
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 inmunocromatográfica rápida para la detección cualitativa de antígenos “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor” frente al estándar de referencia RT-PCR Seegene Allplex™2019-nCoV Assay (Seegene, Seoul, South Korea) con casos positivos para SARS-CoV-2 (sintomáticos y asintomáticos), en un total de ciento ochenta y tres muestras (183) muestras que incluyeron: (i) ciento treinta y seis (136) muestras de hisopados nasofaríngeos negativos y (ii) cuarenta y siete (47) muestras de hisopados nasofaríngeos positivos 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 29/12/2020, con número de lote QCO3020009 y buffer de dilución con número de lote STEB1020008. La validación se realizó en las instalaciones del Laboratorio COLCAN por personal capacitado, a partir del 23 de junio del 2020, 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 dispositi-

tivo estuviera sellado correctamente, que no presentara ninguna anomalía, luego de abrir se verificó que el paquete de desecante dentro de la bolsa de aluminio estuviera de color amarillo. Con el hisopo estéril provisto por el kit se tomó la muestra de la nasofaringe posterior, y fue mezclado con la solución buffer. Posteriormente en cabina de bioseguridad de flujo laminar se adicionaron cuatro gotas de la mezcla al pocillo del dispositivo de prueba. 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 183 muestras evaluadas con RT-PCR (46 positivas y 136 negativas), 35 muestras fueron positivas para SARS-CoV-2 con la prueba de detección cualitativa de antígenos **“STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor”** y 148 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=183	Prueba Inmunocromatográfica para Antígeno		Total
		Positiva	Negativa	
Negativos SARS-CoV-2 confirmado con RT-PCR	136	5	131	136
Asintomáticos RT-PCR Positivos	29	18	11	29
Sintomáticos RT-PCR Positivos	18	12	6	18
Total	183	35	148	183

Para el análisis, el total de muestras evaluadas por RT-PCR fue dividido en dos grupos en sintomáticos y asintomáticos (Tabla 2 y 4), estos se analizaron a su vez clasificando las muestras según inicio de síntomas (toma de muestra entre los primeros 11 días luego del inicio de síntomas) o días desde la exposición (Tabla 3 y 5).

2.1 Análisis de los grupos de estudio para asintomáticos

De un total de 183 muestras evaluadas con RT-PCR, 131 fueron de pacientes asintomáticos de las cuales 21 fueron positivas para SARS-CoV-2 y 110 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”

Prueba Inmunocromatográfica para Antígeno	Asintomáticos RT-PCR sin tener en cuenta fecha de exposición		Total
	Positiva	Negativa	
Prueba de Ag positiva	18	3	21
Prueba de Ag negativa	11	99	110
Total	29	102	131

Considerando la fecha de exposición menor a 11 días, 12 muestras fueron clasificadas por la prueba de detección cualitativa de antígenos como positivas y 48 como negativas (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación diagnóstica del grupo de asintomáticos menor a 11 días de exposición Para la prueba antígeno “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor”

Prueba Inmunocromatográfica para Antígeno	Asintomáticos RT-PCR < 11 días de exposición		Total
	Positiva	Negativa	
Prueba de Ag positiva	11	1	12
Prueba de Ag negativa	0	48	48
Total	11	49	60

2.2 Análisis de grupos de estudio para sintomáticos

De un total de 183 muestras evaluadas con RT-PCR, 52 fueron de pacientes sintomáticos de las cuales 14 fueron positivas para SARS-CoV-2 y 38 fueron clasificadas como negativas con la prueba de detección cualitativa de antígenos “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor” (Tabla 4).

Tabla 4. Clasificación diagnóstica del grupo de sintomáticos para la prueba de antígeno “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor”

Prueba Inmunocromatográfica para Antígeno	Sintomáticos RT-PCR sin tener en cuenta la fecha de inicio de síntomas		Total
	Positiva	Negativa	
Prueba de Ag positiva	12	2	14
Prueba de Ag negativa	6	32	38
Total	18	34	52

Considerando la fecha de inicio de síntomas 43 muestras en sintomáticos fueron tomadas entre los primeros 11 días del inicio de síntomas, 14 muestras fueron clasificadas por la prueba de detección cualitativa de antígenos como positivas y 29 como negativas (Tabla 5).

Tabla 5. Clasificación diagnóstica del grupo de sintomáticos entre los primeros 11 días de inicio de síntomas para la prueba de antígeno “STANDARD™ Q COVID-19 Ag Test Biosensor”

Prueba Inmunocromatográfica para Antígeno	Sintomáticos RT-PCR con inicio de síntomas < 11 días		Total
	Positiva	Negativa	
Prueba de Ag positiva	12	2	14
Prueba de Ag negativa	1	28	29
Total	13	30	43

