

— REVISTA DE —

MEDICINA DE LABORATORIO

**Estudio comparativo de cinco
técnicas serológicas comerciales
para la determinación de
anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2
y su interpretación**

**Comparative study of five
commercial serological
techniques for the determination
of anti-SARS-CoV-2 IgG
antibodies and their
interpretation**

OR 00075

Estudio comparativo de cinco técnicas serológicas comerciales para la determinación de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 y su interpretación

Comparative study of five commercial serological techniques for the determination of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies and their interpretation

Natalia González Pereira, Javier Garralda Fernández, Adela Castañeda de la Mata, María Pacheco Delgado, Santiago Prieto Menchero

Hospital Universitario de Fuenlabrada. Fuenlabrada, Madrid

Recibido: 08/03/2021

Aceptado: 26/05/2021

Correspondencia:

Natalia González Pereira. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Camino del Molino, 2. 28942 Fuenlabrada, Madrid
e-mail: ngpereira@salud.madrid.org

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

RESUMEN

Introducción: la infección por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 ha dado lugar a una rápida proliferación de pruebas serológicas para la detección de anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2. El objetivo de este trabajo fue la realización de un estudio comparativo de cinco técnicas serológicas comerciales para la detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2.

Material y métodos: la variedad de test serológicos disponibles que utilizan diferentes tipos de ensayos, distintos tipos de anticuerpos y dianas antigénicas y la falta de estandarización internacional, hace necesario una evaluación de los diferentes test actualmente disponibles con el fin de determinar, si existen diferencias significativas entre ellos y por lo tanto, si son intercambiables. Se realizó una selección de 176 muestras para comparar los resultados cuantitativos y cualitativos de los anticuerpos obteniéndose unos resultados intercambiables únicamente a nivel cualitativo.

Resultados: se encontraron muestras con resultados discrepantes entre las diferentes técnicas evaluadas, pero aplicando los conocimientos de los últimos estudios publicados y tras realizar un diagnóstico de laboratorio personalizado y evaluar los diferentes métodos serológicos se obtuvo una correcta evaluación para la mayoría de los pacientes incorporados en el estudio.

Conclusiones: el diagnóstico serológico es una herramienta muy útil para conocer el estado epidemiológico de la población en cualquier situación y evaluar la repuesta a la inmunización. Además, la realización de informes interpretativos del estudio serológico por parte del Servicio del Laboratorio Clínico proporciona ayuda en el manejo de los resultados de los pacientes.

Palabras clave: SARS-CoV-2. Anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2. Métodos serológicos.

ABSTRACT

Background: infection with the novel SARS-CoV-2 coronavirus has led to a rapid proliferation of serological tests for the detection of specific antibodies against SARS-CoV-2. The aim of this study is to compare five commercial serological techniques for the detection of IgG antibodies against SARS-CoV-2.

Material and methods: the variety of serological tests available that use different types of tests, different types of antibodies and antigenic targets, and the absence of international standardization, makes it necessary to evaluate the different tests currently available in order to determine if there are significant differences between them and therefore, if they are interchangeable. A selection of 176 samples was compared the quantitative and qualitative results of the antibodies, obtaining interchangeable results only at the qualitative results.

Results: samples with discrepant results were found between the different techniques evaluated, but applying the knowledge that has been incorporated in the latest studies and after making a personalized laboratory diagnosis and evaluating the different serological methods, a correct evaluation was obtained for most of the patients incorporated into the study.

Conclusion: Serological diagnosis is a very useful tool to know the epidemiological status of the population in any situation, to allow evaluating the response to immunization. In addition, the performance of interpretive reports of the serological study by the Clinical Laboratory Service provides assistance in the management of patient results.

Key words: SARS-CoV-2. Anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies. Serological methods.

INTRODUCCIÓN

La infección por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2, causante de la pandemia actual, ha supuesto un gran impacto sanitario y socioeconómico a nivel mundial. A diciembre del 2020, y según la Organización Mundial de la Salud (OMS), es el responsable de más de 82 millones de personas infectadas en todo el mundo, con más de 1,8

millones fallecidos. En España, se han detectado más de 1,6 millones casos (1).

Las partículas virales del SARS-CoV-2 se componen de una nucleocápside proteica (N), dentro de la cual se encuentra una molécula de ARN de polaridad positiva que constituye el genoma viral, la cual está rodeada de una envoltura lipídica donde se inserta la proteína *spike* (S), que interacciona con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina tipo 2, a través del dominio de unión al receptor (RBP). La proteína S presenta dos dominios diferenciados, S1 y S2. La región S1 contiene la región RBP, mientras que S2 es necesaria para la fusión de la bicapa lipídica viral con la membrana celular (2).

