

## Validación secundaria y verificación del desempeño de la prueba “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor”

Se realizó el análisis de exactitud y concordancia de la prueba “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor” frente al estándar de referencia RT-PCR (“Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR Charité Virology, Berlin, Germany”), con casos positivos (sintomáticos y asintomáticos), en un total de trescientas (300) muestras que incluyeron: (i) doscientos setenta (270) muestras de hisopado nasofaríngeo negativos y (ii) treinta (30) muestras de hisopado nasofaríngeo positivo por RT-PCR. (Tabla 1).

### 1. 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 25 unidades registraron fecha de vencimiento del 29/12/2021 con número de lote QC0320009. La validación se realizó en las instalaciones del Instituto Nacional de Salud por personal capacitado, teniendo en cuenta todas las instrucciones de uso de la prueba registradas en el inserto del kit. Las muestras de hisopado nasofaríngeo para los análisis fueron recolectadas previo consentimiento informado por parte del paciente y siguiendo instrucciones establecidas por el fabricante. Antes de realizar el

montaje se verificó que el empaque del dispositivo estuviera sellado correctamente y no presentara ninguna anomalía. Luego de la toma de la muestra, el escobillon provisto en el kit fue mezclado con la solución buffer y posteriormente en cabina de bioseguridad se adicionaron dos gotas al pocillo del dispositivo. Con un cronómetro se contabilizaron 30 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.

### 2. Análisis de los grupos de estudio

De un total de 300 muestras evaluadas con RT-PCR (30 positivas y 270 negativas), 25 muestras fueron positivas para SARS-CoV-2 con la prueba de antígeno y 275 muestras fueron clasificadas como negativas. (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación diagnóstica de los grupos en estudio para la prueba de antígeno “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor”

Grupos	RT-PCR n=300	Prueba Inmunocromatográfica para Antígeno		Total
		Positiva	Negativa	
Negativos SARS-CoV-2 confirmado con RT-PCR	270	0	270	<b>270</b>
Asintomáticos RT-PCR Positivos	14	9	5	<b>14</b>
Sintomáticos RT-PCR Positivos	16	16	0	<b>16</b>
<b>Total</b>	<b>300</b>	<b>25</b>	<b>275</b>	<b>300</b>

El análisis de los datos fue realizado de acuerdo a la presencia o no de síntomas, teniendo en cuenta que todos los individuos incluidos en este informe tuvieron fecha de inicio de síntomas o de exposición menor de 11 días (Tabla 2 y 3).

### 3. Análisis de los grupos de estudio para el grupo de asintomáticos

De un total de 300 muestras evaluadas con RT-PCR, 273 fueron de pacientes asintomáticos de las cuales 9 fueron positivas para SARS-CoV-2 y 264 fueron clasificadas como negativas con la prueba de detección cualitativa de antígenos “**STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor**” (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación diagnóstica del grupo de asintomáticos para la prueba antígeno “**STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor**”

Asintomáticos RT-PCR Positivos con menos de 11 días de exposición	Prueba Inmunocromatografía para Ag		Total
	Positiva	Negativa	
Prueba de Ag positiva	9	0	<b>9</b>
Prueba de Ag negativa	5	259	<b>264</b>
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>259</b>	<b>273</b>

### 4. Análisis de los grupos de estudio para el grupo de sintomáticos

De un total de 300 muestras evaluadas con RT-PCR, 27 fueron de pacientes sintomáticos de las cuales 16 fueron positivas para SARS-CoV-2 y 11 fueron clasificadas como negativas con la prueba de detección cualitativa de antígenos “**STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor**” (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación diagnóstica del grupo de sintomáticos para la prueba de antígeno “**STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor**”

Sintomáticos RT-PCR Positivos, con menos de 11 días de inicio de síntomas	Prueba Inmunocromatografía para Ag		Total
	Positiva	Negativa	
Prueba de Ag positiva	16	0	<b>16</b>
Prueba de Ag negativa	0	11	<b>11</b>
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>27</b>

