

## ADVERTENCIA

### Validación secundaria y verificación del desempeño de la prueba rápida “Gen Body COVID-19 IgM/IgG”

Se realizó el análisis de exactitud y concordancia de la prueba “**Gen Body COVID-19 IgM/IgG**” frente al estándar de referencia RT-PCR (“Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR Charité Virology, Berlin, Germany”), con seguimiento de los casos positivos (sintomáticos y asintomáticos) a los 7, 14 y 21 días posterior a la prueba positiva por RT-PCR. En un total de doscientos noventa y cinco (295) muestras que incluyeron: (i) Cien (100) muestras de sueros negativos históricos, (ii) Cien (100) muestras de sueros negativos por RT-PCR, (iii) Treinta y ocho (38) muestras de suero de pacientes asintomáticos con pruebas de RT-PCR positiva y (iv) cincuenta y siete (57) muestras de suero de pacientes sintomáticos, con pruebas de RT-PCR positiva (Tabla 1 y 3).

#### Procedimiento de la prueba

Para llevar a término la validación, los kits con anterioridad fueron almacenados bajo llave únicamente al alcance de personal autorizado, a temperatura ambiente y protegidos de la luz solar directa. Los kits utilizados por caja de 20 unidades y el buffer de dilución registraron fecha de vencimiento del 2022/04/08 y número de lote FJFB09201. La validación se realizó en las instalaciones del Instituto Nacional de Salud, el día 3 de Julio del 2020 por personal capacitado, teniendo en cuenta todas las instrucciones de uso de la prueba registradas en el inserto del kit. Se seleccionaron 295 sueros a evaluar del biobanco COVIDCOL, los cuales estaban en congelación. Posteriormente se descongelaron a temperatura de refrigeración ( $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) y finalmente se llevaron a temperatura ambiente ( $14 \pm 7^{\circ}\text{C}$ ) hasta el momento del montaje. Antes de realizar el montaje primero se verificó que el empaque del dis-

positivo estuviera sellado correctamente y no presentara ninguna anomalía, posteriormente se marcó cada dispositivo en la parte superior con el número de la muestra correspondiente para cada vial evaluado. La muestra de suero fue mezclada y posteriormente con ayuda de una micropipeta (equipo calibrado) se recolectaron 10  $\mu\text{l}$  adicionando en el pocillo de muestra del dispositivo, e inmediatamente se depositaron 3 gotas de tapón de detección en el pocillo del dispositivo destinado para este mismo. Con un cronómetro se contabilizaron 10 minutos y pasado este tiempo se realizó la lectura del resultado. Los resultados fueron leídos por dos observadores con una concordancia de  $k=1$ , teniendo como base de interpretación lo descrito según inserto. La información se registró en una base de datos específica para la validación de la prueba en medio magnético.

## Análisis de los grupos de estudio para la IgM

De un total de 195 muestras evaluadas con RT-PCR (95 positivas y 100 negativas) excluyendo los negativos históricos, 1 muestra fue positiva para SARS-CoV-2 con la prueba rápida y 294 muestras fueron clasificadas como negativas, para anticuerpos tipo IgM (Tabla 1).

**Tabla 1. Clasificación diagnóstica de los grupos en estudio para la prueba rápida de IgM**

Grupos	RT-PCR n=195	Prueba Serológica Inmunocromatografía para IgM		Total
		Positiva	Negativa	
Negativos históricos*	N/A	0	100	<b>100</b>
Negativos COVID-19 confirmado con RT-PCR	100	0	100	<b>100</b>
Asintomáticos RT-PCR Positivos	38	0	38	<b>38</b>
Sintomáticos RT-PCR Positivos	57	1	56	<b>57</b>
<b>Total</b>	<b>195</b>	<b>1</b>	<b>294</b>	<b>295</b>

\*Negativo histórico: Sueros de personas tomados entre 2017-2018, para uso en vigilancia en salud pública u otro fin, con autorización para otro tipo de análisis por consentimiento informado.

La validez de criterio divergente, al realizar evaluación con los sueros históricos de antes de la pandemia, fue calculada en 100% (IC95% 96.3 – 100%).

De acuerdo con la fecha de inicio de síntomas el grupo de pacientes sintomáticos con RT-PCR positiva (n=57), fue dividido en dos grupos para el análisis, considerando la fecha de inicio de síntomas: i) entre 8 y 11 días y ii) más de 11 días. 1 muestra fue clasificada por la prueba serológica rápida como positiva y 56 como negativas (Tabla 2).