Actualmente son objeto de estudio los mecanismos de respuesta humoral ante el SARS-CoV-2 (3) y, aunque no se conocen en detalle, existe evidencia de que la infección COVID-19 produce una respuesta inmunogénica distinta según factores dependientes del paciente y de la enfermedad (estado clínico del paciente, gravedad, duración de la enfermedad, edad, etc.) (4). Los anticuerpos dirigidos contra la proteína S tienen capacidad neutralizante y son la diana habitual de las vacunas. La proteína N es altamente inmunogénica y los anticuerpos dirigidos contra ella, aunque no se conoce en detalle su función, suelen tener un pico alrededor de los 14 días tras el inicio de los síntomas (5). La duración de la inmunidad frente al SARS-CoV-2 continúa en investigación, aunque existen estudios que demuestran la disminución de la cantidad de anticuerpos a lo largo del tiempo, también existen evidencias de su permanencia (6,7).

La realización de pruebas serológicas permite identificar a personas que hayan estado en contacto con el virus y hayan respondido frente a este, o estén en proceso. Los datos disponibles indican que hasta el 94 % de los pacientes son capaces de responder produciendo inmunoglobulinas hacia el día 14 tras el inicio de los síntomas (8).

Hemos asistido a una rápida proliferación de pruebas serológicas para la detección de anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2 (9), pero

la ausencia de unos requerimientos establecidos por las distintas entidades internacionales ha dado lugar a una alta variedad de test, con distintos formatos, detección de diferentes tipos de anticuerpos, diversas dianas antigénicas y la utilización de diferentes especímenes (10).

La Food Drug Administration publicó una política de control de estos test para la obtención de una autorización rápida a partir de estudios de las empresas de diagnóstico “*in vitro*” (10). En revisión *a posteriori*, se han retirado un total de 252 (11).

Existen recomendaciones sobre la utilización de estudios serológicos, pero no existe un consenso global. La Diseases Society of America establece cuatro escenarios posibles donde pueden ser de utilidad (12):

1. Pacientes con sintomatología sugerente de SARS-CoV-2 con detección de ARN viral negativa.
2. Selección de posibles donantes de plasma.
3. Evaluación de respuesta tras vacunación.
4. Estudios epidemiológicos.

Recientemente se ha publicado un estudio multicéntrico, en el que 51 laboratorios comparando 125 métodos, han establecido un estándar internacional para facilitar la estandarización de los métodos serológicos (13).

OBJETIVO

Realización de un estudio comparativo entre cinco técnicas serológicas comerciales para la detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2, con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre ellos, y por lo tanto, si son intercambiables.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una selección de 176 muestras de suero que habían sido procesadas durante los meses de abril y mayo de 2020 en el Servicio del Laboratorio Clínico del Hospital Universitario de

Fuenlabrada. Las muestras correspondían a 176 pacientes, 69 hombres y 107 mujeres, con una edad comprendida entre 20 y 95 años con una mediana de 51 años, 119 con resultado de la detección de RNA viral SARS-CoV-2 negativo y 57 positivo.

El estudio fue revisado y aceptado por el Comité de Ética de nuestro hospital.

Todas las muestras fueron congeladas a -80 °C, realizándose únicamente un proceso de descongelación y un análisis único simultáneamente para los cinco inmunoensayos.

La técnica utilizada de manera rutinaria en nuestro laboratorio durante el tiempo en que se realizó el estudio es el test 2019-nCoV IgG de MAGLUMI® (test A), los resultados de este ensayo fueron comparados con el test TGS COVID-19 IgG Menarini® (test B), el test Access SARS-CoV-2 IgG de Beckman® (test C), el test SARS-CoV-2 S1/S2 IgG de LIASON® (test D) y el test Elecsys Anti-SARS-CoV-2 (anticuerpos totales IgG, IgM e IgA) de ROCHE® (test E). Las características detalladas de cada uno de los ensayos se muestran en la tabla I. Se dispone de más información en los *inserts* facilitados por los fabricantes (14-18).

Los resultados de los anticuerpos se obtienen en unidades arbitrarias (UA), debido a la falta de un estándar internacional que permita cuantificar la concentración de los mismos.

Además, a partir del estudio presentado por Giuseppe Lippi y cols. (19) que asumía como valor positivo resultados superiores a 1,1 UA, en nuestro laboratorio se decidió establecer una zona gris que comprendiera un 10 % de variación con respecto al punto de corte 1,0 UA (desde 0,9 a 1,1 UA) como valores indeterminados.

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa estadístico MedCalc® 19.8 (MedCalc Software, Ostende, Bélgica).

Se abordó el estudio analizando por un lado los resultados cuantitativos obtenidos por los distintos ensayos utilizados y, por otro lado, de modo cualitativo, con la interpretación de los resultados de los anticuerpos como positivo y negativo.

