

Protocolo de validación secundaria de desempeño de Pruebas Rápidas COVID-19 IgG/IgM

Elaborado por:

Kelly Estrada Orozco. MD MSC Epidemiología Clínica. PhDc, Coordinadora de la Unidad de Síntesis de Evidencia. Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud

Adriana Robayo. MD Esp Nefrología. Directora Ejecutiva. Instituto de Evaluación tecnológica en Salud

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

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

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

1. INTRODUCCIÓN

El virus SARS-CoV-2 es un coronavirus altamente contagioso que genera un síndrome respiratorio agudo severo conocido como COVID-19. SARS-CoV-2 es un virus ARN de la familia beta coronavirus, tiene un núcleo encapsulado por una envoltura compuesta por tres proteínas, de espiga (S), membrana (M) y envoltura (E) y su ARN está empaquetado por la proteína de la nucleocápside (N). Causa infección en el humano en algunos casos sin causar síntomas, en respuesta a la infección el sistema inmune genera anticuerpos específicos para las proteínas que lo conforman. Se ha reportado que los primeros marcadores de serología detectables en sangre son los anticuerpos totales seguido de IgM e IgG, con un tiempo medio de seroconversión evidente entre 15, 18 y 20 días después de la exposición (Figura 1), lo cual es útil debido a que su detección servirá como un indicativo de infección (1,2). A la fecha son pocos los estudios que reportan la cinética y el comportamiento de la respuesta de anticuerpos en pacientes con COVID-19, faltando estudios al respecto; aún así la información disponible expone un comportamiento muy similar a muchas otras infecciones virales agudas incluido la del SARS-CoV-2.

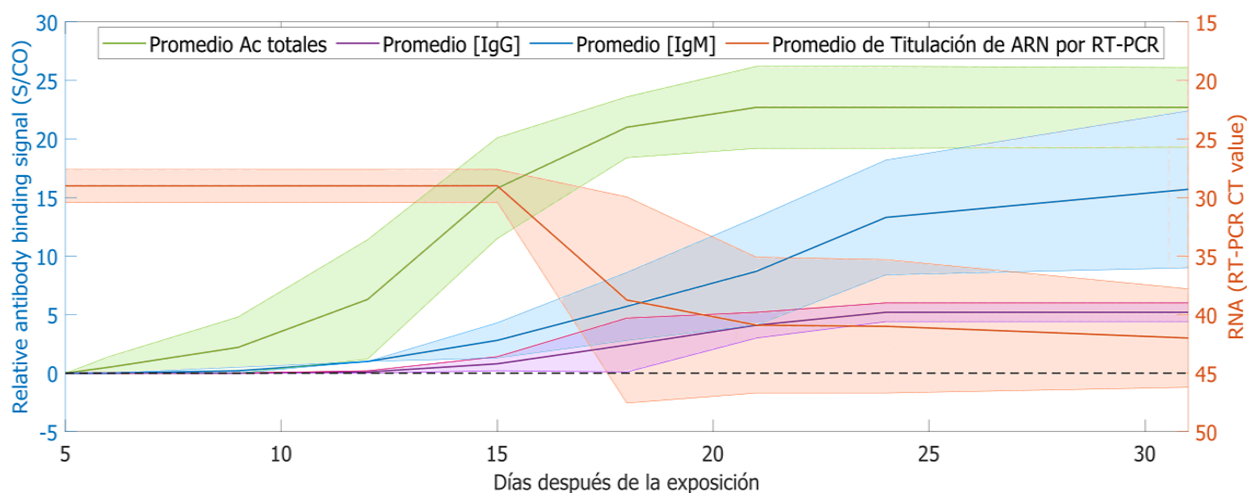


Figura 1. La gráfica muestra una estimación de los promedios (línea continua en color) junto con la desviación estándar (área sombreada a cada lado del promedio) de los niveles de anticuerpos generados por personas con infección sintomática, desde la exposición de SARS-CoV-2 (día cero). Los niveles de anticuerpos se expresaron utilizando las señales de unión relativa en comparación con el valor de corte de cada ensayo (S / CO) unidad de medida usada en los estudios de donde se extrajo la información (consultar referencias). La concentración de ARN del virus por RT-PCR se identificó de muestra de esputo (tracto respiratorio inferior). Fuente: Elaboración gráfica propia integrando los resultados publicados por Lou B. y Zhao J. (1) y (2).