**Tabla 2. Clasificación diagnóstica del grupo de sintomáticos para la prueba de IgM**

Sintomáticos RT-PCR Positivos	Prueba Serológica Inmunocromatografía para IgM		Total
	Positiva	Negativa	
Entre 8 y 11 días de inicio de síntomas	1	8	<b>9</b>
Más de 11 días de inicio de síntomas	0	48	<b>48</b>
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>56</b>	<b>57</b>

## Análisis de los grupos de estudio para la IgG

De un total de 195 muestras evaluadas con RT-PCR excluyendo los negativos históricos, 7 muestras fueron positivas para SARS-CoV-2 con la prueba serológica rápida **“Gen Body COVID-19 IgM/IgG”** y 188 muestras fueron clasificadas como negativas, para anticuerpos tipo IgG por esta prueba (Tabla 3).

**Tabla 3. Clasificación diagnóstica de los grupos en estudio para la prueba rápida de IgG**

Grupos	RT-PCR n=200	Prueba Serológica Inmunocromatografía para IgG		Total
		Positiva	Negativa	
Negativos históricos*	N/A	0	100	<b>100</b>
Negativos COVID-19 confirmado con RT-PCR	100	0	100	<b>100</b>
Asintomáticos RT-PCR Positivos	38	0	38	<b>38</b>
Sintomáticos RT-PCR Positivos	57	7	50	<b>57</b>
<b>Total</b>	<b>195</b>	<b>7</b>	<b>288</b>	<b>295</b>

\*Negativo histórico: Sueros de personas tomados entre 2017-2018 para uso en vigilancia en salud pública u otro fin con autorización para otro tipo de análisis por consentimiento informado.

La validez de criterio divergente, al realizar evaluación con los sueros históricos de antes de la pandemia, fue calculada en 100% (IC95% 96.3 – 100%).

De acuerdo con la fecha de inicio de síntomas el grupo de pacientes sintomáticos con RT-PCR positiva (n=57), fue dividido en dos grupos para el análisis, considerando la fecha de inicio de síntomas: i) entre 8 y 11 días y ii) más de 11 días. 7 muestras fueron clasificadas por la prueba serológica rápida como positivas y 50 como negativas (Tabla 4).

**Tabla 4. Clasificación diagnóstica del grupo de sintomáticos para la prueba de IgG**

Sintomáticos RT-PCR Positivos	Prueba Serológica. Inmunocromatografía para IgG		Total
	Positiva	Negativa	
Entre 8 y 11 días de inicio de síntomas	1	8	<b>9</b>
Más de 11 días de inicio de síntomas	6	42	<b>48</b>
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>50</b>	<b>57</b>

A partir del análisis se obtuvieron los siguientes datos de exactitud:

**Tabla 5. Resultados de exactitud diagnóstica y concordancia de la prueba serológica rápida “Gen Body COVID-19 IgM/IgG” frente a RT-PCR para SARS-CoV-2-COVID-19. Utilidad y recomendaciones para su uso de acuerdo con escenarios de aplicación de la prueba.**