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

Tabla 6. Resultados de exactitud diagnóstica y concordancia para la prueba antigénico “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 independientemente del inicio de síntomas o exposición	183	63.8% (49.5, 76.0)	96.3% (91.7, 98.4)	87.9%	17.3	0.37	0.65	La prueba presenta una adecuada especificidad para descartar la presencia SARS-CoV-2. Su capacidad de detectar casos cuando no se tiene claridad sobre el inicio de síntomas ni de la exposición es moderada .	No es útil
Escenario 2	Prueba aplicada a población asintomática independientemente de la fecha de exposición	131	62.1% (44, 77.3)	97.1% (91.71, 98.99)	89.31%	21.1	0.39	0.65	La prueba presenta una adecuada especificidad para descartar la presencia SARS-CoV-2, sin embargo su capacidad de detectar casos cuando no se tiene claridad de la fecha de exposición es moderada.	No es útil
Escenario 3	Prueba aplicada a población asintomática con menos de 11 días de exposición	60	100% (74.1, 100)	97.9% (89.31, 99.64)	98.3%	49	-	0.946	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
Escenario 4	Prueba aplicada a población asintomática con 11 días o más de exposición	71	38.9% (20.3, 61.4)	96.2% (87.2, 98.9)	81.7%	10.3	0.63	0.42	La prueba presenta una adecuada especificidad para descartar la presencia SARS-CoV-2. Su capacidad de detectar casos cuando no se tiene claridad de la fecha de exposición es muy baja.	No es útil
Escenario 5	Prueba aplicada a población sintomática independientemente de la fecha de inicio de síntomas	52	66.7% (43.7, 83.7)	94.1% (80.9, 98.3)	84.6%	11.3	0.35	0.64	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.	No es útil
Escenario 6	Prueba aplicada a población sintomática con menos de 11 días de inicio de síntomas	43	92.3% (66.7- 98.6)	93.3% (78.7- 98.1)	93.02%	13.8	0.082	0.83	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, *Probablemente baja la presencia de virus cuando la fecha de inicio de síntomas supera los 11 días.

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% y 92.3% en muestras nasofaríngeas de pacientes asintomáticos y sintomáticos respectivamente, cuando la fecha de inicio de síntomas o de exposición es menor a 11 días (Escenario 3 y 6).
3. La concordancia de la prueba en estudio frente al estándar de referencia RT-PCR, medida como kappa, fue alta específicamente para los escenarios 3 y 5, escenarios de pacientes asintomáticos con menos de 11 días de exposición y población sintomática con menos de 11 días de inicio de síntomas.

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

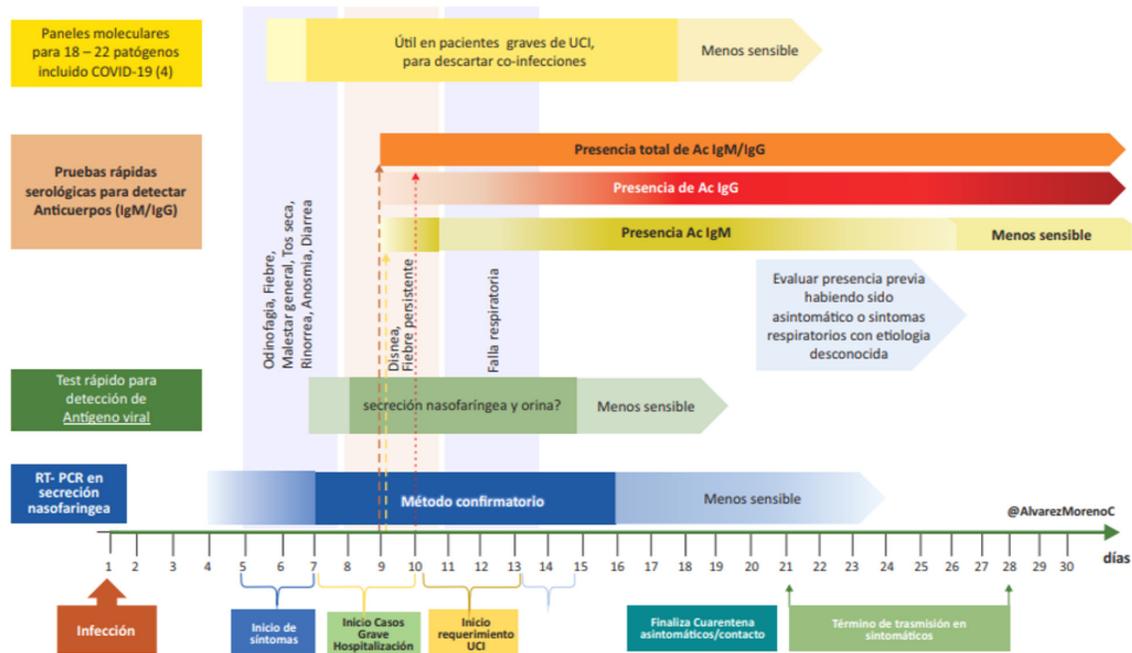
de pruebas rápidas de antígeno, podrían brindar este apoyo al dar resultados preliminares en un menor tiempo, y tienen como ventaja que para su ejecución no es necesario el uso de equipos robustos, como tampoco de profesionales especializados en biología molecular a diferencia de la prueba confirmatoria 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.
2. 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.
3. Otros escenarios específicos con sus resultados y recomendación respectiva, se encuentran detallados en la tabla 6.

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>](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.](#)

Análisis de datos y elaboración de informe:

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:

Nina Lamprea. Bacterióloga. Especialista de Producto Annar Health Technology

Emilce Herrera. Bacterióloga. Especialista de Producto Annar Health Technology

Alicia Narvaez. Medico Patólogo. Dirección General Laboratorio Colcan (Supervisión)