El estudio de los resultados cuantitativos se realizó según la Guía de Consenso EP09-03 (Clinical and Laboratory Standards Institute) dirigida al estudio de comparación de métodos utilizando muestras de pacientes (20). Se realizó el análisis de *outliers* y tras esto, la regresión lineal no paramétrica de Passing-Bablok y el gráfico de Bland-Altman excluyendo el método E debido a que mide la cantidad de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA). Por otro lado, el análisis de los cualitativos se realizó de los cinco ensayos mediante el índice de concordancia kappa y el test de chi-cuadrado, todos ellos estableciendo un nivel de significación del 95 %.

RESULTADOS

Para el estudio de los resultados de manera cuantitativa se realizó el estudio de regresión de Passing-Bablok y los métodos gráficos de Bland-Altman. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla II y en las figuras 1 y 2.

Por otro lado, se realizó el estudio de los resultados cualitativos, utilizando la interpretación de positivo, negativo o indeterminado.

Los porcentajes de las muestras que obtuvieron un resultado positivo, negativo o indeterminado para cada uno de los test evaluados se puede observar en la tabla III.

Se realizó el índice de concordancia kappa y el test estadístico chi-cuadrado con un intervalo de confianza del 95 % entre todos los test evaluados. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla IV.

Por último, se hizo una revisión de las muestras que presentaban resultados discrepantes entre los test evaluados. De las 176 muestras analizadas, 14 muestras presentan interpretaciones discrepantes entre los diferentes test, los valores obtenidos para cada una de las muestras se recoge en la tabla V.

Ante los resultados obtenidos en el test E, se decide realizar la medición de los anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2, en aquellas muestras que presentan resultados positivos no atribuible a los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 frente al dominio de unión de

receptor de la proteína N, para comprobar si los diferentes resultados obtenidos se pueden atribuir a la presencia de dichos anticuerpos. Los resultados se muestran en la tabla VI. La técnica utilizada para la medición de los anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2 fue el inmunoensayo quimioluminiscente de captura 2019-nCoV IgM de MAGLUMI® que establece el punto de corte de la técnica en 1 UA.

DISCUSIÓN

El estudio de los resultados cuantitativos de los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 para los diferentes test, reveló la existencia de diferencias sustanciales y que los resultados cuantitativos no son intercambiables entre ningunos de los test estudiados (Tabla I y Figs. 1 y 2).

Estos resultados eran esperables ya que los puntos de corte establecidos para cada una de las técnicas son diferentes y no existe una estandarización para la medición de estos anticuerpos que permita la interpretación de los niveles cuantitativos. Con el estándar internacional realizado recientemente por la OMS (13), los test para la detección de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 deberán modificar las unidades establecidas y las concentraciones serán trazables para todos los métodos, lo que facilitará su interpretación.

En el estudio de los resultados cualitativos de las muestras, todos los test evaluados muestran resultados *a priori* muy similares; únicamente resaltar que la prueba con más resultados positivos es el test E con un total de 79 muestras (44,9 %). Este aumento podría explicarse debido a que se realiza la medición de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA).

El test estadístico chi-cuadrado muestra una fuerte asociación de los resultados obteniendo una $p < 0,0001$ en el estudio pareado de todos los métodos comparados (Tabla IV).

Por otro lado, se observa un grado de concordancia elevado con índices kappa superiores a 0,8 (0,87-0,98), que es la especificación de calidad deseada en nuestro laboratorio al reflejar una fuerza de

concordancia muy buena. Los resultados con el test E son de difícil interpretación al realizar la medición de anticuerpos totales. De las demás pruebas evaluadas se obtiene un índice de concordancia mayor entre los test que miden anticuerpos frente a las mismas dianas antigénicas (véase $K = 0,94$ para los test C y D, ambos realizan la medición de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1 y $K = 0,93$ para los test B y C por la misma situación).

A pesar de ello se encontraron resultados discrepantes en un 7,95 % (14/176) de muestras.

Ante los resultados obtenidos en el test E se realizó la medición de los anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2 para comprobar si estos resultados se pueden atribuir a la presencia de dichos anticuerpos. Los resultados positivos del test E, se obtienen en las muestras que presentan concentraciones superiores de anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2, pero es difícil sacar conclusiones con un número tan reducido de muestras (Tabla VI).

En algunas muestras se obtienen valores indeterminados en alguno de los ensayos evaluados. Podrían existir dudas ante estos resultados, pero valores indeterminados sugieren presencia de anticuerpos en concentración baja, por lo que los pacientes deben ser considerados seropositivos (p. ej. muestra/test, 1 A, 3 C, 9 C, 11 D). También debe considerarse que, aunque existan resultados de anticuerpos estimados como negativos con el punto de corte establecido, los resultados son significativamente distintos de cero y que, por lo tanto, también sugieren la presencia de anticuerpos en concentración baja (véanse muestras 6, 7, 8 y 14 para el test A).

