muestras

En este estudio, realizado en el Hospital Jinyintan de Wuhan, se incluyeron 319 casos, de los cuales 160 fueron confirmados por diagnóstico clínico y 159 fueron negativos. Se recogieron muestras continuas de 20 pacientes en diferentes puntos de tiempo.

3.2 Estadísticas del kit de muestra y resultados de los diagnósticos clínicos

3.2.1 Análisis comparativo de los resultados del diagnóstico clínico con los resultados del kit de pruebas.

Los resultados de la detección del equipo de prueba que detecta los anticuerpos IgG e IgM contra los antígenos del SARS-CoV-2 y los resultados del diagnóstico clínico se muestran en la siguiente tabla:

		resultados del diagnóstico clínico		Total
		Diagnósticos confirmados	Diagnósticos negativo	
Resultados del Kit de muestras	Positivo (+)	159	2	161
	Negativo (-)	1	157	158
Número total		160	159	319

Sensibilidad: 99.38%; (95%CI: 96.55%~99.89%)

Especificidad: 98.74%; (95%CI: 95.53%~99.65%)

Tasa de coincidencia clínica total: 99.06% (95%CI: 97.27%~99.68%)

3.2.2 Análisis comparativo de los resultados de la prueba del reactivo con los resultados de la prueba del ácido nucleico.

Los resultados de la prueba de detección de anticuerpos IgG e IgM contra los antígenos del SARS-CoV-2 y los resultados de la prueba de ácido nucleico (método PCR) se muestran en la siguiente tabla:

		Resultados de la prueba de ácido nucleico		Total
		Positivo (+)	Negativo (-)	
Resultados del reactivo de la prueba	Positivo (+)	158	2	160
	Negativo (-)	2	157	159
Número total		160	159	319

Tasa de coincidencia positiva: 98.75%; (95%CI: 95.56%~99.66%)

Tasa de coincidencia negativa: 98.74%; (95%CI: 95.53%~99.65%)

Tasa de coincidencia total: 98.75%; (95%CI: 96.82%~99.51%)

3.2.3 Comparaciones estadísticas de los resultados de pruebas de muestras homólogas.

3.2.3.1 Se analizaron un total de 20 muestras de suero y plasma del mismo paciente con el kit de prueba que detectaba anticuerpos IgG e IgM contra antígenos del SARS-CoV-2, y los resultados de estos dos tipos de muestras fueron consistentes. Los datos se muestran en el siguiente cuadro:

		Suero		Total
		Positivo (+)	Negativo (-)	
Plasma	Positivo (+)	11	0	11
	Negativo (-)	0	9	9
Número total		11	9	20

Tasa de coincidencia positiva: 100%; Tasa de coincidencia negativa: 100%; Tasa de coincidencia total: 100%

3.2.3.2 Se analizaron un total de 20 muestras de suero y de sangre entera del mismo paciente con el equipo de prueba que detectaba anticuerpos IgG e IgM contra antígenos del SARS-CoV-2, y los resultados de estos dos tipos de muestras fueron consistentes. Los datos se muestran en el siguiente cuadro:

		Suero		Total
		Positivo (+)	Negativo (-)	
Sangre entera	Positivo (+)	11	0	11
	Negativo (-)	0	9	9
Número total		11	9	20

Tasa de coincidencia positiva: 100%; Tasa de coincidencia negativa: 100%; Tasa de coincidencia total: 100%;

3.2.3.3 Se analizaron un total de 20 muestras de plasma y de sangre entera del mismo paciente con el equipo de prueba que detectaba anticuerpos IgG e IgM contra antígenos del SARS-CoV-2, y los resultados de estos dos tipos de muestras fueron consistentes. Los datos se muestran en el siguiente cuadro:

		Suero		Total
		Positivo (+)	Negativo (-)	
Sangre entera	Positivo (+)	11	0	11
	Negativo (-)	0	9	9
Número total		11	9	20

Tasa de coincidencia positiva: 100%; Tasa de coincidencia negativa: 100%; Tasa de coincidencia total: 100%

4 Conclusión

El reactivo de prueba para este estudio clínico fue investigado por el fabricante. Este estudio clínico fue diseñado como un ensayo clínico a ciegas.

Se analizaron 339 muestras y se incluyeron 339 casos para el análisis estadístico. Hubo 171 pacientes con diagnóstico positivo confirmado de Covid-19 y 168 pacientes con diagnóstico negativo confirmado de Covid-19. Se analizaron estadísticamente los resultados de ambos kits de prueba que detectaron anticuerpos IgG e IgM contra antígenos del SARS-CoV-2 y la detección de ácido nucleico. Los resultados anteriores muestran que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre el kit de prueba que detecta los anticuerpos IgG e IgM contra los antígenos del SARS-CoV-2 y los resultados del diagnóstico clínico.