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

**Tabla 4. Resultados de exactitud diagnóstica y concordancia para la prueba antígeno “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor” 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 (IC95%)	Esp (IC95%)	Exactitud	LR+	LR-	Kappa	Recomendación	Utilidad para escenario
Escenario 1	Prueba aplicada a población sintomática y asintomática con menos de 11 días de inicio de síntomas o de exposición	300	83.3% (66.4, 92.6)	100.0% (98.6, 100)	98.3%	-	0.16	0.9	La prueba presenta una adecuada especificidad para descartar la presencia SARS-CoV-2, así mismo es <b>alta</b> su capacidad de detectar casos cuando la fecha de inicio de síntomas o la exposición es menor a 11 días.	Es útil
Escenario 2	Prueba aplicada a población asintomática con menos de 11 días de exposición	273	64.3% (38.7, 83.6)	100.0% (98.5, 100)	98.2%	-	0.35	0.77	La prueba presenta una adecuada especificidad para descartar la presencia SARS-CoV-2, adicionalmente su capacidad de detectar casos cuando se tiene claridad de la fecha de exposición es moderada.	Es útil*
Escenario 3	Prueba aplicada a población sintomática con menos de 11 días de inicio de síntomas	27	100.0% (80.6, 100)	100.0% (74.1, 100.0)	100.0%	-	0	1	La prueba presenta una adecuada especificidad para descartar la presencia SARS-CoV-2, adicionalmente su capacidad de detectar casos cuando se tiene claridad de la fecha de exposición es alta.	Es útil

LR+: Razón de verosimilitud positiva; LR- Razón de verosimilitud negativa

Sen: Sensibilidad, Esp: Especificidad \*Es recomendable ampliar el tamaño de muestra en los asintomáticos positivos

En este informe se presentan los resultados de validez y concordancia (con la RT-PCR) de la prueba inmunocromatográfica rápida para la detección cualitativa de antígenos “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor” La prueba en mención demostró:

1. Alta especificidad frente a muestras nasofaríngeas procesadas con técnicas moleculares de RT-PCR.
2. Alta sensibilidad 100% en muestras nasofaríngeas de pacientes sintomáticos, cuando la fecha de inicio de síntomas es menor a 11 días (Escenario 3).
3. Una sensibilidad moderada 64% en muestras nasofaríngeas de pacientes asintomáticos, cuando la fecha de exposición es menor a 11 días (Escenario 2).
4. La concordancia de la prueba en estudio frente al estándar de referencia RT-PCR, medida como kappa, fue alta específicamente para los escenarios 1 y 3, escenarios de pacientes sintomáticos y asintomáticos con menos de 11 días de síntomas o de exposición.