Los resultados obtenidos en las muestras 6 a 10 para el test A (test 2019-nCoV IgG de MAGLUMI®), junto con que el test A presenta los índices de concordancia kappa más bajos con los demás test evaluados y la mayor correlación la presenta con el test B (único test evaluado que mide la presencia de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 frente al dominio de unión al receptor de la proteína N), parece

sugerir una pérdida de sensibilidad del test para la medición de los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 frente al dominio de unión al receptor de la proteína S y que los puntos de corte deben reevaluarse.

Por lo tanto, al igual que se concluye en otras publicaciones (21-23) parece necesario implantar en todas las técnicas utilizadas un rango de concentración indeterminado que asegure la máxima sensibilidad posible y reevaluar los puntos de corte que aseguren la presencia de anticuerpos aunque en sea en concentración baja, que parece que dista mucho de los establecidos actualmente.

Por otro lado se observan muestras que solo son positivas a anticuerpos frente a una de las dianas antigénicas del SARS-CoV-2, por lo que en las técnicas que presenten antígenos SARS-CoV-2 (recombinantes) afines serán positivos mientras que otras no; otros autores han observado este mismo fenómeno en estudios similares (22,24).

Ejemplo. En las muestras 2, 5, 13 y 14 solo se obtienen resultados positivos en aquellas técnicas que detectan anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 contra el dominio de unión al receptor de la proteína N, mientras que las muestras 9 y 10 presentan resultados positivos en aquellas que detectan anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 contra el dominio de unión al receptor de la proteína S1.

A la vista de estos resultados se constata que es importante tener disponible en los laboratorios técnicas que realicen la medición de anticuerpos frente a diferentes dianas antigénicas y es recomendable que la medición de los diferentes anticuerpos se realice por separado, ya que puede permitir una evaluación más completa de los pacientes. Cuando se realizó el estudio sin tener en cuentas las consideraciones expuestas previamente, el porcentaje de muestras con resultados discrepantes era de un 7,95 % (14/176), mientras que tras su reevaluación (incorporación de valores indeterminados y consideración de pacientes seropositivos, aunque fueran únicamente frente a una

diana antigénica), se logró clasificar la mayor parte de ellas, presentado únicamente un 1,14 % (2/176) resultados incongruentes. Los últimos estudios publicados ponen en evidencia que la producción de anticuerpos frente a distintas dianas antigénicas está influenciada por factores clínicos (4), viendo que existe una mayor producción de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 contra el dominio de unión al receptor de la proteína N en pacientes con criterios de mayor gravedad y de edad avanzada.

En nuestro estudio los pacientes presentan una mediana de edad de 51 años (rango de edad comprendido entre 20 y 95 años) y la gravedad de los mismos debe ser considerada como moderada/grave, ya que durante el periodo de abril y mayo por la situación de la pandemia en ese momento, solo se atendía a pacientes con criterios de gravedad y los pacientes con enfermedad leve tenían seguimiento domiciliario.

Tal como se describe en la publicación de Caroline Atyeo y cols. (4), parece que la producción de los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 contra el dominio de la unión N predomina cuando existe un transcurso más grave de la enfermedad. Esto puede explicar que la producción de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 contra el dominio de unión al receptor de la proteína N y la proteína S1 sean semejantes en los pacientes incluidos en este estudio y no observemos diferencias significativas en la interpretación de los resultados por los diferentes métodos estudiados.

Parece probable que si se realizara de nuevo el estudio de los anticuerpos podríamos encontrar mayores diferencias actualmente ya que existe una mayor variabilidad de pacientes atendidos.

Por otro lado, la reciente vacunación contra el SARS-CoV-2 con vacunas que producen la síntesis *in vivo* de anticuerpos IgG anti-S1 SARS-CoV-2, nos presenta un nuevo escenario donde aparecerán diferentes patrones de anticuerpos entre los pacientes vacunados y pacientes que hayan pasado de forma natural la enfermedad. Debe tenerse en cuenta a la hora de la medición y la interpretación de los

anticuerpos, que la detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 frente a otras dianas antigénicas que no sean la S1, solo se presentará en pacientes que hayan pasado la enfermedad. Además, es importante conocer que existe un aclaramiento de los anticuerpos a lo largo del tiempo, pero que su duración es difícil de determinar, aproximadamente se ha establecido una duración de 6 meses existiendo una disminución de la concentración de los mismos a partir de los 90 días (3,6,7).

Debe tenerse en cuenta que este estudio presenta limitaciones, ya que la selección de pacientes se realizó en un periodo de tiempo con características epidemiológicas concretas que seguramente hayan condicionado la generación de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 y que, además, existía un sesgo en la selección de pacientes a los que se les realizaban las pruebas serológicas que no se conoce al detalle pero que, *a priori*, todos los pacientes presentaban sospecha clínica de COVID-19.