Las pruebas serológicas inmunocromatográficas denominadas pruebas rápidas para la identificación de anticuerpos tipo IgG/IgM contra el coronavirus SARS-CoV-2, son útiles para dar un resultado preliminar frente a la sospecha de exposición al virus, así como en estudios de vigilancia epidemiológica. Brindan resultado en un menor tiempo entre 10 a 20 minutos y para su ejecución no es necesario el uso de equipos robustos, como tampoco de profesionales especializados en biología molecular a diferencia de la prueba confirmatoria por PCR en tiempo real con transcriptasa inversa (RT-PCR) establecida como *gold standard*, sirviendo como orientación para la realización de esta última, optimizando recursos. La detección de anticuerpos unas dos semanas después del inicio de los síntomas, a diferencia de la RT-PCR en algunos pacientes puede llegar a presentar mayor sensibilidad, siendo otra de las ventajas que presenta esta metodología (3,2), a pesar que la Organización Mundial de la Salud ha indicado la reactividad cruzada que pueden tener estas pruebas con otros coronavirus que están en circulación (comunicado OMS 24 de abril de 2020). El presente documento detalla el protocolo de validación de pruebas rápidas en sueros de población colombiana, para su implementación dentro de la estrategia de control en la transmisión del virus SARS-CoV-2 y mitigar el impacto en la salud pública.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Evaluar el desempeño operativo de pruebas rápidas de identificación de anticuerpos tipo IgM y/o IgG contra el coronavirus SARS-CoV-2, en diferentes espectros de la enfermedad usando como prueba de referencia RT-PCR (protocolo de Berlín).

2.2 Objetivos específicos

- Verificar los atributos del método que aplican para el uso previsto.
- Evaluar los resultados para generar un concepto técnico relacionado con el uso previsto de la nueva metodología a implementar.
- Comprobar el desempeño de las pruebas rápidas en términos exactitud y concordancia diagnóstica frente a RT-PCR (protocolo de Berlín), realizando un estudio de comparación de métodos para determinar el grado de acuerdo con el índice Kappa o porcentaje de concordancia.
- Determinar la exactitud diagnóstica, sensibilidad y especificidad, y la confiabilidad de la misma mediante el cálculo de concordancia entre los dos métodos

3. ALCANCE

El presente protocolo de verificación de desempeño es aplicable a las pruebas rápidas de identificación de anticuerpos tipo IgG/IgM contra el coronavirus SARS-CoV-2 que cuenten con validación reportada, que incluya sensibilidad mayor a 85% y especificidad mayor a 90% (4).

4. CONDICIONES GENERALES

4.1 Definición de las pruebas involucradas en el estudio

- 4.1.1 Prueba de referencia (*gold standard*):** prueba de PCR en tiempo real con transcriptasa inversa (RT-PCR) (Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR Charité Virology, Berlin, Germany). La RT-PCR consiste en una reacción en cadena de la polimerasa que previamente ha tenido una fase de transcripción reversa, su sigla en inglés RT (Reverse Transcription). Mediante la RT se obteniendo cADN a partir de una

cadena de RNA. En consecuencia la técnica de RT-PCR realiza la detección y amplificación de una secuencia a partir de una hebra de RNA.

Límite técnico de detección (LOD) = 5.2 copias de ARN / reacción, a una tasa de acierto del 95%; IC 95%: 3.7-9.6 copias de ARN / reacción, según protocolo (5).

4.1.2 Prueba a evaluar (prueba Índice): Pruebas rápidas para la detección de anticuerpos tipo IgG/IgM contra el coronavirus SARS-CoV-2.

Las pruebas rápidas COVID-19 IgG/IgM son un ensayo inmunocromatográfico para la detección cualitativa rápida de anticuerpos IgG/IgM específicos para SARS-CoV-2 en sangre total venosa, sangre total por punción capilar, suero y plasma. Ofrece un resultado preliminar evidenciado una banda característica para un resultado positivo, los resultados negativos no excluyen infección por SARS-CoV-2 y no pueden utilizarse como la base única para la decisión de tratamiento. La detección de anticuerpos no se puede considerar como una prueba diagnóstica para ninguna enfermedad infecciosa. Las pruebas rápidas serán procesadas por personal capacitado, siguiendo el procedimiento dado por fabricante según inserto. Registrando Lote del producto y fecha de validación. La lectura de resultados se realizará por dos observadores, realizando evaluación de concordancia inter-observador, determinando el grado de concordancia mediante coeficiente kappa (k).

4.1.3 Muestra de sangre

Se realizara toma de muestra de suero o plasma siguiendo los lineamientos del Instituto Nacional de Salud. Se deben usar todos los elementos de protección personal adecuados para virus respiratorios. Cumpliendo con las condiciones de conservación estipuladas como refrigeración entre 2°C a 8°C hasta por 7 días antes de la prueba, las muestras de suero o plasma pueden almacenarse a -20°C.

4.2 Población de estudio

La validación se realizará con sueros procedentes de población colombiana de diferentes partes del país de ambos sexos. Las muestras serán agrupadas según la siguiente clasificación:

4.2.1 Grupo de positivos

- I. **Positivos sintomáticos:** Individuos con prueba de RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 (prueba de referencia) que hayan manifestado alguno de los siguientes síntomas de la enfermedad (Dolor de garganta, tos, fiebre, dificultad respiratoria) y hayan sido notificados al sistema de vigilancia en Salud pública Sivigila. De este grupo se identificarán, los hospitalizados en distintos estadios de la enfermedad.
- II. **Positivos asintomáticos:** Individuos con prueba de RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 (prueba de referencia) que no haya manifestado ningún síntoma de la enfermedad al momento de recolección de la muestra.