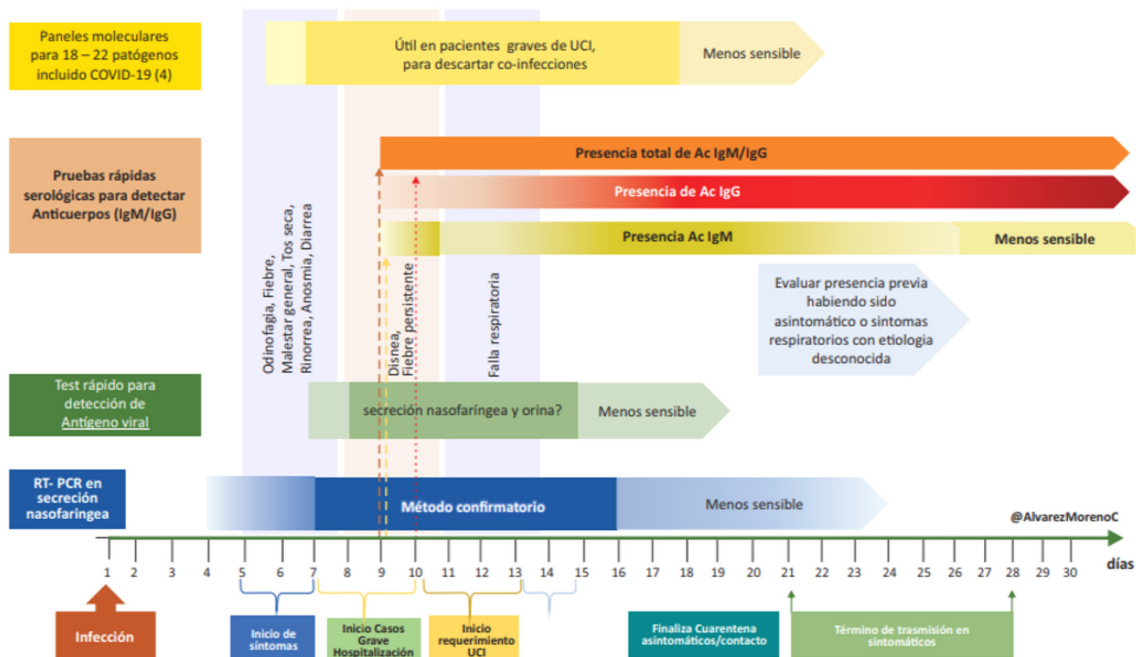
## Discusión

Para el diagnóstico de COVID-19 la prueba estándar de referencia es la RT-PCR, siendo una prueba directa al detectar el ARN viral en la muestra del paciente, junto a esta como apoyo diagnóstico es cada vez más frecuente el uso de pruebas inmunocromatográficas en el escenario de la pandemia. Estas pruebas se dividen en pruebas rápidas directas (detección de SARS-CoV-2) e indirectas (detección de anticuerpos anti SARS-CoV-2).

Se hace necesaria la implementación de pruebas que detecten la presencia del virus en muestras de tracto respiratorio en el menor tiempo posible desde el momento en el que el virus comienza a ser excretado en una persona infectada, pudiendo detectar casos de forma temprana, aislando y dando manejo oportuno para poder mitigar la propagación del virus. La aplicación de pruebas rápidas de antígeno, podrían brindar este apoyo al dar resultados preliminares en un menor tiempo, y tienen como ventaja que 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 RT-PCR.

Las pruebas inmunocromatográficas para la detección cualitativa de antígenos permiten la identificación de SARS-CoV-2 mediante el uso de anticuerpos monoclonales anti-COVID-19 IgG conjugados con partículas de color. A diferencia de las pruebas rápidas inmunocromatográficas serológicas que detectan anticuerpos con una mayor sensibilidad pasados 11 días desde el inicio de síntomas, la prueba rápida de antígeno presenta mayor sensibilidad antes de los primeros 11 días luego del inicio de síntomas como lo demuestran los resultados obtenidos, siendo útiles para detectar casos en la fase aguda de la enfermedad. Según la cinética de enfermedad del SARS-CoV-2 (Figura 1) (1), y los registros más frecuentes han evidenciado resultados positivos en la detección de ARN dos días antes del inicio de síntomas y hasta por 20 días después luego de su comienzo mediante RT-PCR; lo anterior asociado también al lugar anatómico muestreado, detectando mayor sensibilidad en muestras del tracto respiratorio bajo a diferencia del alto (2) (3).

**Figura 1. Historia Viral e inmunológica 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. Recomendaciones basadas en consenso de expertos e informadas en evidencia.

## Conclusiones y recomendaciones

1. La prueba en estudio demostró ser altamente específica frente a muestras RT-PCR negativas. La utilidad de la prueba como apoyo diagnóstico tiene un adecuado desempeño en pacientes asintomáticos y sintomáticos con menos de 11 días de exposición o de inicio de síntomas. No es útil en los pacientes asintomáticos o sintomáticos que tengan más de 11 días de exposición o de inicio de síntomas, en este caso se recomienda usar pruebas de RT-PCR.
2. Otros escenarios específicos con sus resultados y recomendación respectiva, se encuentran detallados en la tabla 4.

## Referencias

1. Consenso colombiano de atención, diagnóstico y manejo de la infección por SARS-COV-2/COVID-19 en establecimientos de atención de la salud. Disponible en <https://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/853/905>
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. 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.

## Autores

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

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

## Pruebas realizadas por:

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

**Marysol Galindo.** Bacterióloga y laboratorista clínico. MSc en Ciencias. Grupo de Nutrición. 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.