Por lo tanto, a pesar de que existen muestras con resultados de diferente interpretación a nivel técnico, tras realizar un diagnóstico de laboratorio personalizado, revisando la situación clínica del paciente y teniendo la disponibilidad de diferentes métodos serológicos se obtiene una correcta evaluación para la mayoría de los pacientes incorporados en el estudio, demostrando que el diagnóstico serológico es una herramienta muy útil para conocer el estado epidemiológico de la población en cualquier situación, que permitirá evaluar la repuesta a la inmunización y que la realización de informes interpretativos por parte del servicio del laboratorio clínico ayuda en el manejo de los resultados de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social - Professionals - Situación actual Coronavirus [Internet]. [cited 2021 Feb 23]. Available from:

<https://www.mscbs.gob.es/en/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/situacionActual.htm>

2. Sun C, Chen L, Yang J, Luo C, Zhang Y, Li J, et al. SARS-CoV-2 and SARS-CoV Spike-RBD Structure and Receptor Binding Comparison and Potential Implications on Neutralizing Antibody and Vaccine Development 2020;(December 2019):1-18. DOI: 10.1101/2020.02.16.951723
3. Hope JL, Bradley LM. Lessons in antiviral immunity. *Science* 2021;371(6528):464-5. DOI: 10.1126/science.abf6446
4. Atyeo C, Fischinger S, Zohar T, Slein MD, Burke J, Loos C, et al. Distinct Early Serological Signatures Track with SARS-CoV-2 Survival. *Immunity* [Internet]. 2020;53(3):524-532.e4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.07.020> DOI: 10.1016/j.immuni.2020.07.020
5. Vashist SK. In vitro diagnostic assays for COVID-19: Recent advances and emerging trends. *Diagnostics* 2020;10(4):202. DOI: 10.3390/diagnostics10040202
6. Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, Kelly M, Becker M, Slater D, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol* 2020;5(52):1-13. DOI: 10.1126/sciimmunol.abe0367
7. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021;371(6529). DOI: 10.1126/science.abf4063
8. To KKW, Tsang OTY, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2020;20(5):565-74. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1). DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1

9. 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. DOI: 10.1136/bmj.m2516
10. FAQs on Testing for SARS-CoV-2 | FDA [Internet]. [cited 2021 Feb 23]. Available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/faqs-testing-sars-cov-2#nolonger>
11. Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet* 2020;396(10250):535-44. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31483-5
12. IDSA COVID-19 Antibody Testing Primer.
13. Mattiuzzo G, Bentley EM, Hassall M, Routley S. Establishment of the WHO International Standard and Reference Panel for anti-SARS-CoV-2 antibody. 2020;(December):9-10. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/WHO-BS-2020.2403>
14. Beckman Coulter. Access SARS-CoV-2 IgG [Package insert]. Kraemer Blvd. Brea, CA; 2020.
15. Snibe. MAGLUMI 2019-nCoV IgG [Package insert]. Eifffestrasse, Hamburg, GE.; 2020.
16. Menarini Diagnostics. TGS COVID-19 IgG [Package insert]. Corso Vittorio Emanuele II, Milano, IT; 2020.
17. Roche Diagnostics. Elecsys Anti-SARS-CoV-2 [Package insert]. Sandhofer Strasse, Mannheim, GE; 2020.
18. DiaSorin. LIAISON SARS-CoV-2 S1/S2 IgG [Package insert]. Via Crecentino, Saluggia, IT; 2020.
19. Lippi G, Salvagno GL, Pegoraro M, Militello V, Caloi C, Peretti A, et al. Assessment of immune response to SARS-CoV-2 with fully automated MAGLUMI 2019-nCoV IgG and IgM chemiluminescence immunoassays. *Clin Chem Lab Med* 2020;58(7):1156-9. DOI: 10.1515/cclm-2020-0473

20. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline. 3rd ed. Wayne, PA, USA; 2013.
21. Hörber S, Soldo J, Relker L, Jürgens S, Guther J, Peter S, et al. Evaluation of three fully-automated SARS-CoV-2 antibody assays. Clin Chem Lab Med 2020;58(12):2113-20. DOI: 10.1515/cclm-2020-0975
22. Huyghe E, Jansens H, Matheeussen V, Hoffbauer I, Goossens H, Peeters B. Performance of three automated SARS-CoV-2 antibody assays and relevance of orthogonal testing algorithms. Clin Chem Lab Med 2021;59(2):411-9. DOI: 10.1515/cclm-2020-1378
23. Tré-Hardy M, Wilmet A, Beukinga I, Dogné JM, Douxfils J, Blairon L. Validation of a chemiluminescent assay for specific SARS-CoV-2 antibody. Clin Chem Lab Med 2020;58(8):1357-64. DOI: 10.1515/cclm-2020-0594
24. Kohmer N, Westhaus S, Rühl C, Ciesek S, Rabenau HF. Brief clinical evaluation of six high-throughput SARS-CoV-2 IgG antibody assays. J Clin Virol 2020;129. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104480