4.2.1.1 Criterios de inclusión

1. Sujetos que presenten signos y síntomas de infección respiratoria mayor o igual a 8 días, con diagnóstico clínico y molecular compatible con Covid-19.
2. Sujeto que hayan sido identificados por una red prestadora de servicios de salud en Colombia.
3. Sujeto que haya sido notificado al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública Sivigila.
4. En el caso de asintomáticos, sujetos que firman el formulario de consentimiento informado requerido para aceptar ser parte del estudio y suministren su información completa o se pueda tener acceso a su historial clínico.

4.2.2 Grupo de negativos

- I. **Negativos:** Individuos con prueba de RT-PCR negativo para SARS-CoV-2 (prueba de referencia) que no hayan manifestado ningún síntoma siete días previos a la toma de la muestra.
- II. **Negativos históricos:** Sueros de individuos tomados entre 2017-2018 para uso de vigilancia en salud pública u otro fin con autorización para otro tipo de análisis por consentimiento informado.

4.2.2.1 Criterios de inclusión

1. Sujetos con pruebas moleculares de hisopado nasal negativo y que se haya tomado muestra de suero paralela a la toma nasal
2. Sujetos que firman el formulario de consentimiento informado requerido para aceptar ser parte del estudio y suministren su información completa o se pueda tener acceso a su historial clínico.

4.2.3 Criterios de exclusión:

1. Sujetos con historial clínico de enfermedad autoinmune que afecte la producción de anticuerpos.
2. Sujetos que hayan recibido transfusiones en el último mes antes de la toma de la muestra de sangre.
3. Sujetos que hubiesen presentado algún síntoma de infección respiratoria en el último mes.
4. Mujeres en embarazo.
5. Menores de edad.

4.3 Cálculo del tamaño de muestra

4.3.1 Tamaño de la muestra

Para determinar exactitud de la prueba y concordancia diagnóstica se propone la siguiente distribución a partir de las prevalencias de los grupos como se distribuyen en el escenario actual. Se realizará validez por criterio divergente, usando muestras de sueros de periodos previos a la pandemia en Colombia (6,7,8).

- Muestras positivas sintomáticas: 16 a 48 individuos RT-PCR positivos con síntomas.
- Muestras positivas asintomáticas: 16 a 48 individuos RT-PCR positivos sin síntomas
- Muestras negativas: 112 a 144 individuos RT-PCR y síntomas negativos
- Muestras negativas históricas: 112 a 144 Sueros*

*Esta muestra permitirá determinar la validez de criterio divergente de la prueba rápida en estudio.

4.4 Análisis estadístico de los datos

Inicialmente se realizará revisión de la base de datos por dos observadores independientes con el ánimo de establecer errores de transcripción o incongruencias. Se realizará un análisis descriptivo de las diferentes variables demográficas y clínicas evaluando su distribución. Se emplearán resúmenes gráficos y tablas según sea pertinente para cada variable. El análisis estadístico tendrá por objeto describir los estimativos puntuales y por intervalos de 95% de las características operativas de las pruebas con respecto al estándar de referencia (Sensibilidad, especificidad, razones de verosimilitud y valores predictivos) y la concordancia por conformidad mediante índice de Kappa. Igualmente se evaluará la concordancia por consistencia entre las diferentes pruebas convencionales y modificadas que se reportaran mediante índices de kappa. El análisis de datos se llevará a cabo a través del programa estadístico SPSS® V. 16.1.

5. REFERENCIAS

- (1). Lou, B., Li, T., Zheng, S., Su, Y., Li, Z., Liu, W., ... & Lin, S. (2020). Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptoms onset. *medRxiv*.
- (2). 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.
- (3). LADR La asociación de laboratorios Dr. Kramer & Kollegen GbR. (s.f.). Coronavirus SARS-CoV-2 prueba de anticuerpos utilizando ELISA. Recuperado el 12 de 04 de 2020, de <https://ladr.de/sars-cov-2-antikoerper-test>.
- (4). Trujillo, C. H. S. (2020). Consenso colombiano de atención, diagnóstico y manejo de la infección por SARS-COV-2/ COVID-19 en establecimientos de atención de la salud-Recomendaciones basadas en consenso de expertos e informadas en la evidencia. *Infectio*, 24(3).
- (5). Corman, V., Bleicker, T., Brünink, S., Drosten, C., & Zambon, M. (2020). Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. World Health Organization, Jan, 17.
- (6). Hajian-Tilaki, K. (2014). Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics. *Journal of biomedical informatics*, 48, 193-204.
- (7). Bujang, M. A., & Baharum, N. (2017). Guidelines of the minimum sample size requirements for Kappa agreement test. *Epidemiology, Biostatistics and Public Health*, 14(2).
- (8). Shan, G. (2018). Sample size calculation for agreement between two raters with binary endpoints using exact tests. *Statistical methods in medical research*, 27(7), 2132-2141.