Escenarios	Descripción		N	Sen	Esp	Exactitud	LR+	LR-	Kappa	Recomendación	Utilidad para escenario
Escenario 1	Prueba aplicada a población sintomática y asintomática independientemente del inicio de síntomas o exposición	IgM	195	1.05%	100%	51.79%	-	0.99	0.011	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	195	7.37%	100%	54.87%	-	0.93	0.075		
Escenario 2	Prueba aplicada a población sintomática independientemente del inicio de síntomas o exposición	IgM	157	1.75%	100%	64.33%	-	0.98	0.022	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	157	12.28%	100%	68.15%	-	0.88	0.151		
Escenario 2.a	Prueba aplicada a población sintomática (entre 8 y 11 días de inicio síntomas)	IgM	109	11.11%	100%	92.66%	-	0.89	0.187	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	109	11.11%	100%	92.66%	-	0.89	0.187		
Escenario 2.b:	Prueba aplicada a población sintomática (más de 11 días de inicio síntomas)	IgM	148	0.00%	100%	67.57%	-	1.00	0.000	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	148	12.50%	100%	71.62%	-	0.88	0.162		
Escenario 3	Prueba aplicada a población asintomática independiente del tiempo de exposición (post-infección)	IgM	138	0.00%	100%	72.46%	-	1.00	0.000	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	138	0.00%	100%	72.46%	-	1.00	0.000		
Escenario 4	Prueba aplicada a población asintomática y sintomática independiente del tiempo de exposición o síntomas (incluyendo sueros históricos)	IgM	295	1.05%	100%	68.14%	-	0.99	0.014	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	295	7.37%	100%	70.17%	-	0.93	0.097		
Escenario 5	Prueba aplicada a población sintomática independientemente del tiempo a la exposición o síntomas (incluyendo sueros históricos)	IgM	257	1.75%	100%	78.21%	-	0.98	0.027	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	257	12.28%	100%	80.54%	-	0.88	0.179		
Escenario 5.a	Prueba aplicada a población sintomática (entre 8 y 11 días después de inicio síntomas). (incluyendo sueros históricos)	IgM	209	11.11%	100%	96.17%	-	0.89	0.194	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	209	11.11%	100%	96.17%	-	0.89	0.194		
Escenario 5.b	Prueba aplicada a población sintomática (más de 11 días después de inicio síntomas). (incluyendo sueros históricos)	IgM	248	0.00%	100%	80.65%	-	1.00	0.000	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	248	12.50%	100%	83.06%	-	0.88	0.187		
Escenario 6	Prueba aplicada a población asintomática independiente del tiempo de exposición (incluyendo sueros históricos)	IgM	238	0.00%	100%	84.03%	-	1.00	0.000	El desempeño de la prueba es inadecuado para su uso	No es útil
		IgG	238	0.00%	100%	84.03%	-	1.00	0.000		

Sen: Sensibilidad, Esp: Especificidad, LR-: Razón de verosimilitud Negativa, LR+: Razón de verosimilitud positiva

## ADVERTENCIA

En este informe se presentan los resultados de validez y concordancia (con la RT-PCR) de la prueba serológica rápida **“Gen Body COVID-19 IgM/IgG”**. La prueba en mención mostró un pobre desempeño en todos los escenarios lo que indica que la prueba no puede usarse para el fin propuesto.

## Discusión

La prueba estándar para el diagnóstico de COVID-19 es la prueba molecular RT-PCR por la cual se detecta el material genético del virus, se clasifica como prueba de diagnóstico según la FDA (1), debido a que pueden detectar casos de infección activa por SARS-CoV-2. Ha sido reportado y comprobado que la prueba diagnóstica RT-PCR puede dar falsos negativos, pues si bien tiene una alta sensibilidad de detectar el virus cuando se encuentra presente en la muestra, el curso de la enfermedad evidencia que no todos los pacientes excretan el virus de la misma forma ni en los mismos tiempos y su duración en el tracto respiratorio disminuye con el transcurso de la enfermedad; diferentes estudios muestran que el uso integrado junto con pruebas serológicas que detectan la producción de anticuerpos como respuesta a la infección sirve para mejorar el rendimiento de la RT-PCR aumentando la probabilidad de lograr un diagnóstico asertivo (2,3).

Se conoce que la primera línea de defensa durante las infecciones virales es la inmunoglobulina M (IgM) antes de la generación de inmunoglobulina G (IgG) como respuesta adaptativa que son de mayor afinidad y son importantes para la inmunidad a largo plazo y la memoria inmunológica (4). Las pruebas serológicas permiten la identificación de anticuerpos específicos contra antígenos del virus, las proteínas estructurales de nucleocápside (N) y la proteína de espiga (S) son los antígenos más frecuentemente empleados en estas metodologías por su papel inmunogénico (5).

Recientemente se ha publicado en la literatura el comportamiento de la generación de anticuerpos para SARS CoV-2 considerando los datos disponibles hasta hoy (ver figura 1). A partir del mismo, se puede

concluir que la presencia total de IgM e IgG en sangre ocurre a partir del día 9 después del inicio de síntomas o de iniciada la infección. Se ha observado una variabilidad en el comportamiento de la generación de anticuerpos en diferentes poblaciones de asintomáticos y sintomáticos (6,7).