Tabla I. Información comercial de los métodos utilizados para la comparación de los anticuerpos anti-SARS-CoV-2

Test	Ensayo	Antígeno SARS-CoV-2 (recombinante)	Empresa diagnóstica	Analizador	Interpretación de resultados
A	2019-nCoV IgG Automatizado CLIA	Proteína N y S	Vitro Master Diagnostica®/ Snibe Diagnostics®	MAGLUMI® 800	> 1 UA positivo < 1 UA negativo
B	TGS COVID-19 IgG Automatizado CLIA	Proteína N y S1	Menarini Diagnostics®	Zenit RA®	> 10 UA positivo < 10 UA negativo
C	Access SARS-CoV-2 IgG Automatizado CLIA	Proteína S1	Beckman Coulter®	UniCel DxI 800 Access®	> 1 UA positivo 0,8-1,0 UA indeterminado < 1 UA negativo
D	SARS-CoV-2 S1/S2 IgG Automatizado CLIA	Proteína S1 y S2	DiaSorin®	Liaison® XL	> 15 UA positivo 12-15 UA indeterminado < 15 UA negativo

E	Elecsys Anti-SARS-CoV-2 Automatizado ECLIA	Proteína N	Roche Diagnostics®	Cobas e411®	> 1 UA positivo < 1 UA negativo
---	--	------------	--------------------	-------------	------------------------------------

CLIA: inmunoensayo de quimioluminiscencia, ECLIA: inmunoensayo de electroquimioluminiscencia.

Tabla II. Ecuaciones de regresión Passing-Bablock con un intervalo de confianza del 95 %

Test		B	C	D
A	Pendiente	15,333 (12,484-19,961)	0.661 (0,539-0,914)	7,000 (5,239-78,251)
	Ordenada a origen	0,593 (0,302-1,051)	0,008 (0,002-0,015)	3,660 (3,635-3,695)
B	Pendiente		0,075 (0,058-0,089)	0,799 (0,684-0,862)
	Ordenada a origen		-0,055 (-0,103-0,028)	2,810 (2,602-3,226)
C	Pendiente			7,958 (6,846-9,128)
	Ordenada a origen			3,641 (3,617-3,663)

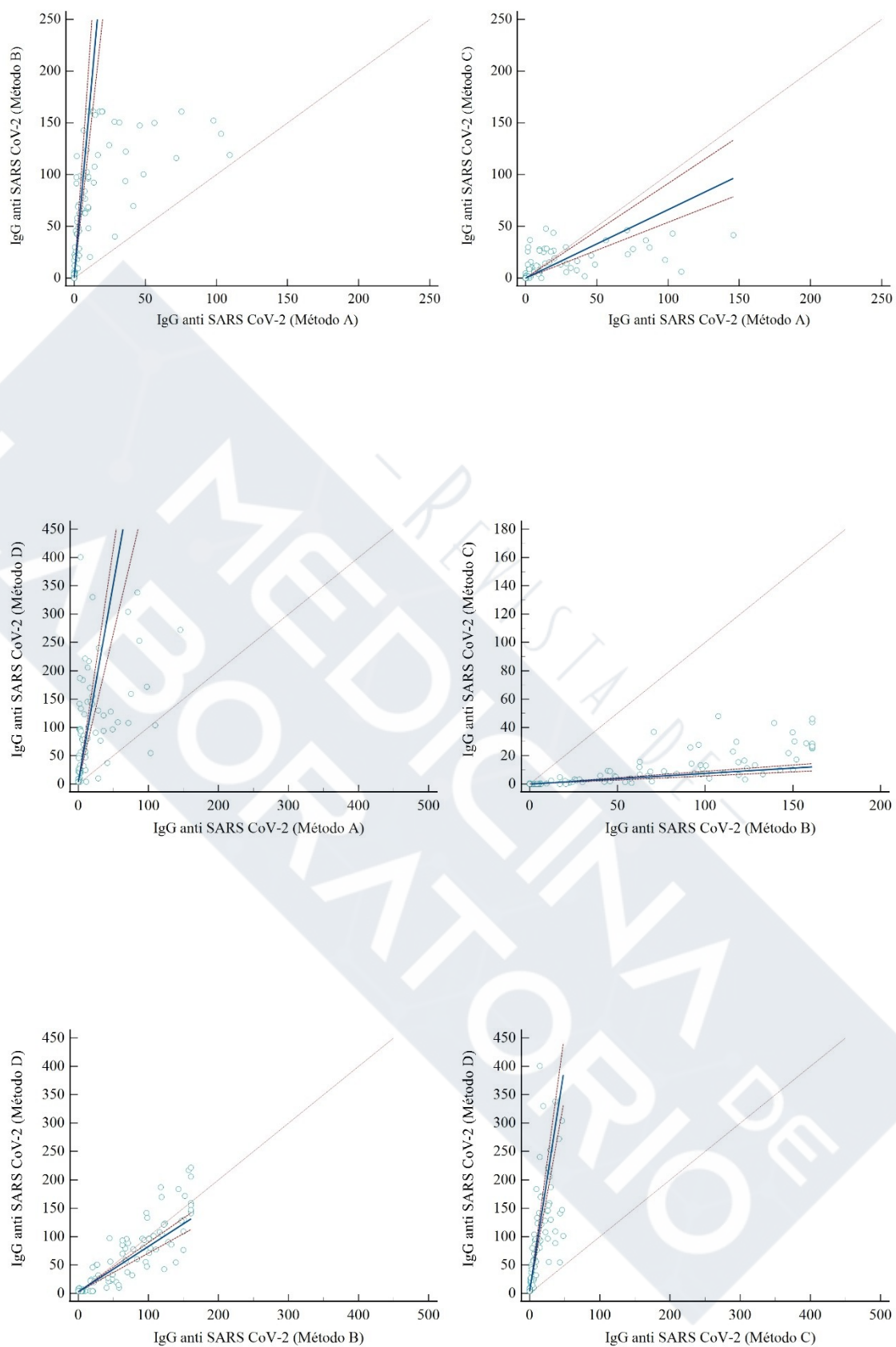


Fig. 1. Regresión de Passing-Bablok con la recta de regresión, el intervalo de confianza al 95 % y en línea discontinua la recta de igualdad $x = y$.

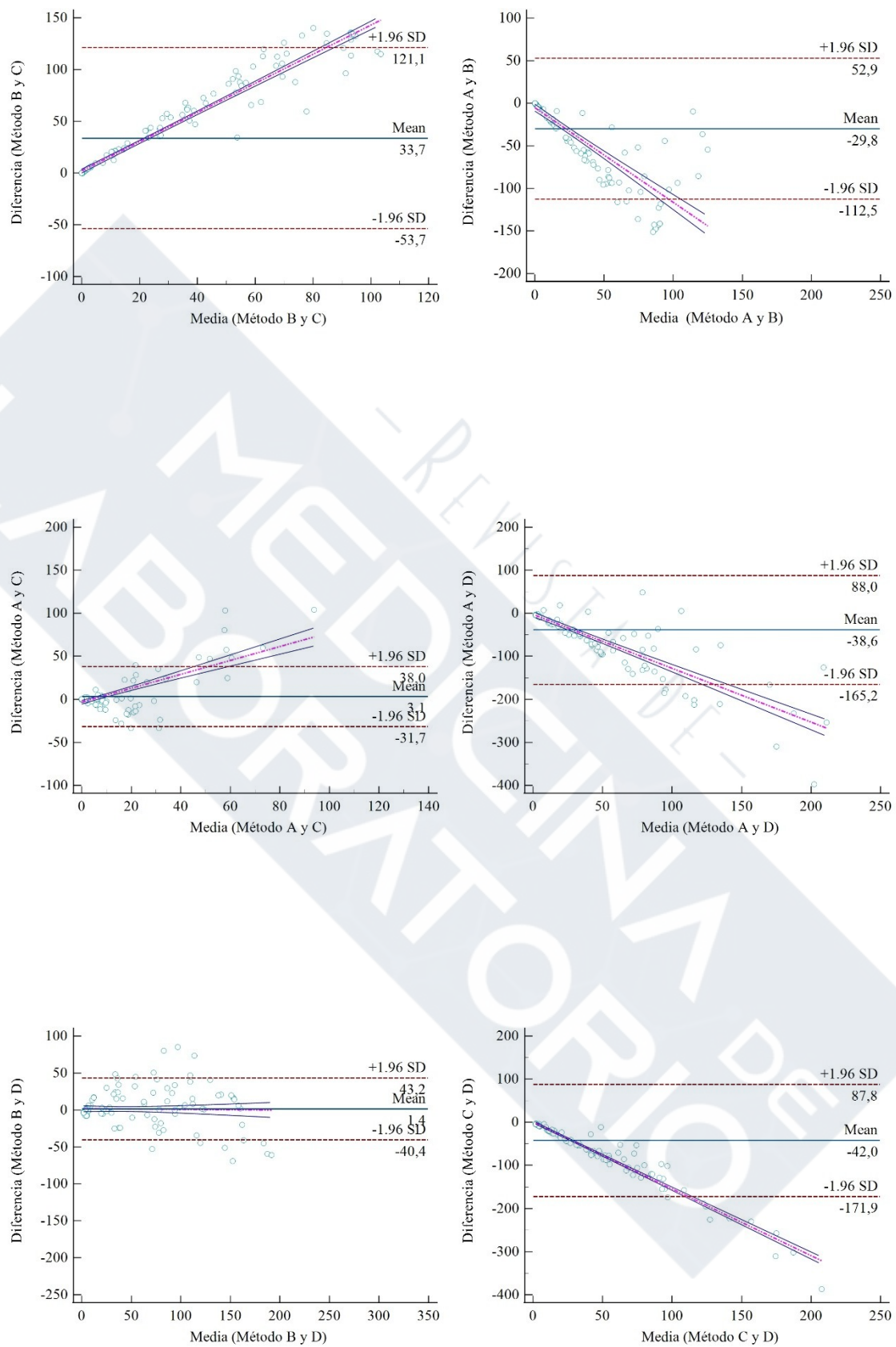


Fig. 2. Método Bland-Altman. Gráficos de Bland-Altman de la diferencia entre la medición de los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2

frente a la media (mean: media; SD: *standard deviation* [desviación estándar]).

Tabla III. Resultados de los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 para los diferentes test

Test	Resultados negativos	Resultados positivos	Resultados indeterminados
A	100 (56,8 %)	75 (42,6 %)	1 (0,57 %)
B	95 (54 %)	75 (46 %)	
C	101 (57,4 %)	73 (41,5 %)	2 (1,1 %)
D	102 (58 %)	73 (41,5 %)	1 (0,57 %)
E	97 (55,1 %)	79 (44,9 %)	

Tabla IV. Resultados de los índices de concordancia Kappa (κ) y los resultados del test Chi cuadrado (χ^2) con un intervalo de confianza del 95 %

Test		B	C	D	E
A	κ	0,91 (0,85-0,97)	0,88 (0,81-0,95)	0,87 (0,80-0,94)	0,88 (0,81-0,94)
	χ^2	144,97 p < 0,0001	136,70 p < 0,0001	133,08 p < 0,0001	137,24 p < 0,0001

B	κ		0,93 (0,88-0,98)	0,92 (0,86-0,98)	0,98 (0,85-0,97)
	χ^2		152,41 $p < 0,0001$	148,91 $p < 0,0001$	167,16 $p < 0,0001$
C	κ			0,94 (0,89-0,99)	0,95 (0,91-0,99)
	χ^2			155,25 $p < 0,0001$	159,26 $p < 0,0001$
D	κ				0,94 (0,89-0,99)
	χ^2				155,89 $p < 0,0001$

Tabla V. Resultados de las muestras con resultados discrepantes para los test estudiados

Test	A (UA)	B (UA)	C (UA)	D(UA)	E(UA)
Antígeno SARS-CoV-2 (recombinante)	S/N	S1/N	S1	S1/S2	N
1	0,94 (Ind)	26,68 (Pos)	2,75 (Pos)	50 (Pos)	25,01 (Pos)
2	11,21 (Pos)	20,59 (Pos)	0,06 (Neg)	3,80 (Neg)	0,985 (Neg)
3	3,44 (Pos)	22,07 (Pos)	0,94 (Ind)	19,10 (Pos)	16,36 (Pos)
4	2,63 (Pos)	9,57 (Neg)	0,16 (Neg)	3,80 (Neg)	0,097 (Neg)
5	47,95 (Pos)	17,22 (Pos)	0,03 (Neg)	3,80 (Neg)	0,14 (Neg)

6	0,53 (Neg)	30,06 (Pos)	1,38 (Pos)	26,50 (Pos)	33,08 (Pos)
7	0,76 (Neg)	20,26 (Pos)	2,17 (Pos)	45,60 (Pos)	26,26 (Pos)
8	0,31 (Neg)	12,16 (Pos)	2,33 (Pos)	6,32 (Neg)	3,89 (Pos)
9	0,27 (Neg)	22,5 (Pos)	0,83 (Ind)	21,8 (Pos)	3,80 (Pos)
10	0,11 (Neg)	17,31 (Pos)	4,73 (Pos)	22,20 (Pos)	8,13 (Pos)
11	62,21 (Pos)	57,49 (Pos)	3,96 (Pos)	14,70 (Ind)	2,62 (Pos)
12	28,66 (Pos)	40,15 (Pos)	5,94 (Pos)	9,97 (Neg)	2,08 (Pos)
13	2,00 (Pos)	58,20 (Pos)	0,73 (Neg)	9,70 (Neg)	18,57 (Pos)
14	0,76 (Neg)	20,8 (Pos)	0,32 (Neg)	3,80 (Neg)	18,82 (Pos)

Tabla VI. Resultados de los anticuerpos IgM anti-SARS-CoV-2 y los anticuerpos para el test E

Muestra	2019-nCoV IgM de MAGLUMI® (UA)	Test E (UA)
2	0,35 UA	0,98 UA
5	0,76 UA	0,14 UA
8	4,55 UA	3,98 UA
9	1,51 UA	3,80 UA
10	2,40 UA	8,13 UA
13	1,27 UA	18,57 UA
14	0,92 UA	18,82 UA