



Instrucciones de uso (español)

1 Uso previsto

recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität] es una prueba cualitativa para la detección y determinación de la avidez de anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus-2; coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo y grave) en suero o plasma humano. La prueba sirve como ayuda para evaluar la respuesta inmunitaria humoral de adaptación, provocada por la infección, la vacunación o ambas. Se puede pedir por separado el reactivo de avidez para determinar la avidez de los anticuerpos IgG. El personal cualificado puede llevar a cabo, de forma manual o automática, la prueba recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität] en un laboratorio adecuado.

2 Campo de aplicación

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia *Coronaviridae* y es el agente etiológico de la pandemia de COVID-19. Los coronavirus del SARS se propagan principalmente por medio de gotitas y aerosoles en el aire que respiramos a través de la transmisión de una persona a otra. Los síntomas pueden variar desde fiebre, tos y dificultad para respirar, hasta neumonía y síndrome de dificultad respiratoria aguda, y finalmente la muerte en las personas que padecen alguna comorbilidad. Actualmente se han aprobado varias vacunas contra el SARS-CoV-2.

recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität] es un inmunoanálisis en línea. A diferencia de los ELISA, el principio de la prueba permite identificar anticuerpos específicos contra los antígenos individuales de los diferentes coronavirus en la misma prueba, alineando los antígenos individuales por separado. La prueba utiliza los siguientes antígenos producidos de forma recombinante del SARS-CoV-2: nucleocápside (NP), RBD (dominio de unión al receptor de la proteína espicular) y S1 (subunidad S1 de la proteína espicular). Además, se detectan los anticuerpos contra los coronavirus humanos estacionales (HCoV: 229E, NL63, OC43, HKU1) mediante antígenos de nucleocápside (NP) apropiados.

Por lo general, se pueden detectar anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2, a más tardar, 3 semanas después de la infección. La respuesta inmunitaria correspondiente es muy individual y se pueden observar descensos de los valores al cabo de unos pocos meses. También se pueden detectar anticuerpos IgG específicos del antígeno después de la vacunación, aunque la duración de la detección sigue siendo objeto de estudios actuales.

La maduración de la avidez de la IgG tras la infección por el SARS-CoV-2 suele ser incompleta y difiere muy claramente a este respecto de la maduración de la avidez tras la infección por otros virus. Por otro lado, se puede lograr una alta avidez de la IgG contra la proteína espicular y su dominio de unión al receptor (RBD) mediante inmunizaciones múltiples.

La prueba sirve como ayuda para evaluar la respuesta inmunitaria humoral adaptativa. Puede contribuir al conocimiento de la epidemiología del virus y de la inmunidad después de la infección o la vacunación, y puede respaldar el diagnóstico de la enfermedad de COVID-19. Sin embargo, en las infecciones agudas, la detección directa, p.ej., mediante RT-PCR, es decisiva.

recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität] se puede usar como prueba de confirmación para aclarar resultados de detección poco claros; también es posible el uso como prueba de detección.

3 Principio de la prueba

Los antígenos recombinantes altamente purificados (NP, RBD y S1 en el caso del SARS-CoV-2 y NP en el caso de 229E, NL63, OC43, HKU1) se fijan en tiras reactivas de membrana de nitrocelulosa.

- Las tiras de prueba se incuban con las muestras diluidas de suero o plasma y, entonces, se depositan los anticuerpos específicos en las tiras de prueba sobre los antígenos de los patógenos.
- A continuación, se eliminan los anticuerpos no ligados mediante lavado.
- En el segundo paso, se incuban las tiras con anticuerpos de inmunoglobulina (IgG) antihumana que están acoplados a peroxidasa de rábano picante.
- A continuación, se eliminan por lavado los anticuerpos conjugados no ligados.
- Se comprueban los anticuerpos ligados específicamente con una reacción colorimétrica catalizada mediante la peroxidasa. Si ha

tenido lugar una reacción de anticuerpos antígenos, aparecerá una banda oscura en el lugar correspondiente sobre la tira.

En el extremo superior de la tira de análisis hay bandas de control:

- El control de reacción debajo del número de la tira debe mostrar una reacción en cada muestra de suero o plasma.
- Se usa el control conjugado (IgG) para controlar el tipo de conjugado y de tira utilizada (específica de la clase de Ig).
- «Control de corte»: la intensidad de esta banda permite evaluar la reactividad de las bandas de antígeno individuales (consulte el capítulo 9.2, Evaluación).

4 Reactivos

4.1 Contenido del envase

Los reactivos de un envase alcanzan para 20 comprobaciones. Cada juego de reactivos contiene:

WASHEUF A 10 X	100 ml de tampón de lavado A (concentrado 10 veces) Contiene tampón de fosfato, NaCl, KCl, detergente, agente conservante: MIT (0,1%) y Oxyprion (0,2%)
SUBS TMB	40 ml de sustrato cromógeno de tetrametilbencidina (TMB, listo para su uso)
MILKPOW	5 g de leche desnatada en polvo
INSTRU	1 instrucciones de uso
EVALFORM	1 hoja de evaluación
TESTSTR	2 tubos de ensayo, cada uno con 10 tiras de análisis numeradas
CONJ IgG	500 µl de conjugado IgG antihumano (concentrado 100 veces, tapa verde) De conejo, contiene NaN ₃ (< 0,1 %), MIT (< 0,1 %) y cloroacetamida (< 0,1 %)

Determinación de la avidez

Para la determinación de la avidez de los anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2, se dispone del reactivo de avidez, previo pedido, con las correspondientes instrucciones de uso.

AVIDI Ref. 11010	1 reactivo de avidez (material sólido, 25 g) para 60 ml de solución lista para usar
----------------------------	--

4.2 Otros reactivos, materiales y aparatos necesarios

- Bandejas de incubación (pedir a MIKROGEN en caso necesario)
- Agua desionizada (de alta calidad)
- Pinzas de plástico
- Sacudidor horizontal
- Mezclador vorticial u otros rotadores
- Bomba de vacío o aparato similar
- Probeta graduada de 50 ml y 1000 ml
- Micropipetas con puntas desechables, 20 µl y 1000 µl
- Pipeta o dosificador de 10 ml
- Temporizador
- Toallitas de papel absorbente
- Guantes protectores desechables
- Contenedor para desechos de sustancias biológicas peligrosas

5 Durabilidad y manipulación

- Conserve los reactivos antes y después de su uso, a una temperatura entre +2 °C y +8 °C, **no congelados**.
- Antes de empezar el análisis, se deben templar todos los componentes por lo menos durante 30 minutos a la temperatura ambiental (entre +18 °C y +25 °C). El análisis se lleva a cabo a la temperatura ambiental.
- Los tampones de lavado, la leche en polvo, los tampones diluyentes, los conjugados y la TMB pueden intercambiarse entre los diferentes sistemas de análisis *recomLine* y/o *recomBlot*, siempre que estos componentes lleven el mismo símbolo. Para este efecto es necesario observar la durabilidad de estos componentes.
- Antes de su uso, es necesario mezclar bien los reactivos concentrados y los sueros de pacientes. Se debe evitar la formación de espuma.
- Abra los tubos de ensayo con las tiras de análisis justo antes de su uso, para evitar la condensación de agua. Las tiras no

utilizadas permanecen en el tubo de ensayo y continúan conservándose entre +2 °C y +8 °C (vuelva a cerrar bien el tubo; ¡las tiras de análisis no deben humedecerse antes de iniciar el análisis!).

- Las tiras están identificadas mediante un número consecutivo y la abreviación del análisis.
- Los envases llevan una fecha de caducidad. A partir de esta fecha, rechazaremos todo reclamo por garantía de calidad.
- Se deben proteger los componentes del kit contra la luz solar directa, durante toda la ejecución del análisis. Especialmente la solución de sustrato (TMB) es sensible a la luz.
- Solo el personal profesional autorizado debe llevar a cabo exclusivamente el análisis.
- Si el usuario ha llevado a cabo modificaciones considerables del producto o bien de la prescripción de uso, es posible que la aplicación esté fuera del propósito especificado por MIKROGEN.
- Una contaminación cruzada de las muestras de los pacientes o de los conjugados puede llevar a resultados incorrectos del análisis. Añada cuidadosamente las muestras de los pacientes, las tiras de prueba y la solución de conjugado. Tenga cuidado de evitar que las soluciones de incubación se depositen en otros pocillos. Elimine cuidadosamente los líquidos.
- Las tiras deben estar completamente mojadas y sumergidas durante todo el proceso.
- Es posible la automatización; MIKROGEN facilita, previa consulta, informaciones más detalladas al respecto.

6 Advertencias y medidas de seguridad

- Utilice el producto exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
- Todos los productos hemáticos se deben manipular como si fueran potencialmente infecciosos.
- Las tiras de análisis se elaboraron con lisados inactivados de célula completa o con antígenos bacterianos, víricos o parasitarios elaborados de forma recombinante.
- Una vez añadido el material del paciente o el material de control, la tira debe considerarse como si fuera potencialmente infecciosa y debe manipularse como tal.
- Durante todo el procedimiento de análisis es necesario usar guantes desechables adecuados.
- Los reactivos contienen medios antimicrobianos y agentes conservantes como azida sódica (NaN₃), MIT (metilisotiazolinona), Oxyprylon y cloroacetamida. Debe evitarse el contacto con la piel o las mucosas. La azida sódica (NaN₃) puede producir azidas explosivas, si entra en contacto con metales pesados tales como el cobre y el plomo.
- Es necesario recoger todos los líquidos absorbidos. Para este efecto, todos los contenedores deben tener desinfectantes adecuados para desactivar los agentes patógenos para el ser humano o deben esterilizarse en autoclave. Todos los reactivos y materiales que entran en contacto con las muestras potencialmente infecciosas deben tratarse con desinfectantes adecuados o deben eliminarse de acuerdo con las normas de higiene vigentes en el lugar de aplicación. Es necesario observar las concentraciones y los tiempos de incubación especificados por el fabricante.
- Utilice solo una vez las bandejas de incubación.
- Manipule cuidadosamente las tiras con una pinza de plástico.
- Nunca reemplace nuestros reactivos por reactivos de otros fabricantes ni los mezcle con ellos.
- Lea detenidamente y observe las instrucciones de uso, antes de empezar el análisis. Si no se observa el protocolo indicado en las instrucciones de uso, se pueden obtener resultados incorrectos.

7 Obtención de muestras y preparación

7.1 Material de muestra

El material de muestra puede ser suero o plasma (EDTA, citrato, heparina, CPD); después de la obtención de la muestra, se debe separar el material lo más rápido posible del coágulo sanguíneo, para evitar una hemólisis. Es imprescindible evitar la contaminación microbiana de la muestra. Se deben eliminar de la muestra los materiales insolubles antes de empezar la incubación. Se recomienda no utilizar muestras ictericas, hemolíticas, lipémicas o turbias.

¡Atención!

Si los análisis no tienen lugar inmediatamente, se puede conservar el material de muestra hasta 2 semanas, a una temperatura entre +2 °C y +8 °C. Es posible conservar las muestras durante más tiempo a una temperatura de -20 °C o más baja. No es recomendable congelar y descongelar repetidas veces las muestras; de lo contrario, existe el peligro de obtener

unos resultados incorrectos. Evite más de 3 ciclos de congelación y descongelación de las muestras.

7.2 Elaboración de las soluciones

7.2.1 Elaboración del tampón de lavado A listo para su uso

Este tampón se necesita para diluir el suero y el conjugado, así como para los pasos de lavado.

Antes de la dilución, se debe determinar el volumen del tampón de lavado A, requerido para la cantidad correspondiente de los análisis que se llevarán a cabo.

La leche desnatada en polvo se diluye previamente en concentrado de tampón de lavado A y a esta mezcla se le añade luego agua desionizada hasta llegar al volumen final (dilución 1 + 9). Se usan las fórmulas siguientes en el cálculo de los volúmenes requeridos para una cantidad definida de tiras de análisis (no está considerado el volumen muerto específico de cada aparato):

Reactivo	Fórmula	Ejemplo: 5 tiras
Leche desnatada en polvo [g]	= cantidad de tiras x 0,1	0,5 g
Concentrado de tampón de lavado A [ml]	= cantidad de tiras x 2	10 ml
Agua desionizada [ml]	= cantidad de tiras x 18	90 ml
Tampón de lavado A listo para su uso [ml]	= cantidad de tiras x 20	100 ml

El tampón de lavado A listo para su uso puede conservarse cuatro semanas a una temperatura entre +2 °C y +8 °C. El tampón de lavado A listo para su uso es inodoro y ligeramente turbio.

7.2.2 Elaboración de las soluciones de conjugado

La solución de conjugado debe elaborarse poco antes de su uso, ya que no es posible conservar una solución de conjugado lista para su uso.

Una parte del concentrado de conjugado se diluye en 100 partes de tampón de lavado A listo para su uso (dilución 1 + 100).

Las fórmulas siguientes se usan en el cálculo de los volúmenes requeridos para una cantidad definida de tiras de análisis:

Reactivo	Fórmula	Ejemplo: 5 tiras
Concentrado de conjugado [µl]	= cantidad de tiras x 20	100 µl
Tampón de lavado A listo para su uso [ml]	= cantidad de tiras x 2	10 ml

Los volúmenes de conjugado se calculan sin el volumen muerto. Dependiendo de la forma de proceder (manualmente o con un aparato), sírvase preparar una solución de conjugado adicional para 1 hasta 3 tiras.

8 Procedimiento de análisis

N.º	Ejecución	Observación
1	Antes de empezar el análisis, se deben templar todos los componentes por lo menos durante 30 minutos, a una temperatura entre 18 °C y 25 °C (temperatura ambiental).	El análisis se lleva a cabo a la temperatura ambiental.
2	Preparación de las tiras Coloque las tiras en 2 ml de tampón de lavado A listo para su uso (véase 7.2.1).	No tome las tiras con las manos descubiertas; utilice las pinzas. El número de la tira debe quedar hacia arriba. Por cada tira se requiere un pocillo en una de las bandejas de incubación (véase 4.2). Las tiras deben estar completamente sumergidas.
3	Incubación de la muestra a) Se pipetea 20 µl de una muestra no diluida (suero o plasma humano) se pipetea en cada pocillo de incubación de las tiras de análisis (dilución 1 + 100). b) Incuba durante 1 hora , sacudiendo ligeramente.	Pipetear la prueba en un extremo de la tira sumergida en el tampón de lavado A y mezclarla lo más rápido posible sacudiendo cuidadosamente el platillo de incubación. Cubra la bandeja de incubación con la tapa de plástico y colóquela en el sacudidor.
4	Lavado a) Ahora, retire cuidadosamente la tapa de plástico de las bandejas de incubación. b) Aspire cuidadosamente la solución de suero de cada pocillo.	Lleve a cabo los pasos de lavado 8.4a hasta 8.4c; en total, tres veces. Se debe evitar la contaminación cruzada. Si el proceso se lleva a cabo con un aparato, es necesario observar las instrucciones del fabricante del aparato.

c)	Pipetea en cada pocillo 2 ml de tampón de lavado A (véase 7.2.1) listo para su uso, lave durante 5 minutos, sacudiendo ligeramente, y luego, aspire el tampón de lavado A.	
5	Incubación con conjugado Añada 2 ml de solución de conjugado lista para su uso (véase 7.2.2) e incube sacudiendo ligeramente durante 45 minutos .	Cubra la bandeja de incubación con la tapa de plástico y colóquela en el sacudidor.
6	Lavado Véase bajo 8.4	Lleve a cabo los pasos de lavado en total tres veces (véase 8.4a - 8.4c).
7	Reacción del sustrato Añada 1,5 ml de solución de sustrato e incube durante 8 minutos , sacudiendo ligeramente.	
8	Interrumpa la reacción Retire la solución de sustrato. Lave por lo menos tres veces, brevemente , con agua desionizada .	
9	Seque las tiras Secar las tiras antes de la evaluación 2 horas colocándolas entre 2 hojas de papel absorbente.	Extraiga cuidadosamente del agua las tiras con una pinza de plástico. Guarde las tiras protegidas contra la luz.
¡Atención! Las soluciones de incubación no deben entrar en contacto con los otros pocillos. Evite salpicaduras, especialmente al abrir y cerrar la tapa.		

9 Resultados

¡Atención!

No utilice la evaluación automatizada sin observar las instrucciones para la evaluación indicadas más abajo.

9.1 Evaluación: control de calidad

La evaluación del análisis puede tener lugar, si se cumplen los siguientes criterios:

1. La banda de control de reacción (línea superior) está claramente coloreada, se reconoce una banda oscura.
2. Clase de anticuerpo (segunda banda): la banda de control de conjugado IgG debe tener una coloración evidente.
3. Control Cutoff (tercera banda): debe mostrar una coloración débil pero visible.

9.2 Evaluación

La evaluación de las tiras de análisis puede tener lugar visualmente o mediante computadora, utilizando el software *recomScan* para la evaluación de tiras de análisis. El software *recomScan* se utiliza para facilitar la evaluación de las tiras de análisis. Para informaciones más detalladas y más instrucciones respecto a la evaluación asistida por computadora, consulte a MIKROGEN. Las instrucciones a continuación se refieren a la evaluación visual.

9.2.1 Evaluación de la intensidad de las bandas

1. Sírvase anotar en la hoja de evaluación adjunta la fecha, el número de lote y el número de tubo, así como la clase detectada de anticuerpo.
2. Anote también en la hoja de evaluación los números de identificación de las muestras.
3. A continuación, pegue con una barrita adhesiva las tiras de análisis correspondientes en los lugares respectivos de la hoja de evaluación. Con este fin, coloque las tiras de análisis con la banda de control de reacción orientadas respecto a la línea de marcas. A continuación, pegue las tiras de análisis a la izquierda de la línea de marcas con una cinta adhesiva transparente (¡no pegue sobre la banda de control de reacción!). Si se pega toda la superficie de las tiras de análisis con la barrita o cinta adhesiva, es posible que se altere la coloración.
4. Identifique ahora las bandas de las tiras de análisis desarrolladas mediante la tira de control impresa en la hoja de evaluación y anótelas en la hoja de evaluación. Evalúe la intensidad de las bandas visualizadas, por separado para cada una de las clases de inmunoglobulina, mediante la tabla 1.

Tabla 1. Evaluación de la intensidad de las bandas referida a la banda de corte (Cutoff).

Intensidad de la coloración de las bandas	Evaluación
No hay reacción	-
Intensidad muy débil (menor que la banda Cutoff)	+/-
Intensidad débil (igual que la banda Cutoff)	+
Intensidad fuerte (mayor que la banda Cutoff)	++
Intensidad muy fuerte	+++

Evaluación de la avidéz: véase el capítulo 9.4.

9.3 Esquema de interpretación

Tabla 2. Interpretación de la prueba de *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]*.

Interpretación de la prueba	Reactividad de los antígenos
SARS-CoV-2 IgG positiva	Una o más bandas de antígenos específicos de SARS-CoV-2 (NP, RBD, S1 o combinaciones de estos) son positivas, es decir, reaccionan con la misma intensidad (+) o una intensidad más fuerte que la banda de corte (Cutoff) (independientemente de la reactividad de los antígenos del HCoV).
SARS-CoV-2 IgG negativa	Todas las bandas de antígenos específicos del SARS-CoV-2 (NP, RBD y S1) son negativas, es decir, no muestran bandas (-) o las bandas tienen una intensidad más débil (+/-) que la banda de corte (Cutoff) (independientemente de la reactividad de los antígenos del HCoV).

La detección de anticuerpos puede indicar una infección pasada o reciente por SARS-CoV-2. Para la detección de una infección aguda, la identificación directa del patógeno, por ejemplo, mediante RT-PCR, se considera la prueba de referencia. Después de la infección, por lo general, se pueden detectar anticuerpos IgG contra los tres antígenos usados (NP, RBD y S1).

También se pueden detectar anticuerpos IgG después de la vacunación. En función de la vacuna usada, a veces es posible la diferenciación a la infección. Puesto que la mayoría de las vacunas aprobadas (p. ej., Comirnaty de BioNTech/Pfizer) tienen como objetivo la proteína espicular, en las personas no expuestas previamente a la infección, se inducen solo anticuerpos contra RBD y S1.

Además de SARS-CoV-2, se registran las reactividades contra los coronavirus humanos estacionales (HCoV: 229E, NL63, OC43, HKU1). Aquí se puede esperar una seroprevalencia total del 70 al 90% (véase también la tabla 6). Las reactividades registradas de los HCoV no permiten diferenciar ni extraer conclusiones sobre el estado inmunológico con respecto a los correspondientes coronavirus o sobre la reactividad cruzada con el SARS-CoV-2.

9.4 Determinación de la avidéz

Al procesar dos lotes de IgG en paralelo, uno de los cuales se trata con el reactivo de avidéz, es posible identificar si los anticuerpos IgG tienen una avidéz baja, intermedia o alta. Se pueden lavar los anticuerpos de avidéz baja del sitio de unión en la tira con un reactivo de avidéz, mientras que los anticuerpos de avidéz alta no se pueden separar.

9.4.1 Evaluación de la avidéz en el *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]*

- Efectúe una determinación de avidéz solo si el resultado global de IgG es positivo.
- Al determinar la avidéz no se tienen en cuenta las bandas en la tira de IgG que son menos reactivas que el valor de corte.
- Compare las intensidades de las bandas correspondientes en las dos tiras reactivas (tira de IgG y tira de avidéz) incubadas con la misma muestra del paciente. Observe si las intensidades han cambiado.
- Una disminución de la intensidad de las bandas del SARS-CoV-2 (NP, RBD y S1) de más del 60% (índice de avidéz $\leq 0,4$) se define como avidéz baja; una disminución entre el 40 y el 60%, como intermedia (índice de avidéz $> 0,4$ a $< 0,6$).
- Con una avidéz alta, la intensidad de la banda de la tira de avidéz disminuye menos del 40% (índice de avidéz $\geq 0,6$), y los anticuerpos IgG se definen como de avidéz elevada.
- En general, la maduración de la avidéz después de las infecciones por el SARS-CoV-2 es muy variable y, a menudo, incompleta. Esto contrasta con la posibilidad de una maduración completa de la avidéz después de una vacunación óptima.

9.4.2 Importancia de la determinación de la avidéz

Se han desarrollado las siguientes observaciones sobre la avidéz de los anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 y pueden contribuir a una mejor valoración de la respuesta inmunitaria:

Avidéz tras la infección (véanse las tablas 7 y 8, entre otras)

- En los pacientes con infección sintomática por el SARS-CoV-2 que no requieren hospitalización, normalmente solo se desarrollan IgG (NP, RBD, S1) de avidéz baja o intermedia en los 2 meses siguientes. En los pacientes hospitalizados, se produce IgG con una avidéz alta en alrededor del 12% de los pacientes dentro de este período.
- A diferencia de muchas otras infecciones virales, no se puede deducir una indicación fiable del momento probable de la infección a partir de una única determinación de la avidéz. Se puede usar una determinación adicional en un segundo momento para determinar si ha habido un aumento adicional de la avidéz. Por tanto, la determinación de la avidéz no es adecuada para establecer el momento de la infección.

Avidéz tras la vacunación (véase la tabla 9, entre otras)

- Tras la primera vacunación (vacunas de vector o vacunas de ARNm), se suele inducir casi exclusivamente IgG de avidéz baja frente a RBD y S1. Después de la segunda vacunación, se obtiene una IgG de avidéz alta en el 55 al 75% de los vacunados.
- Después de la tercera vacunación, normalmente hay un mayor aumento de la avidéz. Esto es particularmente importante en el caso de las personas que aún no han logrado una gran avidéz después de dos dosis de vacuna.
- De acuerdo con los conocimientos actuales, pueden usarse las vacunas de vector o las vacunas de ARNm no solo de forma homóloga sino también heteróloga, es decir, en combinación, para lograr una avidéz alta.
- Una infección previa por SARS-CoV-2 lleva inicialmente solo a una avidéz baja o intermedia. Sin embargo, se puede usar una única vacunación posterior para lograr una avidéz alta de la IgG contra RBD y S1 de manera muy eficaz y rápida, mientras que la avidéz de la IgG contra NP no cambia.

10 Límites del método, restricciones

- El *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]* permite una mejor evaluación de la respuesta inmunitaria humoral después de la infección, la vacunación o ambas, con la detección y la determinación de la avidéz de anticuerpos IgG específicos del SARS-CoV-2. Sin embargo, actualmente no existen valores de referencia oficiales reconocidos internacionalmente que permitan definir la presencia o la duración de la protección inmunitaria.
- Los resultados de las pruebas serológicas de *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]* no permiten una afirmación/predicción inmediata de la gravedad de una posible enfermedad. La falta de maduración de la avidéz durante mucho tiempo después de la infección o de la vacunación puede ser una indicación de que la inmunidad protectora podría ser deficiente.
- Se deben ver los resultados de los análisis serológicos siempre en relación con el cuadro clínico. Se deben establecer las consecuencias terapéuticas del diagnóstico serológico en relación con los datos clínicos.
- Si los resultados serológicos no son claros, se recomienda repetir la prueba durante el curso de la infección.
- La detección directa del patógeno mediante RT-PCR se considera el valor de referencia para detectar una infección aguda. La detección de anticuerpos puede confirmar la declaración de la prueba de RT-PCR, pero también puede indicar una infección más o menos reciente en el caso de un resultado negativo de la prueba de RT-PCR.
- Un resultado negativo no descarta la posibilidad de una infección por SARS-CoV-2, ya que es posible que los anticuerpos aún no estén presentes o que estén presentes en concentraciones indetectables, especialmente en una fase temprana de la infección. Si existe la sospecha clínica de infección por el SARS-CoV-2 y los resultados serológicos son negativos, se debe efectuar una RT-PCR (p. ej., con pruebas de la línea de productos *ampliCube* de MIKROGEN), o bien se debe obtener otra muestra y analizarla después de 2 semanas.
- Actualmente no se puede descartar que la infección con variantes de escape inmunitario del SARS-CoV-2 ocasione una menor sensibilidad de la detección de anticuerpos.
- Debido al alto grado de relación entre los coronavirus del SARS (SARS-CoV y SARS-CoV-2), es posible una reacción cruzada con

anticuerpos contra el SARS-CoV. No se pueden descartar por completo las reacciones cruzadas con otros coronavirus patógenos humanos (HCoV), pero no se pudieron determinar en la evaluación de *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]*.

- En raras ocasiones pueden producirse reacciones cruzadas individuales con muestras de mujeres embarazadas, muestras con infección aguda por el VEB, muestras positivas para el factor reumatoide y muestras lipémicas. Véase también la tabla 5.
- **Tiras de prueba oscuras:** algunas muestras de pacientes pueden producir un color oscuro, sólido o estampado en toda la tira de nitrocelulosa (p. ej., sueros de pacientes con alergia a las proteínas de la leche). La causa está en los diferentes factores propios del suero respectivo del paciente. La evaluación de estas tiras es posible solo con restricciones. Por ejemplo, se deben evaluar como negativas las bandas «inversas» (bandas blancas sobre fondo oscuro). En todo caso, se debe comprobar el suero correspondiente mediante otros métodos serológicos.

11 Características del rendimiento

11.1 Sensibilidad diagnóstica

Para determinar la sensibilidad diagnóstica, se examinaron 54 muestras de personas infectadas por el SARS-CoV-2, confirmadas mediante RT-PCR.

Tabla 3. Sensibilidad diagnóstica de *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]*.

<i>recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]</i>	Días después del comienzo de los síntomas		
	Temprana < 12 días	Intermedia 12 – 23 días	Tardía > 23 días
Positivos	6	20	26
Negativos	1	1	0
Sensibilidad diagnóstica	85,7 %	95,2 %	100 %
	96,3 %		

11.2 Especificidad diagnóstica

Para determinar la especificidad diagnóstica, se examinaron muestras de donantes de sangre alemanes (n = 300), que se tomaron en diferentes momentos antes del comienzo de la pandemia del SARS-CoV-2, así como muestras con posible reacción cruzada (n = 191) o muestras de interferencia (n = 80).

Tabla 4. Especificidad diagnóstica de *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]*.

<i>recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]</i>	Donantes de sangre (n = 300)	Muestras con posible reacción cruzada* (n = 191)	Muestras con posible interferencia** (n = 80)
Positivos	1	4	2
Negativos	299	187	78
Especificidad diagnóstica	99,7 %	97,9 %	97,5 %
	98,8 %		

* Muestras positivas para coronavirus estacional, virus Influenza A/B, VRS, adenovirus, *Mycoplasma pn.*, *Chlamydia pn.*, VEB, CMV, autoanticuerpos, así como de embarazadas.

** Muestras lipémicas, hemolíticas e ictericas, muestras positivas para RF.

11.3 Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la idoneidad del análisis para determinar con precisión el define en presencia de posibles factores de interferencia en la matriz de muestras o bien reacciones cruzadas con anticuerpos que son posiblemente de interferencia.

a) Interferencias. Mediante estudios de control de factores que podrían interferir se ha comprobado que el desempeño de la prueba no resulta afectado por los anticoagulantes (citrató sódico, EDTA, heparina, CPD), la hemólisis, la lipemia o la bilirrubinemia de la muestra.

b) Reacciones cruzadas. En estudios de control, se examinó la posible interferencia de anticuerpos contra otros microorganismos que podrían producir síntomas clínicos parecidos a los de la infección por el SARS-CoV-2 (p. ej., coronavirus estacionales, virus de la gripe A/B, VSR, adenovirus, *Mycoplasma pn.*, *Chlamydia pn.*). Además, se examinaron condiciones que producen una actividad atípica del sistema inmunitario (p. ej., VEB, CMV, autoanticuerpos antinucleares, embarazo, factor reumatoide). Los resultados de las pruebas se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Prueba de reactividad cruzada con *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]*.