En casos asintomáticos, un estudio publicado en este tipo de población no detectó anticuerpos IgM durante el tiempo evaluado y reportó solo en algunos pacientes resultados positivos para la IgG entre los días 12 y 35 luego de una RT-PCR positiva (7) lo que podría dificultar su uso para este tipo de población. A diferencia, los casos sintomáticos presentan producción de anticuerpos detectables en promedio alrededor del día 7 a 14 después del inicio de los síntomas, esto puede variar por diferentes factores, y la diferencia entre la producción de IgM seguida de IgG se ha observado entre 1 a 9 días (2, 3, 8, 9, 10, 11).

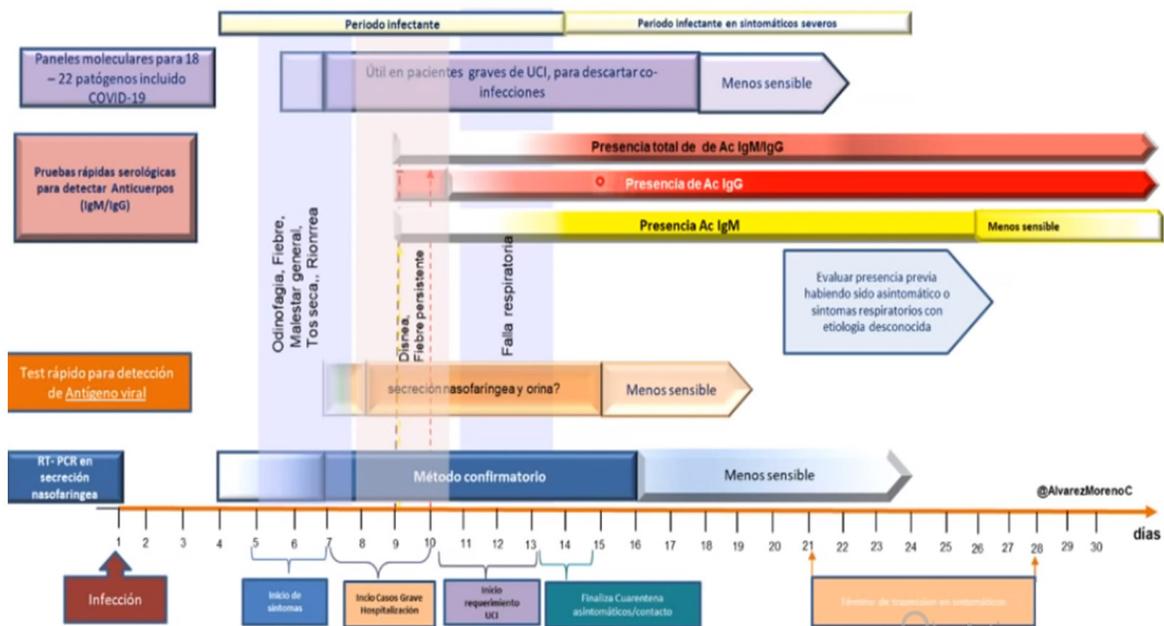
Como se conoce, hay estructuras semejantes entre algunos coronavirus, algunos anticuerpos desarrollados en personas con infecciones pasadas con otros coronavirus pueden identificar parte de las estructuras del SARS-CoV-2 los cuales pueden ser identificados por pruebas rápidas serológicas, generando falsos positivos (12).

El test evaluado según inserto no reporta los resultados de validación por laboratorio con el que fue normalizado previamente, es necesario confirmar si funciona adecuadamente, antes de proceder a su uso rutinario, evaluando el desempeño del método demostrando que puede mediante inmunocromatografía identificar anticuerpos IgG e IgM específicos para proteínas de SARS-CoV-2. Cuando se trata de procedimientos cualitativos o de pruebas subjetivas

(relacionadas con las capacidades o adiestramiento del observador), se deben incorporar a los procesos de verificación, controles positivos y negativos, siempre que sea posible. La validación además se hace necesaria cuando se busca demostrar equivalencia de los resultados obtenidos por dos métodos (por ejemplo, contrastar la inmunocromatografía con el ELISA o con la quimioluminiscencia). Dado que títulos mayores de anticuerpos y así como una mayor seroconversión son

detectados en la mayoría de los individuos con COVID-19 sintomático, los sueros controles positivos deben ser colectados de individuos hospitalizados con cuadros graves o críticos de COVID-19. Esta tendencia pudiera ser problemática si se tiene en cuenta que el uso de las pruebas serológicas inmunocromatográficas se ha sugerido como estrategia para identificar posibles portadores infecciosos asintomáticos.