Grupo (n = 271)	recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]
	Positivos
Coronavirus estacionales (HCoV) (n = 9)	0
Virus Influenza A (n = 9)	0
Virus influenza B (n = 5)	0
Virus sincicial respiratorio (VSR) (n = 10)	0
Adenovirus (n = 6)	0
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (n = 10)	0
<i>Chlamydia pneumoniae</i> (n = 25)	0
Virus de Epstein Barr (VEB) (n = 31)	2
Citomegalovirus (CMV) (n = 11)	0
Autoanticuerpos AAN positivos (n = 15)	0
Embarazadas (n = 60)	2
Factor reumatoide positivo (n = 50)	1
Muestras hemolíticas (n = 10)	0
Muestras lipémicas (n = 10)	1
Muestras ictericas (n = 10)	0

11.4 Prevalencia

Para determinar la prevalencia de HCoV, se examinaron 300 muestras de donantes de sangre alemanes, que se tomaron en diferentes momentos antes del comienzo de la pandemia del SARS-CoV-2.

Tabla 6. Prevalencia en Alemania antes de la pandemia de SARS-CoV-2 con *recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]*.

Donantes de sangre (n = 300)	recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]
Prevalencia	HCoV (Z29E, NL63, OC43, HKU1) 81,9 %

11.5 Aidez

Para determinar la avidez de los anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2, se examinaron muestras de personas infectadas por el SARS-CoV-2, confirmadas mediante RT-PCR, así como muestras de personas vacunadas.

Tabla 7. Aidez en personas infectadas por el SARS-CoV-2 antes del comienzo de los síntomas.

Infectados por el SARS-CoV-2*	Días después del comienzo de los síntomas					
	0 – 50 días (n = 52)			51 – 100 días (n = 32)		
Aidez**	b	i	a	b	i	a
NP [%]	98,1	-	1,9	87,4	6,3	6,3
RBD [%]	96,4	3,6	-	71,9	21,9	6,2
S1 [%]	96,4	3,6	-	78,1	12,5	9,4

* Sueros de personas positivas para el SARS-CoV-2 mediante RT-PCR.

** Aidez: b = baja, i = intermedia, a = alta.

Tabla 8. Aidez en personas infectadas por el SARS-CoV-2 por la gravedad de la enfermedad.

Infectados por SARS-CoV-2*	Gravedad de la enfermedad								
	Evolución sin hospitalización (n = 14)			Evolución con estancia hospitalaria en planta normal (n = 24)			Evolución con estancia hospitalaria en unidad de cuidados intensivos (n = 11)		
Aidez**	b	i	a	b	i	a	b	i	a
NP [%]	100	-	-	91,6	4,2	4,2	90,9	9,1	-
RBD [%]	92,9	7,1	-	70,8	16,7	12,5	81,8	-	18,2
S1 [%]	100	-	-	83,3	12,5	4,2	72,7	9,1	18,2

* Sueros de personas positivas para el SARS-CoV-2 mediante RT-PCR.

** Aidez: b = baja, i = intermedia, a = alta.

Tabla 9. Aidez en personas vacunadas contra el SARS-CoV-2.

Vacunados contra el SARS-CoV-2*	Tiempo después de la vacunación								
	1.ª dosis (n = 28)			2.ª dosis (n = 40)			3.ª dosis (n = 20)		
Aidez**	b	i	a	b	i	a	b	i	a
NP [%]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RBD [%]	96,4	3,6	-	4,2	12,5	83,3	-	-	100
S1 [%]	96,4	3,6	-	4,2	12,5	83,3	-	-	100

* Sueros de personas después de la vacunación contra el SARS-CoV-2, que se tomaron de 10 a 50 días después de la 1.ª, 2.ª o 3.ª dosis de vacuna. El colectivo incluía los vacunados sin infección previa conocida por el SARS-CoV-2 y se usó la siguiente vacuna: BioNTech/Pfizer Comirnaty®.

** Aidez: b = baja, i = intermedia, a = alta.

12 Bibliografía

- Bauer G. High avidity of vaccine-induced immunoglobulin G (IgG) against SARS-CoV-2: potential relevance for protective humoral immunity. *Exploration of Immunology*, 2022, in press.
- Bauer G, Struck F, Schreiner P, Staschik E, Soutschek E, Motz M. The challenge of avidity determination in SARS-CoV-2 serology. *J Med Virol*. 2021;93:3092–104.
- Struck F, Schreiner P, Staschik E, Wochinz-Richter K, Schulz S, Soutschek E, et al. Vaccination versus infection with SARS-CoV-2: establishment of a high avidity IgG response versus incomplete avidity maturation. *J Med Virol*. 2021;93:6765–77.
- Struck F, Schreiner P, Staschik E, Wochinz-Richter K, Schulz S, Soutschek E, et al. Incomplete IgG avidity maturation after seasonal coronavirus infections. *J Med Virol*. 2021;94:186–96.
- Strömer A, Rose R, Grobe O, Neumann F, Fickenscher H, Lorentz T, et al. Kinetics of nucleocapsid and spike protein-specific immunoglobulin G and of virus-neutralizing antibodies after SARS-CoV-2 infection. *Microorganisms*. 2020;8:1572.
- Neumann F, Rose R, Röpcke J, Grobe O, Lorentz T, Fickenscher H, et al. Development of SARS-CoV-2 specific IgG and virus-neutralizing antibodies after infection with variants of concern or vaccination. *Vaccines (Basel)*. 2021;9:700.
- Moura AD, da Costa HHM, Correa VA, Lima AK, Lindoso JA, De Gaspari E, et al. Serological assessment of COVID-19 patients in Brazil: levels, avidity, and subclasses of IgG against RBD. *Research Square:rs.3.rs-131195/v1* [Preprint]. 2021 [posted 2021 Jan 08] [23 p.]. Se puede consultar en: <https://www.researchsquare.com/article/rs-131195/v1>.
- Pratesi F, Caruso T, Testa D, Tarpanelli T, Gentili A, Gioè D, et al. BNT162b2 mRNA SARS-CoV-2 vaccine elicits high avidity and neutralizing antibodies in healthcare workers. *Vaccines (Basel)*. 2021;9:672.
- Rose R, Neumann F, Grobe O, Lorentz T, Fickenscher H, Krumbholz A. Humoral immune response after different SARS-CoV-2 vaccination regimens. *BMC Medicine* 2022; 20:31. <https://doi.org/10.1186/s12916-021-02231-x>
- Lustig Y, Gonen T, Melzer L, Gilboa M, Indenbaum V, Cohen C, Amit S, Jaber H, Doolman R, Asraf K, Rubin C, Fluss R, Mendelson E, Freedman L, Regev-Yochay G, Kreiss Y. Superior immunogenicity and effectiveness of the 3rd BNT162b2 vaccine dose. *medRxiv*: 2021.12.19.21268037 [Preprint] 2021 [posted 2021 Dec 21]: [29 p.]. Se puede consultar en: <https://doi.org/10.1101/2021.12.19.21268037>
- Kaneko N, Kuo HH, Boucau J, Farmer JR, Allard-Chamard H, Mahajan VS, et al. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. *Cell*. 2020;183:143–57.
- Tang J, Ravichandran S, Lee Y, Grubbs G, Coyle EM, Klenow L, et al. Antibody affinity maturation and plasma IgA associate with clinical outcome in hospitalized COVID-19 patients. *Nat. Commun*. 2021;12:1221.
- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579:270–3.
- Khatiri I, Staal FJT, van Dongen JJM. Blocking of the high-affinity interaction-synapse between SARS-CoV-2 spike and human ACE2 proteins likely requires multiple high-affinity antibodies: an immune perspective. *Front Immunol*. 2020;11:570018.
- Delgado JM, Duro N, Rogers DM, Tkatchenko A, Pandit SA, Varma S. Molecular basis for higher affinity of SARS-CoV-2 spike RBD for human ACE2 receptor. *Proteins*. 2021;89:1134–44.
- Barton MI, MacGowan SA, Kutuzov MA, Dushek O, Barton GJ, van der Merwe PA. Effects of common mutations in the SARS-CoV-2 spike RBD and its ligand, the human ACE2 receptor on binding affinity and kinetics. *Elife*. 2021;10:e70658.
- Muecksch F, Weisblum Y, Barnes CO, Schmidt F, Schaefer-Babajew D, Wang Z, et al. Affinity maturation of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies confers potency, breadth, and resilience to viral escape mutations. *Immunity*. 2021;54:1853–68.e7.
- van Binnendijk RS, den Hartog G, Reimerink J, Schepp R, Feenstra S, Reukers D, Reusken C, Eggink D, Sanders EAM, Kortbeek T, Vennema H. Serological Evidence for Reinfection with SARS-CoV-2; An Observational Cohort Study. [Preprint] 2021 [Posted 2021 March 08]:[17 p.]. Se puede consultar en SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3800076> o <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3800076>
- Kuhlmann C, Mayer CK, Claassen M, Maopong T G, Sutherland A D, Suliman T, Shaw M, Preiser W. Breakthrough Infections with SARS-CoV-2 Omicron Variant Despite Booster Dose of mRNA Vaccine [Preprint] 2021







[Posted 2021 December 09]:[8 p.]. Se puede consultar en SSRN:

<https://ssrn.com/abstract=3981711> o <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3981711>



20. Marshall J.C.A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect Dis* 2020, June 12, 2020.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30483-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30483-7)

Si lo desea, le enviaremos con mucho gusto bibliografía más detallada.

13 Explicación de los símbolos

	El contenido es suficiente para <n> análisis Cantidad de análisis
WASHBUF A 10 X	Tampón de lavado A (concentrado diez veces)
SUBS TMB	Sustrato cromógeno de tetrametilbencidina
MILKPOW	Leche desnatada en polvo
TESTSTR	Tiras de análisis
CONJ IgG	Conjugado de anti-IgG humana
AVIDI	Reactivo de avidin
EVALFORM	Hoja de evaluación
INSTRU	Instrucciones de uso
	Observe las instrucciones de uso
CONT	Contenido, contiene
IVD	Medio de diagnóstico <i>in vitro</i>
LOT	Número de lote/versión
	No congelar
REF	Número de pedido
	Utilizable hasta Fecha de caducidad
	Conservación de x °C a y °C
	Fabricante

14 Datos del fabricante y de la versión

recomLine SARS-CoV-2 IgG [Avidität]		Ref. 7374
Instrucciones de uso		GARLCS004ES
Válido a partir de		2023-03
	MIKROGEN GmbH Anna-Sigmund-Str. 10 82061 Neuried Alemania Tel. +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 Correo electrónico mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de	
		



GARLCS004