**Figura 1. Evolución de la infección SARS-CoV-2/COVID-19**



Fuente: Consenso colombiano de atención, diagnóstico y manejo de la infección por SARS-CoV-2/COVID-19 en establecimientos de atención en salud. Divulgación de actualización realizada el 2020/07/12 (ref. 13).

## Conclusiones y recomendaciones

La prueba en estudio demostró un pobre desempeño en todos los escenarios evaluados.

## Referencias

1. U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION - FDA. Conceptos básicos de las pruebas para el coronavirus. Disponible en: <https://www.fda.gov/consumers/articulos-en-espanol/conceptos-basicos-de-las-pruebas-para-el-coronavirus>
2. Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and Clinical Application of A Rapid IgM-IgG Combined Antibody Test for SARS-CoV-2 Infection Diagnosis. J Med Virol [Internet]. 2020 Feb 27; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32104917>

3. Guo, L., Ren, L., Yang, S., Xiao, M., Chang, D., Yang, F., ... & Zhang, L. (2020). Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases*.
4. Infantino, M., Damiani, A., Gobbi, F. L., Grossi, V., Lari, B., Macchia, D., ... & Cappelletti, P. (2020). Serological assays for SARS-CoV-2 infectious disease: benefits, limitations and perspectives. *Isr Med Assoc J*, 22, 203-210
5. Qiu, M., Shi, Y., Guo, Z., Chen, Z., He, R., Chen, R., ... & Song, Y. (2005). Antibody responses to individual proteins of SARS coronavirus and their neutralization activities. *Microbes and infection*, 7(5-6), 882-889.
6. Mercado M, Malagón J, Delgado G, et al. Evaluation of nine serological rapid tests for detection of SARS-CoV-2 in Colombia. *Authorea*. July 15, 2020. DOI:10.22541/au.159480195.56269062
7. Lee, Y. L., Liao, C. H., Liu, P. Y., Cheng, C. Y., Chung, M. Y., Liu, C. E., ... & Hsueh, P. R. (2020). Dynamics of anti-SARS-Cov-2 IgM and IgG antibodies among COVID-19 patients. *Journal of Infection*
8. Zhao, J., Yuan, Q., Wang, H., Liu, W., Liao, X., Su, Y., ... & Qian, S. (2020). Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019.
9. Sun, B., Feng, Y., Mo, X., Zheng, P., Wang, Q., Li, P., ... & Zhang, F. (2020). Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerging Microbes & Infections*, (just-accepted), 1-36.
10. Huang, A. T., Garcia-Carreras, B., Hitchings, M. D., Yang, B., Katzelnick, L., Rattigan, S. M., ... & Lessler, J. (2020). A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease. *medRxiv*.
11. Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., ... & Hoelscher, M. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 581(7809), 465-469.
12. Wan, W. Y., Lim, S. H., & Seng, E. H. (2020). Cross-reaction of sera from COVID-19 patients with SARS-CoV assays. *medRxiv*
13. ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE INFECTOLOGÍA ACIN. (2020-07-12) Actualización del Consenso colombiano de atención, diagnóstico y manejo de la infección por SARS-COV-2/COVID-19 en establecimientos de atención de la salud. Recuperado de <https://www.youtube.com/watch?v=2Zl6VzPS0BE>

## Autores

**Marcela Mercado Reyes.** Bacterióloga, MS Epidemiología Clínica. Directora de Investigación en Salud Pública (E) Instituto Nacional de Salud.

**Gabriela Delgado M.** Bacterióloga, PhD Ciencias Farmacéuticas. Asesora Despacho en Secretaría Distrital de Salud. Profesora Titular en Universidad Nacional de Colombia.

**Gabriela Zabaleta.** Bacterióloga, Micro Ind, MS(c) Epidemiología. Grupo de Microbiología. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.

**Adriana Arévalo.** Bacterióloga, MSc en Microbiología. Grupo de Parasitología. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.

## Pruebas realizadas por:

**Lida Muñoz Galindo.** Bacterióloga y laboratorista clínico. Especialista en Epidemiología. Grupo de Parasitología. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud

**Vivian Vanesa Rubio.** Bacterióloga y laboratorista clínico. MSc en Ciencias. Grupo de Micobacterias. Subdirección de Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud.