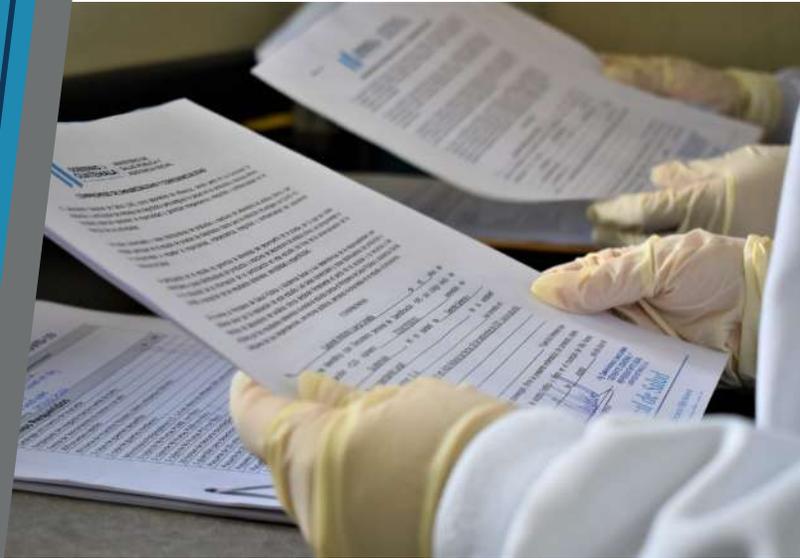


Informe final

Evaluación del desempeño de pruebas de diagnóstico rápido (PDR) para la detección de antígenos virales del COVID-19 disponibles en Guatemala en comparación con un ensayo de referencia.

(RT-PCR protocolo *Charité*) **FASE II**

11 de junio 2021



Evaluación del desempeño de pruebas de diagnóstico rápido (PDR) para la detección de antígenos virales del COVID-19 disponibles en Guatemala en comparación con un ensayo de referencia. (RT-PCR protocolo Charité) FASE II

Elaborado por:

Licenciada Carmen Julia Mazariegos
Licenciada María Fernanda Barrios
Licenciada Paola María Paniagua
Licenciada Eugenia Carolina Monzón Pavón
Doctora Flora Eugenia Arana Figueroa
Bachiller Carolina Pacheco Baíl
Bachiller Mario Pérez Castellanos

Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica
Laboratorio Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

Aprobado por:

Licenciada Selene Rosario del Carmen González Velásquez
**Coordinadora Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica
del Laboratorio Nacional de Salud**

Licenciado César Roberto Conde Pereira
**Jefe del Laboratorio Nacional de Salud
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social**

Doctora Mirna Floridalma Tellez Orellana
**Directora de la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social**

M.A. Leslie Samayoa Jerez de Hermosilla
**Viceministra Técnica
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social**

Introducción

La rápida expansión de la enfermedad por coronavirus COVID-19 llevó a Guatemala, a través del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), a realizar guías para la preparación y respuesta frente al nuevo coronavirus. Entre estas, el Departamento de Epidemiología generó el componente “Vigilancia Epidemiológica de Infección Respiratoria Aguda por COVID-19”. En dicho componente, el laboratorio procesará muestras de pacientes con presencia de síntomas y contactos de un caso confirmado iniciando con una prueba rápida de detección de antígeno para COVID-19 (PDR-Ag).

Con el objetivo de evaluar el desempeño de las PDR-Ag disponibles en el país, y con la finalidad de complementar el algoritmo diagnóstico vigente se determinaron los parámetros de desempeño de 08 pruebas de antígeno: 1) Anaquick COVID-19 Antígeno (Analyt de Centroamérica S.A.), 2) Genedia W COVID-19 Ag (Green Cross Medical Science Corp.) 3) Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test (Shenzen Watmind Medical Co.), 4) PCL COVID19 Ag Gold Saliva(PCL Inc.), 5) Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device (Abbott Diagnostics Jena GmbH), (6) Coris COVID-19 Ag Respi-Strip, (Coris BioConcept), 7) Roche SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test (SD Biosensor) y 8) Sistema BD Veritor™ (Becton, Dickinson and Company), contra un ensayo de RT-PCR protocolo *Charité in house*.

Un total de 1688 pacientes que acudieron a los servicios de salud del Centro de salud de Fraijanes, Centro de Salud Primero de Julio, Centro de Salud Santa Catarina Pinula, Centro de Salud Villa Nueva y el Hospital Temporal Parque de la Industria (HTPI), fueron incluidos en el estudio.

En general la sensibilidad de las PDR-Ag COVID-19 se encontró en el rango de 36.23 – 75.71% y la especificidad en el rango de 99.11% – 100%. Ambos parámetros de desempeño mejoraron en muestras con ciclo umbral (Ct) < 25, indicativo de mayor viremia.

Objetivo

Evaluar el desempeño de pruebas de diagnóstico rápido (PDR), para la detección de antígenos virales del COVID-19 disponibles en Guatemala en comparación con un ensayo de referencia (RT-PCR protocolo *Charité*).

Justificación

La rápida extensión de la enfermedad por coronavirus COVID-19 llevó a Guatemala, a través del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), a realizar guías para la preparación y respuesta frente al nuevo coronavirus. Entre estas, el Departamento de Epidemiología generó el componente “Vigilancia Epidemiológica de Infección Respiratoria Aguda por COVID-19” el cual estipula una estrategia de muestreo y diagnóstico con el objetivo de detectar oportunamente casos/grupos de infección por COVID-19 y cualquier evidencia

de transmisión sostenida de humano a humano.

En dicho componente, se indica que el laboratorio procesará muestras de pacientes con presencia de síntomas y contactos de casos confirmados, iniciando con una PDR-Ag. En el caso de muestras de pacientes con un resultado negativo, el laboratorio deberá realizar el envío de los hisopados a un laboratorio de referencia para la realización de una segunda prueba (RT-PCR) debido a la baja sensibilidad que se ha reportado para este tipo de pruebas.

A pesar de su baja sensibilidad, las PDR-Ag COVID-19 han demostrado en general tener una especificidad aceptable, por lo que pueden ser utilizadas como un criterio de confirmación en conjunto con la definición de caso, criterios clínicos y epidemiológicos. Otra característica de las PDR-Ag para COVID-19 es que son fáciles de realizar, no requieren equipo especializado ni personal altamente capacitado en técnicas moleculares.

En Guatemala, su implementación ha permitido la descentralización en el diagnóstico de la enfermedad y ha incrementado la capacidad, tanto en el sector público como privado, de realización de pruebas para el diagnóstico de COVID-19.

De acuerdo con las recomendaciones de OPS/OMS, las pruebas PDR-Ag deben someterse a evaluación independiente para establecer su desempeño diagnóstico y evaluar sus modalidades de implementación. Durante el período de septiembre a diciembre de 2020, el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) realizó la primera “Evaluación de desempeño de pruebas de diagnóstico rápido (PDR) para la detección de antígenos virales del COVID-19 disponibles en Guatemala en comparación con un ensayo de referencia (RT-PCR protocolo *Charité*) en donde se recomendó la importancia de seguir realizando evaluaciones de desempeño de forma periódica de las metodologías que puedan ser utilizadas en los algoritmos diagnósticos del país para enfermedades infecciosas de notificación obligatoria y/o emergentes debido a la variación entre los parámetros de desempeño reportados por el fabricante y los reportados en dicho estudio.

Derivado de lo anterior, y al rápido crecimiento de nuevas marcas de PDR-Ag para COVID-19 disponibles en el mercado guatemalteco que incluyen otras metodologías de toma de muestra, tales como muestra nasal y saliva es necesario realizar una segunda evaluación de desempeño de PDR-Ag para la detección de antígenos virales del COVID-19 con la finalidad de garantizar la calidad de los resultados emitidos por los laboratorios, así como su utilidad dentro de los algoritmos diagnósticos utilizados actualmente para el manejo de la crisis sanitaria.

Antecedentes

○ Epidemiología

La pandemia de COVID-19 es derivada de la enfermedad por coronavirus 2019, ocasionada por el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave tipo 2. Esta enfermedad fue detectada por primera vez en diciembre de 2019 en la ciudad de Wuhan, capital de Hubei en la República Popular China. La Organización Mundial de la Salud la reconoció como pandemia el 11 de marzo de 2020.

Para finales de mayo de 2021, según el Centro de Recursos para el Coronavirus de la Universidad Johns Hopkins y el Tablero COVID-19 del Centro para las Ciencias en Sistemas e Ingeniería de la misma universidad, se han informado

más de 167.9 millones de casos de la enfermedad en 254 países y con más de 3.5 millones de muertes. Hasta el 24 de mayo de 2021, en Guatemala se han reportado 248,824 casos confirmados por laboratorio y 8,022 casos fallecidos para una tasa de mortalidad local de 47.6 fallecidos por cada 100,000 habitantes (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social [MSPAS], 2021a). Según el Tablero COVID-19 de Guatemala (2021) los departamentos que han reportado mayor cantidad de casos confirmados (en orden descendente) son los departamentos de Guatemala, Quetzaltenango y Sacatepéquez.

○ Estrategias para abordaje de la pandemia.

Para el manejo efectivo de la pandemia, la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS), en su guía “Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección con el virus COVID-19” recomienda a los países miembros asegurar la identificación oportuna de casos sospechosos, la toma y el envío de muestra a los laboratorios de referencia e implementación de protocolos de detección molecular de acuerdo con la capacidad de los servicios (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2020a)

La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real de transcripción reversa (RT-PCR) en muestras respiratorias es el método de laboratorio molecular recomendado para diagnosticar la infección aguda por SARS-CoV-2. Sin embargo, realizar RT-PCR requiere equipo y personal de laboratorio capacitado familiarizado con técnicas moleculares que además son costosas y, que a menudo, requieren mucho tiempo (Weitzela, et al., 2020). Esto implica que la técnica no está diseñada para aplicaciones a gran escala en áreas con recursos limitados, lo cual impacta de forma negativa el establecimiento de programas de control de infecciones (Hanson et al., 2020).

A inicio de la pandemia COVID-19, en Guatemala, únicamente se utilizaban pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (PAAN), como la RT-PCR para el diagnóstico de COVID-19. Sin embargo, en el país, existen pocos laboratorios con la capacidad para realizar este tipo de ensayos, lo cual dificultó la descentralización del diagnóstico basándose en esta metodología. Por lo que, la capacidad para realizar RT-PCR de manera oportuna ha sido una limitante importante en las estrategias de contención y mitigación de la pandemia.

Derivado de lo anterior, existe una demanda crítica de ensayos alternativos, especialmente pruebas de diagnóstico rápido, que son oportunas, fáciles de realizar y puedan ser implementadas fácilmente en la red de laboratorios locales (Weitzela, et al., 2020)

El 11 de septiembre de 2020, la OPS/OMS recomendó en el documento, “Orientación provisional: detección de antígenos en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante inmunoensayos rápidos”, la realización de PDR-Ag en distintos escenarios como criterio diagnóstico y para la toma de decisiones de salud pública. Dichas pruebas se basan en la detección de proteínas virales que aparecen durante los primeros días de síntomas (OMS, 2020a).

○ Diagnóstico por laboratorio

Las pruebas que se utilizan para el diagnóstico inicial de COVID-19, son las PAAN (Caliendo & Hanson, 2020), siendo la RT-PCR, considerada por algunos autores el estándar de oro para la detección del ARN del virus (Younes et al., 2020).

El genoma del SARS-CoV-2 consiste en 15 genes, de estos las dianas moleculares para los ensayos de amplificación incluyen el gen E, N, RdRp (ARN dependiente ARN polimerasa), S (*spike*) u otras

dianas dentro de la región ORFab (*del inglés open reading frame*). Por lo general, los ensayos de amplificación utilizan dos o tres de estas dianas, algunos protocolos utilizando una como tamizaje y la segunda o tercera como confirmación. En el LNS el protocolo de referencia implementado es el *Charité in house* de Alemania, que detecta gen E de tamizaje y RdRp como confirmatorio, ver tabla 1 (Coreman et al., 2020).

Tabla 1. Resumen del protocolo para RT-PCR implementado en el Laboratorio Nacional de Salud

Ensayo	Dianas moleculares	Criterios diagnósticos	Referencia
Charité	RdRp	Amplificación de gen	Coreman et al., 2020
(Alemania)	E	E tamizaje;	
	N	amplificación de gen	
		RdRp confirmación	
		para SARS-CoV-2.	

Otro tipo de ensayos pueden ser útiles para detección de infección activa por COVID-19. Las pruebas de atención en el punto de cuidado (POCT, por sus siglas en inglés), son técnicas diseñadas para su aplicación donde se requiera el procesamiento de una gran cantidad de muestras en un tiempo corto (aproximadamente 1 hora) y que no cuenten con equipo especializado para la realización de pruebas moleculares o bien, con personal capacitado en dichos análisis. Son especialmente útiles para el tamizaje de pacientes en servicios de emergencia (Perera, 2020). Entre estas se encuentran las PDR-Ag, las cuales son ensayos que detectan la presencia de proteínas virales y han sido utilizadas para detectar infección activa en el caso de otros patógenos respiratorios (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades [CDC], 2020a).

En el caso del virus SARS-CoV-2, las PDR-Ag se encuentran dirigidas a detectar proteínas virales, principalmente la de la nucleocápside por su abundancia relativa, que son producidas por el virus en replicación en muestras respiratorias. La mayoría de este tipo de pruebas utiliza un ensayo tipo sándwich que ocurre en una matriz de nitrocelulosa que contiene anticuerpos contra el complejo antígeno-conjugado en una región específica conocida como línea prueba y una región con anticuerpos anti-conjugado conocida como línea control (World Health Organization [WHO], 2020).

Estas pruebas tienen las ventajas de poder realizarse de forma sencilla, en laboratorios o servicios sanitarios de baja complejidad y dan un resultado rápido (10 a 30 min). Estas características permiten mejorar el acceso a pruebas y disminuyen el tiempo de respuesta, pudiendo utilizarse como una estrategia para la descentralización de pruebas en pacientes sintomáticos (Departamento de Epidemiología, 2020; WHO, 2020). Sin embargo, de forma general, el desempeño analítico de estas pruebas es inferior al de pruebas de biología molecular, principalmente su sensibilidad, por lo que la interpretación de sus resultados y desarrollo de guías para diagnóstico es esencial para garantizar su uso adecuado (Departamento de Epidemiología, 2020).

De acuerdo con el desempeño analítico y clínico (elevada especificidad) que las pruebas de antígeno han demostrado en población definida como caso sospechoso, se puede diagnosticar una infección activa por COVID-19 con un resultado positivo en este tipo de pruebas (CDC, 2020a); Departamento de Epidemiología, 2020; WHO, 2020). De acuerdo con la OMS, utilizarlas e interpretarlas

adecuadamente pueden apoyar sustancialmente al manejo de la crisis sanitaria en el manejo de pacientes y en la toma de decisiones y vigilancia desde un punto de salud pública (WHO, 2020).

A continuación, se presenta una tabla comparativa de las principales diferencias entre las pruebas PAAN y PDR-Ag:

Tabla 2. Resumen de diferencias entre PAAN y PDR-Ag

	PAAN	PDR
Uso previsto	Detecta infección activa	Detecta infección activa
Analito detectado	Ácido ribonucleico viral (ARN)	Antígenos virales
Tipo de muestra	Hisopado nasal, nasofaríngeo, orofaríngeo, esputo, saliva	Hisopado nasal, nasofaríngeo
Sensibilidad	Varía por test, generalmente alta para pruebas de laboratorio y moderada a alta para pruebas POC	Varía según curso de infección; generalmente moderada a alta e momentos de alta carga viral
Especificidad	Alta	Alta
Complejidad de la prueba	Varía según la prueba	Relativamente fácil de usar
Disponibilidad para realizarse en el punto de atención	La mayoría no	La mayoría si
Tiempo de análisis	Hasta 3 días	Rango de 15 minutos a 30 días
Costo	Moderado	Bajo

Fuente: Adaptada de Interim Guidance for Antigen Testing for SARS-CoV-2 (CDC, 2021a)

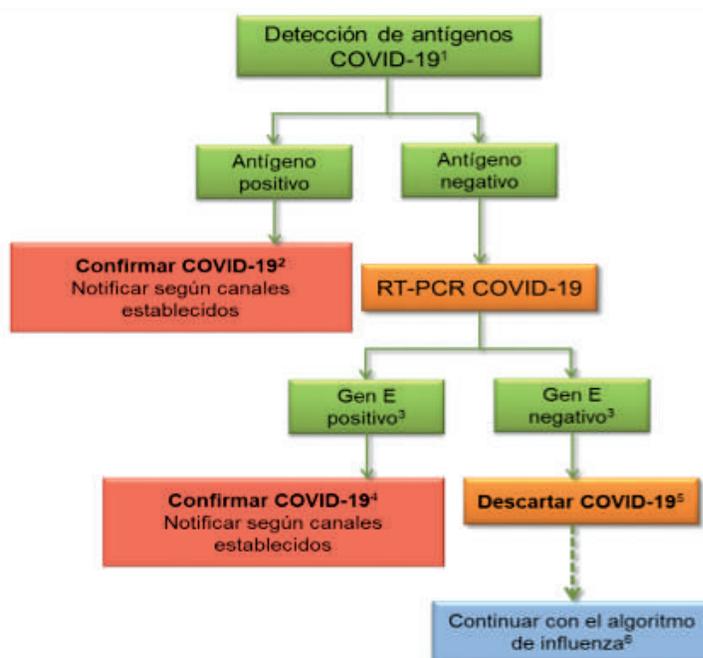
En poblaciones, con alta prevalencia las pruebas PDR-Ag pueden considerarse confirmatorias y los pacientes deben ser aislados. Sin embargo, debido a su baja sensibilidad analítica, un resultado negativo no descarta una posible infección, por lo que es necesario realizar una prueba molecular para los pacientes sintomáticos con prueba de antígeno negativa para descartar una infección, ver figura 1 (OPS, 2020a).

Dado que el desempeño analítico y clínico de las PDR-Ag para COVID-19 puede variar entre marcas de pruebas y con base en la prevalencia de la enfermedad, las recomendaciones de la OMS indican que deben tener como mínimo una sensibilidad analítica mayor al 80% y una especificidad de más del 97% (OMS, 2020).

En Guatemala, las PDR-Ag para COVID-19 se introdujeron tempranamente en la pandemia, dentro de un algoritmo que al 22 de febrero de 2021 especifica que las mismas pueden ser utilizadas en pacientes sintomáticos (casos sospechosos) y en contactos de casos confirmados, en el cual un resultado positivo confirma la infección y dada su sensibilidad analítica, un resultado negativo no la descarta, por lo que debe ser confirmado por una prueba PAAN. En la última actualización de la guía “Vigilancia Epidemiológica por COVID-19”, del 22 de febrero de 2021, se define a un caso sospechoso como toda persona con infección respiratoria aguda de cualquier nivel de gravedad que incluya tres o más de los signos/síntomas tales como fiebre, tos, dolor de garganta, dificultad respiratoria, debilidad, fatiga, cefalea, mialgia, alteración del estado mental, congestión nasal, diarrea, anorexia o vómitos; persona con anosmia o ageusia y persona con infección respiratoria aguda que requiera hospitalización. Mientras que un contacto con caso confirmado se define a toda persona que tuvo una exposición determinada con el caso confirmado en el período comprendido entre 2 días anteriores al inicio de síntomas (o a la toma de muestra para un caso asintomático) y la recuperación del caso. Por otro lado, también se define un caso confirmado por laboratorio, el cual se refiere a una persona con infección por SARS-CoV-2 confirmado por laboratorio (RT-PCR o PDR-Ag), independientemente de los signos y síntomas clínicos. Además, dadas las condiciones en las cuales se encuentra el país respecto a la actual pandemia, se complementó a esta guía una estrategia de muestreo (tamizaje), la cual consiste en el seguimiento y búsqueda activa de casos sospechosos, muestreo de contactos y la priorización de grupos. En dicho inciso, se indica realizar una PDR-Ag a todos los contactos de un caso confirmado, y realizar la prueba de antígeno al séptimo día a todos los contactos asintomáticos de un caso confirmado (Departamento de Epidemiología, 2021).

Los datos de desempeño (sensibilidad y especificidad) de las PDR-Ag son variables, teniendo una sensibilidad en muestras de hisopados nasofaríngeos del 0% al 94% y una especificidad relativamente alta (>97%). Las PDR-Ag ofrecen un buen desempeño en los pacientes con cargas virales elevadas (ciclos umbral Ct <25) que suelen aparecer en las fases presintomáticas (1-3 días antes de la aparición de síntomas) y en las fases sintomáticas iniciales de la enfermedad (2-7 días a partir del contacto). Esto brinda la oportunidad de diagnosticar la infección precozmente e interrumpir la transmisión por medio del aislamiento (OMS, 2020).

Figura 1 Algoritmo diagnóstico para uso de PDR-Ag



Fuente: Organización Mundial de la Salud. (2020a)

○ Enfoques para estudios de verificación.

Una verificación o evaluación del desempeño es fundamental para la implementación eficiente y eficaz de las pruebas de diagnóstico *in vitro* y serológicas del SARSCoV-2 que garantice que los resultados de las pruebas sean precisos y fiables antes de ser reportados.

La verificación es la confirmación de que las especificaciones predeterminadas por el fabricante cumplen de manera consistente, ya que evalúa el desempeño de la prueba contra el prospecto del producto o las instrucciones de uso del fabricante de la prueba (CDC, 2020b).

De acuerdo con el “Protocolo para Validación por Laboratorio de Pruebas de Antígenos del SARS-CoV-2” del CDC, el procedimiento operativo estándar para la validación del desempeño de una PDR-Ag implica su comparación contra el *gold standard* definido, RT-PCR. La validación debe realizarse determinando los parámetros sensibilidad, especificidad y valores predictivos. De acuerdo con el mismo documento, es aceptable que las especificaciones de desempeño determinadas por el laboratorio evaluador difieran de los reportados por el fabricante, los parámetros de desempeño determinados por el laboratorio pueden ser inferiores a los reportados por el fabricante, siempre y cuando estos no caigan por debajo de los requerimientos de desempeño regulatorios (CDC, 2020b).

De acuerdo con CDC, para la validación de ensayos que no se encuentren en la lista US FDA EUA o WHO EUL y no hayan sido validados por la *Foundation for Innovative and New Diagnostics*, FIND, la validación debe incluir un panel de al menos 30 muestras positivas y 30 negativas en comparación a un ensayo RT-PCR para establecer los parámetros de desempeño de la prueba (CDC, 2020b).

Un resumen del protocolo utilizado para la validación por FIND propone una validación en tres fases, siendo estas las siguientes:

■ Evaluación en el laboratorio:

En este caso se utilizan muestras de cultivo viral, se realizan series de diluciones para ser analizadas por RT-PCR a diferentes Ct. Puede ser utilizado MTV, la PDR-Ag se realiza de acuerdo con las instrucciones del fabricante con la diferencia de que el hisopo es introducido en las diluciones.

■ Evaluación prospectiva:

La evaluación es multicéntrica y ciega. Casos sospechosos de COVID-19, según definición de caso, que se presenten a los servicios serán hisopados dos veces, uno para el RT-PCR y el segundo para la PDR-Ag. La evaluación continuará hasta obtener 100 muestras positivas para cada PDR-Ag evaluado.

■ Evaluación retrospectiva:

En este caso, se utilizará un banco de muestras almacenadas en MTV bajo condiciones adecuadas. Son necesarias 100 muestras positivas y 100 negativas, con resultado de RT-PCR documentado (Foundation for Innovative and New Diagnostics [FIND], 2020).

○ Características de las pruebas evaluadas según información del fabricante.

En la tabla No. 3, se enumeran las pruebas de diagnóstico rápido para antígeno COVID-19 evaluadas en el estudio, incluyendo los parámetros de sensibilidad y especificidad reportados por el fabricante, tipo de muestra, tiempo de lectura, requerimiento de equipo para su lectura y los componentes incluidos en el kit. En el Anexo 1 se encuentra la información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas.

Tabla 3. Descripción de Pruebas de Diagnóstico Rápido para antígeno COVID-19 evaluadas según inserto de fabricantes

Nombre de la prueba	Tipo de muestra	Sensibilidad % (IC 95%)	Especificidad % (IC 95%)	Tiempo de lectura	Requerimiento de equipo para lectura	Componentes
Anaquick COVID-19 Antígeno	Hisopado Nasofaríngeo	96.4 (89.8-99.2)	99.2 (95.5-99.9)	15 minutos y no leer después de 20 minutos	No	<ul style="list-style-type: none"> - Dispositivo de prueba - Tampón de extracción - Tubo de recolección de muestra con tapa - Hisopo estéril - Tarjeta de instrucciones de uso
Genedia W COVID-19 Ag	Hisopado Nasofaríngeo	90.1 (85.1-93.9)	100.0 (98.4-100.0)	10 minutos y no leer después de 15 minutos	No	<ul style="list-style-type: none"> - Dispositivo de prueba - Tubo con solución de extracción - Tapa de boquilla con filtro - Hisopo estéril - Instrucciones de uso
Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test	Hisopado Nasofaríngeo	Ct ≤30: 86.57 Ct: ≤36: 70.09	98.44	10-15 minutos y no leer después de 20 minutos	No	<ul style="list-style-type: none"> - Dispositivo de prueba - Solución de extracción - Soporte del tubo de extracción <ul style="list-style-type: none"> - Tubo - Tapa tipo gotero - Hisopo estéril - Instrucciones de uso
PCL COVID19 Ag Gold Saliva	Saliva	94.29 (80.84-99.30)	100.0 (94.87-100.0)	10 minutos y no leer después de 20 minutos.	No	<ul style="list-style-type: none"> - Dispositivo de prueba - Tubo con reactivo de extracción - Cono de papel filtro - Tapa del tubo - Instrucciones de uso
Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device	Hisopado Nasofaríngeo	93.3 (83.8-98.2)	99.4 (97.0-100.0)	15 minutos y no leer después de 20 minutos	No	<ul style="list-style-type: none"> - Dispositivo de prueba - Buffer de extracción - Tubos de extracción - Tapa del tubo - Hisopo estéril - Instrucciones de uso
CORIS COVID-19 Ag Respi-Strip	Hisopado Nasofaríngeo	91.2 (75.0-78.0)	99.4 (96.0-100.0)	30 minutos, leer inmediatamente	No	<ul style="list-style-type: none"> - Tira Respi-Strip - Buffer de extracción <ul style="list-style-type: none"> - Tubo - Tapa para tubo - Hisopo estéril - Instrucciones de uso
ROCHE SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test	Hisopado Nasofaríngeo	96.52 (91.33-99.04)	99.68 (98.22-99.99)	15-30 minutos y no leer después de 30 minutos	No	<ul style="list-style-type: none"> - Dispositivo de prueba - Tubo con buffer de extracción - Tapa con boquilla - Hisopo estéril - Cinta protectora - Instrucciones de uso y guía rápida
Kit Rapid Detection of SARS-CoV-2 Veritor	Hisopado Nasal	84.0 (67.0-93.0)	100.0 (98.0-100.0)	15 minutos y leer inmediatamente en el equipo BD Veritor Plus System Analyzer	Si	<ul style="list-style-type: none"> - Dispositivo de prueba - Tubo con solución de extracción - Hisopo estéril - Instrucciones de uso y guía rápida para hisopado nasal

Fuente: Adaptado de insertos de pruebas rápidas

Metodología

■ Diseño del estudio

Estudio analítico prospectivo de pruebas diagnósticas con resultado dicotómico para determinar sensibilidad, especificidad y valores predictivos entre dos pruebas.

■ Selección de pruebas a verificar

Las pruebas incluidas en el estudio fueron aquellas que contaban con registro sanitario vigente o que se encontraban en proceso de solicitud de este. Se publicó una invitación con los requisitos de participación en el estudio en las páginas digitales de socialización de información del LNS y del MSPAS. Todos los proveedores que distribuyen PDR-Ag COVID-19.

■ Temporalidad

La verificación de desempeño de las PDR-Ag se realizó durante un periodo de 5 meses, enero, febrero, marzo, abril y mayo, hasta que se alcanzó el número de muestra estimado.

■ Población

Pacientes que acudieron a los servicios sanitarios del Centro de Salud Fraijanes, Centro de Salud Primero de Julio, Centro de Salud Santa Catarina Pinula, Centro de Salud Villa Nueva y Hospital Temporal Parque de la Industria (HTPI), con sintomatología congruente para infección por COVID-19 y contactos de casos confirmados según lo estipulado por la guía epidemiológica del 22 de febrero del Departamento de Epidemiología con solicitud de análisis para prueba de COVID-19.

■ Criterios de inclusión y exclusión

■ Inclusión:

Cualquier paciente que ingrese con sintomatología compatible con infección por COVID-19 y contactos de casos confirmados a los servicios de salud donde se realizó la fase experimental, cumpliendo con la definición de caso sospechoso por la guía epidemiológica del 22 de febrero del Departamento de Epidemiología, con solicitud de análisis para prueba de COVID-19.

■ Exclusión:

Pacientes que no cumplan con la definición de caso sospechoso, según la guía epidemiológica referida anteriormente.

■ Cálculo de la muestra

Con la asistencia del “Proyecto Cuidado y Tratamiento en VIH *IntraHealth International*” se realizó el cálculo del tamaño de la muestra para una proporción, en una población conocida con un intervalo de confianza (IC) al 95%. Basado en la cantidad de pacientes tamizados y confirmados durante el período del 13 de noviembre de 2020 al 13 de enero de 2021 en el departamento de Guatemala. Para la selección de sitios a muestrear, se consideró la cantidad de pacientes que acudieron a los servicios de salud del Centro de Salud Fraijanes, Centro de Salud Primero de Julio, Centro de Salud Santa Catarina Pinula, Centro de Salud Villa Nueva y Hospital Temporal Parque de la Industria, (HTPI), y el porcentaje de positividad reportado por cada uno de estos.

Se calculó un tamaño de muestra siguiendo un muestreo probabilístico con afijación proporcional. El tamaño de muestra se calculó para una población de 120,252, IC 95% confianza y 14.80% proporción de positivos en el programa OpenEpi versión 3, dando un total de 194 personas, utilizando la siguiente fórmula:

$$n = [DEFF * Np(1-p)] / [(d^2 / Z^2_{1-\alpha/2} * (N-1) + p * (1-p))]$$

■ Donde:

N: tamaño de la población (para el factor de correlación de la población finita).

p: frecuencia % hipotética del factor del resultado en la población.

d: límite de confianza como % de 100 (absoluto +/-%).

EDFF: efecto de diseño

Adicionalmente, se tomó en consideración un porcentaje de pérdida del 10% para un total de 214 personas por prueba participante.

■ Aleatorización de la muestra:

Para la aleatorización de las muestras se utilizó el programa estadístico RStudio versión 1.3.1093 aplicando la función o comando “*sample*”, que asignó el orden de utilización de cada una de las diferentes marcas de PDR-Ag en los pacientes, con la misma probabilidad de aparición hasta alcanzar el número de muestra calculado.

■ Estrategia de muestreo:

En la tabla 4 se resume la estrategia de muestreo utilizada y la cantidad de pacientes seleccionados por cada servicio sanitario.

Tabla 4: Distribución de muestreo PDR-Ag

Servicio de Salud	Centro de Salud Fraijanes	Centro de Salud Primero de Julio	Centro de Salud Santa Catarina Pinula	Centro de Salud Villa Nueva	Hospital Temporal Parque de la Industria (HTPI)	Total
Cantidad de muestras	423	189	415	238	423	1688

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

■ Metodología

- De acuerdo con el protocolo nacional para diagnóstico de COVID-19, se llenó una ficha epidemiológica por cada paciente, de la cual se envió una copia al LNS para posterior análisis de datos.
- Por cada paciente, el personal de salud tomó en forma paralela una muestra nasal, nasofaríngea o saliva para la realización de la PDR-Ag in situ y una muestra de hisopado nasofaríngeo para RT-PCR protocolo *Charité in house*, la cual se procesó en las instalaciones del LNS.
- El hisopado para realizar el RT-PCR fue procesado en el Laboratorio Nacional de Salud, siguiendo el protocolo establecido:
 - La extracción de ARN se realizó manual con *QIAamp Viral RNA Mini Kit* y/o automatizada utilizando *Qiacube HT*, según disponibilidad y procurando utilizar la misma metodología para la totalidad de las muestras.
 - La amplificación y detección viral se realizó de acuerdo con el protocolo (WHO, 2020) *Charité in house* para la detección de genes E (Ct<37) y RdRp (Ct<39).
- Los resultados de las pruebas se registraron en hojas de control de pruebas, a partir de las cuales se alimentó la base de datos general, identificándolos con número correlativo asignado según la aleatorización.
- Los resultados de las PDR-Ag se compararon con el resultado del *gold standard* RT-PCR, para establecer la sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

■ Interpretación de Resultados

Cada resultado de PDR-Ag se interpretó según las indicaciones del fabricante. Los resultados dudosos o que no hayan marcado francamente en la línea del test, fueron evaluados por un segundo observador independiente y en caso de desacuerdo se consultó con un tercer observador. Siguiendo en todo momento las especificaciones del fabricante para la interpretación de resultados dudosos.

Los resultados inválidos no se utilizaron para el cálculo de los parámetros de desempeño.

■ Control de Errores y Sesgos

La lectura del resultado de la prueba analizada (PDR-Ag) se realizó desconociendo el resultado del *gold standard*, para evitar sesgo.

Los analistas tomaron evidencia fotográfica del desempeño diario, y de todos o cualquier resultado no esperado o inválido.

■ Recolección y manejo de datos

Fuente primaria: los datos fueron recolectados a partir de la ficha epidemiológica y de los formatos de recolección de datos de resultados. Todos los datos fueron manejados únicamente por personal del LNS.

■ Análisis de datos

Las variables evaluadas en el proceso de verificación se basaron en las variables originales del ensayo validado y/o normalizado siendo estas: sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo, valor predictivo positivo. (OGA, 2007; Yerushalmy, 1947; MSPAS, 2020).

Los resultados fueron ingresados al programa de código abierto, web-based y gratuito OpenEpi, opción screening, completando tablas de contingencia para el cálculo de parámetros de desempeño para dos pruebas. Adicionalmente, se calcularon los parámetros antes mencionados estratificados por día de inicio de síntomas para pacientes que acudieron a los servicios sanitarios antes de los 7 y 5 días, y por ciclo de amplificación en la prueba RT-PCR, antes del ciclo 30 y ciclo 25.

El programa reportó los parámetros sensibilidad, especificidad y valores predictivos junto a su intervalo de confianza al 95%.

■ Miembros del equipo de estudio y colaboradores

■ Equipo de Estudio:

No.	Nombre	Cargo
1.	Lic. Cesar Conde Pereira	Jefe de Laboratorio Nacional de Salud
2.	Lda. Selene González Velásquez	Coordinadora UCREVE/LNS
3.	Dra. Flora Eugenia Arana Figueroa	Mesa técnica de verificación de pruebas COVID-19
4.	Lda. Carmen Julia Mazariegos	Mesa técnica de verificación de pruebas COVID-19
5.	Lda. Paola María Paniagua Orozco	Mesa técnica de verificación de pruebas COVID-19
6.	Lda. María Fernanda Barrios Yong	Mesa técnica de verificación de pruebas COVID-19
7.	Lda. Eugenia Carolina Monzón Pavón	Mesa técnica de verificación de pruebas COVID-19
8.	Br. Mario Pérez Castellanos	Analista
9.	Br. Carolina Pacheco Baíl	Analista
10.	Br. Héctor José Cifuentes Mendoza	Analista

■ Instituciones colaboradoras:

1.	Proyecto Cuidado y Tratamiento en VIH <i>IntraHealth International</i>
2.	Centros para el Control y Prevención de Enfermedades -CDC-
3.	Organización Panamericana de la Salud -OPS-
4.	Centro de Salud Fraijanes
5.	Centro de Salud Santa Catarina Pinula
6.	Centro de Salud Villa Nueva
7.	Centro de Salud Primero de Julio
8.	Hospital Temporal Parque de la Industria

■ Mecanismo de financiamiento

El LNS cubrió los costos relacionados a instalaciones, equipo, recurso humano y reactivos para realización del RT-PCR protocolo *Charité in house*. Las casas comerciales y/o distribuidoras de reactivos de laboratorio clínico corrieron con los gastos para la realización de las PDR-Ag y otros requerimientos

■ Protección de participantes en la investigación

Los datos de los participantes fueron desligados con un código COVID-19. Los resultados para el diagnóstico de los pacientes fueron proporcionados por cada servicio sanitario según sus propias normas establecidas.

Los resultados reportados a los pacientes que participaron en el estudio fueron únicamente los de RT-PCR a través de las Direcciones de las Áreas de Salud de Guatemala que refirieron al LNS.

En el caso del servicio de salud que participó en el estudio que tuvo la capacidad de realización de RT-PCR, fue dicho centro el encargado de realizar dicha prueba y emitir el resultado.

El registro de resultados entregado al paciente fue almacenado electrónicamente y la base de datos fue diferente a la utilizada para datos COVID-19 del LNS.

La información del estudio fue custodiada exclusivamente por personal del LNS ninguna información personal de pacientes fue divulgada.

■ **Divulgación de resultados**

Los resultados de la investigación fueron incluidos en el presente informe técnico. El reporte será de divulgación pública y se publicará en medios electrónicos de comunicación del LNS. Se entregará una copia electrónica de los resultados a cada empresa participante, así como, una constancia de participación en donde se estipulan los parámetros de desempeño de la marca evaluada.

Resultados

Se recolectaron un total de 1,688 muestras, 1264 correspondieron a hisopado nasofaríngeo, 214 de hisopado nasal y 210 de saliva para el procesamiento de PDR-Ag, y 1688 muestras de hisopado nasofaríngeo para RT-PCR. De estas, 645 resultaron positivas por RT-PCR para un porcentaje de positividad del 38.21%. Del total de muestras tomadas, 75 fueron reportadas como inválidas y/o indeterminadas siendo excluidas del análisis de resultados.

En la tabla 5 se observa el desempeño general de las PDR-Ag COVID-19 de las ocho marcas participantes en el estudio. De los 645 pacientes con un resultado positivo para RT-PCR, 413 (64.03%) fueron detectados adecuadamente por las PDR-Ag, mientras, 232 no fueron detectadas (falso negativo), lo cual equivale a un 35.97%. Asimismo, de los 968 pacientes con un resultado negativo a la RT-PCR, 961 fueron detectados correctamente por las PDR-Ag, lo cual equivale a 99.28%, mientras que en 7 pacientes (0.72%) las PDR-Ag dieron resultado positivo (falso positivo).

Tabla 5. Desempeño General de las PDR-Ag, Fase II

Marca	Desempeño General												
	VP	FP	FN	VN	Total	Sensibilidad (%)	IC 95%	Especificidad (%)	IC 95%	VPP (%)	IC 95%	VPN (%)	IC 95%
Anaquick	66	1	28	111	206	70.21	(60.32-78.52)	99.11	(95.12-99.84)	98.51	(92.02-99.74)	79.86	(72.43-85.68)
Coris	44	1	33	114	192	57.14	(46.01-67.60)	99.13	(95.24-99.85)	97.78	(88.43-99.61)	77.5	(70.15-83.54)
Genedia	53	1	29	120	203	64.63	(53.84-74.11)	99.17	(95.47-99.85)	98.15	(90.23-99.67)	80.54	(73.45-86.09)
Human GmbH	53	1	17	131	202	75.71	(64.50-84.25)	99.24	(95.83-99.87)	98.15	(90.23-99.67)	88.51	(82.37-92.70)
Panbio	54	1	31	113	199	63.53	(52.92-72.97)	99.12	(95.20-99.84)	98.18	(90.39-99.68)	78.47	(71.07-84.40)
PCL	25	0	44	135	204	36.23	(25.90-48.02)	100.00	(97.23-100.00)	100.00	(86.68-100.00)	75.42	(68.62-81.15)
Roche	66	1	23	112	202	74.16	(64.20-82.12)	99.12	(95.16-99.84)	98.51	(92.02-99.74)	82.96	(75.73-88.37)
Veritor	52	1	27	125	205	65.82	(54.08-75.33)	99.21	(95.64-99.86)	98.11	(90.06-99.67)	82.24	(75.39-87.50)

VP: Verdaderos positivos, FP: Falsos positivos, FN: Falsos negativos, VN: Verdaderos negativos, VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo.

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

En las tablas 6 a la 13 se presenta un resumen de los resultados obtenidos del desempeño de cada una de las PDR-Ag COVID-19 al ser comparadas con RT-PCR, protocolo *Charité in house*, Alemania (IC 95%), en contraste con los parámetros de sensibilidad y especificidad reportados en los insertos de los fabricantes. Adicionalmente, se incluye un análisis estratificado para los parámetros de sensibilidad, especificidad y valores predictivos, por ciclo de amplificación (Ct) y días de inicio de síntomas.

Tabla 6: Comparación de desempeño para Anaquick COVID-19 Antígeno

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct <25 (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	96.4 (89.8-99.2)	70.21 (60.32-78.52)	89.71 (80.24-94.92)	96.15 (87.02-98.94)	71.60 (60.98-80.27)	72.73 (60.96-82.00)
Especificidad	99.2 (95.5-99.9)	99.11 (95.12-99.84)	99.11 (95.12-99.84)	99.11 (95.12-99.84)	98.95 (94.28-99.81)	98.82 (93.63-99.79)
Valor Predictivo Positivo	NR	98.51 (92.02-99.74)	98.39 (91.41-99.71)	98.04 (89.70-99.65)	98.31 (91.00-99.70)	97.96 (89.31-99.64)
Valor Predictivo Negativo	NR	79.86 (72.43-85.68)	94.07 (88.26-97.10)	98.23 (93.78-99.51)	80.34 (72.23-86.53)	82.35 (73.82-88.54)

NR: No reportado

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

Tabla 7: Comparación de desempeño para CORIS COVID-19 Ag Respi-Strip

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct <25 (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	91.2 (75.0-78.0)	57.14 (46.01-67.60)	74.14 (61.62-83.65)	86.36 (73.29-93.60)	57.58 (45.56-68.76)	51.85 (38.85-64.61)
Especificidad	99.4 (96.0-100.0)	99.13 (95.24-99.85)	99.13 (95.24-99.85)	99.13 (95.24-99.85)	100.00 (96.23-100.00)	100.00 (95.63-100.00)
Valor Predictivo Positivo	96.9 (82-100.00)	97.78 (88.43-99.61)	97.73 (88.19-99.60)	97.44 (86.82-99.55)	100.00 (90.82-100.00)	100.00 (87.94-100.00)
Valor Predictivo Negativo	98.1 (94-100.00)	77.55 (70.15-83.54)	88.37 (81.70-92.83)	95.00 (89.52-97.69)	77.78 (69.76-84.15)	76.36 (67.62-83.33)

NR: No reportado

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

Tabla 8: Comparación de desempeño para Genedia W COVID-19 Ag

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct <25 (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	90.1 (85.10-93.80)	64.63 (53.84-74.11)	80.95 (69.59-88.75)	90.38 (79.39-95.82)	67.11 (55.94-76.62)	69.23 (57.20-79.11)
Especificidad	100.0 (98.40-100.00)	99.17 (95.47-99.85)	99.17 (95.47-99.85)	99.17 (95.47-99.85)	99.00 (94.55-99.82)	100.00 (96.11-100.00)
Valor Predictivo Positivo	NR	98.15 (90.23-99.67)	98.08 (89.88-99.66)	97.92 (89.10-89.63)	98.08 (89.88-99.66)	100.00 (92.13-100.00)
Valor Predictivo Negativo	NR	80.54 (73.45-86.09)	90.91 (84.78-94.72)	96.00 (90.98-98.28)	79.84 (71.93-85.95)	82.61 (74.66-88.45)

NR: No reportado

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

Tabla 9: Comparación de desempeño para Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct<25 (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	Ct ≤ 30: 86.57 Ct ≤ 36: 70.09	75.71 (64.50-84.25)	85.45 (73.84-92.44)	95.00 (83.50-98.62)	76.27 (64.02-85.31)	72.73 (60.96-82.00)
Especificidad	98.44	99.24 (95.83-99.87)	99.24 (95.83-99.87)	99.24 (95.83-99.87)	99.20 (95.61-99.86)	98.82 (93.63-99.79)
Valor Predictivo Positivo	NR	98.15 (90.23-99.67)	97.92 (89.10-99.63)	97.44 (86.82-99.55)	97.83 (88.66-99.62)	97.96 (89.31-99.64)
Valor Predictivo Negativo	NR	88.51 (82.37-92.70)	94.24 (89.05-97.06)	98.50 (94.68-99.59)	89.86 (83.39-93.86)	82.35 (73.82-88.54)

NR: No reportado

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

Tabla 10: Comparación de desempeño para Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct<25 (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	93.3 (83.80-98.20)	63.53 (52.92-72.97)	91.53 (81.65-96.33)	94.00 (83.78-97.94)	67.61 (56.06-77.34)	64.52 (52.08-75.26)
Especificidad	99.4 (97.00-100.00)	99.12 (95.20-99.84)	99.12 (95.20-99.84)	99.12 (95.20-99.84)	100.00 (95.99-100.00)	100.00 (95.31-100.00)
Valor Predictivo Positivo	NR	98.18 (90.39-99.68)	98.18 (90.39-99.68)	97.92 (89.10-99.63)	100.00 (92.59-100.00)	100.00 (91.24-100.00)
Valor Predictivo Negativo	NR	78.47 (71.07-84.40)	95.76 (90.46-98.18)	97.41 (92.67-99.12)	80.00 (71.77-86.29)	78.00 (68.93-85.00)

NR: No reportado

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

Tabla 11: Comparación de desempeño para PCL COVID-19 Ag Gold Saliva

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct<25 (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	94.29 (80.84-99.30)	36.23 (25.90-48.02)	44.44 (32.00-57.62)	44.44 (30.94-58.82)	38.18 (26.52-51.39)	41.30 (28.29-55.66)
Especificidad	100 (94.87-100.00)	100.00 (97.23-100.00)	100.00 (97.23-100.00)	100.00 (97.23-100.00)	100.00 (96.26-100.00)	100.00 (95.86-100.00)
Valor Predictivo Positivo	NR	100.00 (86.68-100.00)	100.00 (86.20-100.00)	100.00 (83.89-100.00)	100.00 (84.54-100.00)	100.00 (83.18-100.00)
Valor Predictivo Negativo	NR	75.42 (68.62-81.15)	81.82 (75.23-86.96)	84.38 (77.95-89.19)	74.44 (66.41-81.09)	76.72 (68.25-83.48)

NR: No reportado

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

Tabla 12: Comparación de desempeño para ROCHE SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct<25 (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	96.52 (91.33-99.04)	74.16 (64.20-82.12)	87.84 (78.47-93.47)	98.25 (90.71-99.69)	76.92 (66.44-84.87)	79.17 (68.43-86.95)
Especificidad	99.68 (98.22-99.99)	99.12 (95.16-99.84)	99.12 (95.16-99.84)	99.12 (95.16-99.84)	98.91 (94.10-99.81)	98.73 (93.17-99.78)
Valor Predictivo Positivo	NR	98.51 (92.02-99.74)	98.48 (91.90-99.73)	98.25 (90.71-99.69)	98.36 (91.28-99.71)	98.28 (90.86-99.70)
Valor Predictivo Negativo	NR	82.96 (75.73-88.37)	92.56 (86.47-96.04)	99.12 (95.16-99.84)	83.49 (75.40-89.29)	83.87 (75.08-89.98)

NR: No reportado

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

Tabla 13: Comparación de desempeño para Kit Rapid Detection of SARS-CoV-2 Veritor

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct<25 (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	84.0 (67.00-93.00)	65.82 (54.08-75.33)	83.33 (71.97-90.69)	90.38 (79.39-95.82)	68.57 (56.97-78.44)	66.67 (54.37-77.05)
Especificidad	100 (98.00-100.00)	99.21 (95.64-99.86)	99.21 (95.64-99.86)	99.17 (95.47-99.85)	99.01 (94.60-99.83)	98.90 (94.03-99.81)
Valor Predictivo Positivo	100 (89.00-100.00)	98.11 (90.06-99.67)	98.04 (89.70-99.65)	97.92 (89.10-99.63)	97.96 (89.31-99.64)	97.67 (87.94-99.59)
Valor Predictivo Negativo	97.5 (95.00-99.00)	82.24 (75.39-87.50)	92.59 (86.90-95.93)	96.00 (90.98-98.28)	81.97 (74.20-87.78)	81.08 (72.80-87.28)

Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación

Discusión de resultados

En este estudio se determinaron los parámetros de desempeño (sensibilidad, especificidad y valores predictivos), de ocho marcas distintas de PDR-Ag para COVID-19, siendo estas: Anaquick COVID-19 Antígeno, Genedia W COVID-19 Ag, Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test, PCL COVID19 Ag Gold Saliva, Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device, Coris COVID-19 Ag Respi-Strip, Roche SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test y Sistema BD Veritor; comparando cada una contra los resultados de RT-PCR protocolo *Charité in house*, Alemania.

Fueron analizadas un total de 1,478 muestras respiratorias y 210 muestras de saliva provenientes de pacientes que cumplieron con la definición de caso sospechoso, de acuerdo con la guía epidemiológica del 22 de febrero del año en curso del Departamento de Epidemiología, con solicitud de análisis para prueba de COVID-19. De estas únicamente fueron tomadas en consideración 1,612, debido a que 76 resultados fueron inválidos o indeterminados para RT-PCR. En el caso de los RT-PCR inválidos, el control interno de la prueba no amplificó lo cual es indicativo de muestras no adecuadas para el análisis.

Con respecto a los parámetros de desempeño generales de las PDR-Ag (sensibilidad y especificidad), Anaquick COVID-19 Antígeno presentó una sensibilidad de 70.21%, Genedia W COVID-19 Ag de 64.63%, Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test de 75.71%, PCL COVID19 Ag Gold Saliva de 36.23%, Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device de 63.53%, Coris COVID-19 Ag Respi-Strip de 57.14%, Roche SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test de 74.16% y Sistema BD Veritor de 65.82%. Las ocho marcas presentaron una sensibilidad más baja de la reportada por el fabricante (ver tabla 5).

Con respecto a la especificidad obtenida para cada una de las marcas de PDR-Ag, en la tabla 5 se puede observar que todas las pruebas presentaron un valor similar al reportado por el fabricante.

FIND ha realizado evaluaciones independientes de dos marcas evaluadas en este estudio. En la evaluación diagnóstica prospectiva, para la prueba Coris COVID-19 Ag Respi-Strip, en la que participaron instituciones de Alemania y Reino Unido, Alemania estimó una sensibilidad clínica de 50% (IC95% de 21.5-78.5) y especificidad de 95.8% (IC95% 93.4- 97.4); Reino Unido reportó una sensibilidad de 30.2% (IC95% 21.7-39.9) y especificidad de 100%. En ambos estudios la prueba fue evaluada a partir del medio de transporte viral. Para Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device, la evaluación de FIND realizada en Suiza y Alemania, estimó una sensibilidad clínica de 85.5% (IC95% de 78.2-90.6) y de 86.8% (IC95% de 79 - 92) respectivamente. La especificidad reportada en Suiza fue de 100% (IC95% 99.1-100) y en Alemania de 99.9% (IC95% 99.4-100%). La diferencia entre la sensibilidad clínica reportada estos países y la reportada en este estudio puede deberse a que se utilizaron metodologías de RT-PCR diferentes como estándar de oro. Asimismo, existen diferencias en el porcentaje de positividad entre las poblaciones evaluadas, así como la distribución de pacientes con alta y baja carga viral. Por último, dos evaluaciones de desempeño independientes publicada en las revistas *Journal of clinical microbiology* 75.5% (IC95% de 69.5-81.5) y *Clinical microbiology and infection* 79.6% (IC95% de 67.0-88.8) reportan resultados similares a los de este estudio.

Para Anaquick COVID-19 Antígeno, Genedia W COVID-19 Ag, Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test, PCL COVID19 Ag Gold Saliva, Roche SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test y Sistema BD Veritor no hay información disponible en la página (FIND, 2021). Asimismo, para las pruebas Anaquick COVID-19 Antígeno, Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test y PCL COVID19 Ag Gold Saliva no se encontraron estudios prospectivos independientes.

Según el *European Center for Disease Prevention and Control, ECDC*, los especímenes provenientes de hisopado nasofaríngeo continúan siendo el estándar de oro para RT-PCR y PDR-Ag COVID-19. La muestra de saliva ha sido validada con diversos protocolos para su uso como especímenes para el RT-PCR, no así para las PDR-Ag. Otras de las limitaciones para su uso es que, la toma de muestra de saliva, debe ser realizada por el paciente, lo cual no garantiza una recolección adecuada y, a diferencia del RT-PCR el control interno de las PDR-Ag no garantiza la calidad de la muestra, únicamente el funcionamiento del casete. Adicionalmente, datos no publicados de la Unión Europea han demostrado una disminución en la sensibilidad de las PDR-Ag en comparación con

el RT-PCR cuando la saliva es utilizada como muestra (ECDC, 2021).

Los factores anteriormente mencionados, podrían haber afectado el desempeño clínico determinado por el LNS para la prueba PCL COVID19 Ag Gold Saliva con un valor de sensibilidad de 36.23% (IC95% 25.90-48.02).

Con respecto al uso de muestra de hisopado nasal, la baja sensibilidad observada en la PDR-Ag Sistema BD Veritor de 65.82% (IC95% 54.08 -75.33), también ha sido reportada en otros estudios independientes como el publicado en el *Journal of Clinical Microbiology* en el que se reportó una sensibilidad del 66.4% (Kilic, Hiestand & Palavencio, 2021).

De acuerdo con CDC, es aceptable que las especificaciones de desempeño determinadas por el laboratorio evaluador difieran con las reportadas por el fabricante, siempre y cuando estos no se encuentren por debajo de los requerimientos de desempeño regulatorios (CDC, 2020). La variación en los parámetros de desempeño puede ser influenciada por varios factores entre estos, día de inicio de síntomas, toma de muestra y factores del virus como la concentración y la duración de la excreción de antígenos virales (OMS, 2020).

Siguiendo con las recomendaciones generales realizadas por la OMS para las PDR-Ag COVID-19, estas deben cumplir con requisitos mínimos de rendimiento, sensibilidad $\geq 80\%$ y especificidad $\geq 97\%$, en comparación con un análisis de referencia basado en una PAAN. De acuerdo con los resultados generales obtenidos en este estudio, ninguna de las PDR-Ag cumple con estas recomendaciones (OMS, 2020).

Como se puede observar en las tablas de resultados 6 a la 13, todas las PDR-Ag evaluadas mejoran su desempeño analítico cuando son realizadas en pacientes en los que el ciclo umbral (Ct) de la RT-PCR se encuentra por debajo de 25-30. Según la literatura, estos valores de Ct se correlacionan con viremias elevadas en muestras del tracto respiratorio superior y, en consecuencia, aumenta la sensibilidad de las PDR-Ag. Cuando se analizan los datos de desempeño de las PDR-Ag a Ct por debajo de 25, todas las pruebas cumplen con las recomendaciones de la OMS, a excepción de PCL COVID19 Ag Gold Saliva (OMS, 2020a).

Generalmente, los valores de Ct < 25 aparecen en las fases sintomáticas iniciales de la enfermedad (en los primeros 5 a 7 días). Lo cual, indica que si las PDR-Ag que cumplen con los parámetros establecidos por OMS, son utilizadas adecuadamente en población sintomática, pueden apoyar en una detección precoz de la enfermedad e interrumpir la transmisión por medio del aislamiento.

Con respecto al análisis realizado por día de aparición de síntomas, como se observa en las tablas de la 6 a la 13, la sensibilidad de algunas PDR-Ag mejora cuando el inicio de síntomas reportado por el paciente es menor o igual a 7 días y la especificidad se mantiene. Según las recomendaciones de la OMS, las pruebas deben ser utilizadas en un plazo máximo de 5 a 7 días desde el inicio de síntomas, lo cual se correlaciona con viremias elevadas al igual que en el caso de Ct <25. Sin embargo, como se observa en las tablas de resultados, la variación en la sensibilidad estratificada por día de síntomas es menor a la observada cuando los resultados son estratificados por Ct. Esto puede explicarse por la calidad de los datos utilizados, ya que son subjetivos y dependen de lo indicado por el paciente, su sistema inmunitario, entre otros. También es importante mencionar, que los datos utilizados para la obtención de la información (fichas epidemiológicas, historia clínica, entre otros) no suelen estar llenados adecuadamente. Lo cual demuestra la importancia de clasificación o tamizaje de pacientes y un adecuado llenado de los instrumentos de recolección de datos y fichas epidemiológicas.

De acuerdo con la información recuperada del Tablero COVID-19, la proporción de casos positivos a la segunda semana de junio es de 18.1% de los casos tamizados acumulados registrados (MSPAS, 2021). La estrategia de muestreo del Departamento de Epidemiología está enfocada en la búsqueda activa de casos sospechosos, muestreo de contactos y priorización de grupos (Departamento de Epidemiología, 2021). El ECDC clasifica esta población diana en un rango de prevalencia alto (10 - \geq 30%), lo cual se correlaciona con el elevado VPP observado para las PDR-Ag durante este estudio (European Center for Disease Prevention and Control [ECDC], 2020).

Es importante mencionar que, en condiciones de alta prevalencia, un resultado positivo de la PDR-Ag puede ser interpretado como confirmatorio de la enfermedad COVID-19, incluso con parámetros de desempeño inferiores al RT-PCR y no requiere confirmación por PAAN.

Por el contrario, los resultados obtenidos en este estudio tanto para sensibilidad como para VPN de las PDR-Ag, resaltan la importancia de la confirmación de todo resultado negativo obtenido por una PAAN, según lo indica el algoritmo nacional de diagnóstico actual, ya que, incluso utilizando las PDR-Ag en población diana con una elevada prevalencia, tanto la sensibilidad como el VPN de las pruebas es bajo.

Conclusiones

- 1 La sensibilidad analítica general para Anaquick COVID-19 Antígeno obtenida fue de 70.21%, especificidad de 99.11%, VPP de 98.51%, VPN de 79.86%.
- 2 La sensibilidad analítica general para Genedia W COVID-19 Ag obtenida fue de 64.63%, especificidad de 99.17%, VPP de 98.15%, VPN de 80.54%.
- 3 La sensibilidad analítica general para Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test obtenida fue de 75.71%, especificidad de 99.24%, VPP de 98.15%, VPN de 88.51%.
- 4 La sensibilidad analítica general para PCL COVID19 Ag Gold Saliva obtenida fue de 36.23%, especificidad de 100%, VPP de 100%, VPN de 75.42%.
- 5 La sensibilidad analítica general para Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device obtenida fue de 63.53%, especificidad de 99.12%, VPP de 98.18%, VPN de 78.47%.
- 6 La sensibilidad analítica general para Coris COVID-19 Ag Respi-Strip obtenida fue de 57.14%, especificidad de 99.13%, VPP de 97.78%, VPN de 77.50%.
- 7 La sensibilidad analítica general para Roche SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test obtenida fue de 74.16%, especificidad de 99.12%, VPP de 98.51%, VPN de 82.96%.
- 8 La sensibilidad analítica general para Sistema BD Veritor obtenida fue de 65.82%, especificidad de 99.21%, VPP de 98.11%, VPN de 82.24%.
- 9 El desempeño clínico de las PDR-Ag evaluadas en este estudio cumple las recomendaciones de la OMS a Ct <25, a excepción de PCL COVID19 Ag Gold Saliva.

Recomendaciones

- De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, es necesario continuar confirmando los resultados negativos obtenidos por PDR-Ag con una PAAN.
- La diferencia entre los parámetros de desempeño reportados en este estudio y los reportados por el fabricante, recalcan la importancia de realizar evaluaciones de desempeño de forma periódica de las metodologías que puedan ser utilizadas en algoritmos diagnósticos para enfermedades infecciosas de notificación obligatoria y emergentes.

Bibliografía

- Albert, E., Torres, I., Bueno, F., Huntley, D., Molla, E., Fuentes, M., Martínez, M., Poujois, S., Forqué, L., Valdivia, A., Asunción, C., Ferrer, J., Colomina, J., & Navarro, D. (2021). Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(3), 472.e7-472.e10.
- Centers for disease control and prevention –CDC-. (2021a). Interim Guidance for Antigen Testing for SARS-CoV-2. 1-11.
- Center for disease control and prevention -CDC-. (2020a). Interim Guidance for Antigen Testing for SARS-CoV-2. 1-8.
- Center for disease control and prevention -CDC-. (2020b). Validation and Verification of In Vitro Diagnostic and Serologic Tests for SARS-CoV-2 Virus and Antibody Detection FAQs.
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K. W., ... Drosten, C. (2020). Detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25(3), <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
- Departamento de Epidemiología. (2021). *Guía de Vigilancia Epidemiológica por COVID-19*. Guatemala. epidemiologia.mspas.gob.gt/informacion/coronavirus-2019-ncov/descargas-coronavirus-covid-19?download=147:guia-epidemiologica-por-covid-19-actualizada-al-23-de-febrero-de-2021

European Center for Disease Prevention and Control. (2021). *Considerations for the use of saliva as sample material for COVID-19 testing*. Editorial Stockholm. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/covid-19-use-saliva-sample-material-testing.pdf>

European Center for Disease Prevention and Control (2020). *Technical Report: Options for the use of rapid antigen tests for COVID-19 in the EU / EEA and the UK*. https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Options-use-of-rapid-antigen-tests-for-COVID-19_0.pdf

Fundación para la Obtención de Medios de Diagnóstico Innovadores (2020). *Comparative evaluation of lateral flow assay tests that directly antigens of SARS-CoV-2*. 1-3.

Hanson, K. E., Caliendo, A. M., Arias, C. A., Englund, J. A., Lee, M. J., Loeb, M., ... Mustafa, R. A. (2020). Infectious Diseases Society of America guidelines on the diagnosis of COVID-19. *Clinical Infectious Diseases*, 16, ciaa760. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa760>

Johns Hopkins University. (2019-2020). <https://coronavirus.jhu.edu/>

Kilic, A., Hiestand, B., & Palavecino, E. (2021). Evaluation of Performance of the BD Veritor SARS-CoV-2 Chromatographic Immunoassay Test in Patients with Symptoms of COVID-19. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(5), e00260-21

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2021). *Situación de COVID-19 en Guatemala*. Guatemala. <https://tablerocovid.mspas.gob.gt/>

Oficina de Acreditación de Guatemala. "Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo", OGA-GEC-216. Guatemala. Enero 2007. Versión 1. [Sept 2020].

Organización Panamericana de la Salud. (2020). *Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19*. (julio), 1–11.

Organización Mundial de la Salud. (2020). *Detección de antígenos para el diagnóstico de la infección por el SARS-CoV-2 mediante inmunoanálisis rápidos*. (septiembre), 1–11.

Perera, N. (2020). Diagnosis of COVID-19: the present and the future. *Journal of the Ceylon College of Physicians*, 51(1), pp.48–52. <http://doi.org/10.4038/iccp.v51i1.7887>

Weitzela, T., Legarragaa, P., Iruretagoyenaa, M., Pizarroa, G., Vollratha, V., Araosb, R., Munita, J., Port, L. (2020). Head-to-head comparison of four antigen-based rapid detection tests for the diagnosis of 1 SARS-CoV-2 in respiratory samples. 17/08/2020, de bioRxiv Sitio web: <https://doi.org/10.1101/2020.05.27.119255pOR>

World Health Organization. (2020). Critical preparedness, readiness, and response actions for COVID-19, (March), 1–3.

Yerushalmy, J. (1947). Statistical Problems in Assessing Methods of Medical Diagnosis, with Special Reference to X-Ray Techniques. *Public Health Reports (1896-1970)*, 62(40), 1432-1449. doi:10.2307/4586294

Younes, N., Al-Sadeq, D. W., Al-Jighefee, H., Younes, S., Al-Jamal, O., Daas, H. I., ... Nasrallah, G. K. (2020). Challenges in laboratory diagnosis of the novel coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses*, 12(6), 582. <https://doi.org/10.3390/v12060582>

ANEXO 1

ANAQUICK COVID-19 Ag

Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

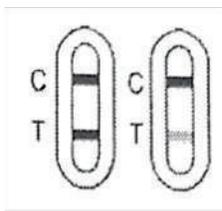
○ Fundamento

ANAQUICK COVID-19 Ag es un inmunoensayo cualitativo basado en membrana para la detección de antígenos del SARS-CoV-2 en una muestra de hisopado nasofaríngeo humano. El anticuerpo SARS-CoV-2 se recubre en la región de la línea de prueba. La muestra reacciona con partículas recubiertas de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en la prueba. Luego la mezcla migra hacia arriba en la membrana por acción capilar y reacciona con el anticuerpo SARS-CoV-2 en la región de la línea de prueba "T" apareciendo una línea en ésta región, si existe presencia de antígenos de SARS-CoV-2. Así mismo aparecerá una línea de color en la región control "C" indicando que se agregó el volumen adecuado de muestra y se absorbió en la membrana. La prueba contiene anticuerpo anti-SARS-CoV-2 como reactivo de captura y anticuerpo anti SARS-CoV-2 como reactivo de detección.

Se añaden 3 gotas de la muestra extraída al pozo del dispositivo. Esperar 15 minutos para interpretar el resultado.

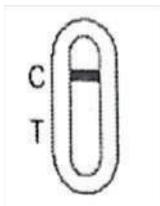
■ Interpretación de Resultados

POSITIVO: Dos líneas; una en la línea de test "T" y una en la línea control "C"

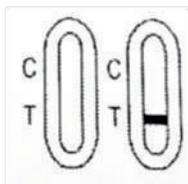


Nota: La intensidad del color de la región de la línea de prueba (T) variará según la cantidad de antígeno COVID-19 presente en la muestra. Cualquier tono de color en la región de la prueba (T) se considera POSITIVO.

NEGATIVO: Una sola banda en la línea control "C"



INVÁLIDO: Sin línea "C" en la ventana de resultados, independientemente de que aparezca la línea "T", se recomienda repetir la prueba con una nueva muestra.



Limitaciones

No seguir el procedimiento de recolección de muestra, puede dar resultados inexactos.

Los medios de transporte viral pueden afectar el resultado de la prueba, por lo cual no deben utilizarse para esta prueba.

Esta prueba es únicamente para uso diagnóstico in vitro. Debe usarse para la detección de antígenos del SARS-CoV-2 en muestras de hisopado nasofaríngeo humano como ayuda en el diagnóstico de pacientes con sospecha de infección por SARS-CoV-2 junto con la presentación clínica y los resultados de otras pruebas de laboratorio.

Es una prueba específicamente cualitativa, indicando únicamente la presencia o ausencia de antígenos del SARS-CoV-2 y no debe usarse como único criterio diagnóstico.

Si el resultado es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda volver a tomar una muestra del paciente unos días después y volver a realizar la prueba o realizar una prueba de diagnóstico molecular.

Si la concentración de los antígenos del nuevo coronavirus es inferior al límite de detección de la prueba, el resultado será falso negativo. Por lo cual, los resultados negativos no descartan la infección por SARS-CoV-2.

El exceso de sangre o mucina en la muestra, puede interferir en el rendimiento de la prueba, produciendo un resultado falso positivo. Resultados positivos de COVID-19 pueden deberse a una infección con cepas de coronavirus distintas del SARS-CoV-2 u otros factores de interferencia. Los falsos negativos pueden resultar de una recolección o almacenamiento inadecuado de la muestra.

Adaptado de: (2020)

ANEXO 1

GENEDIA W COVID-19 Ag

Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

○ Fundamento

GENEDIA COVID-19 Ag es un kit de ensayo de inmunocromatografía para la determinación rápida y cualitativa de la infección por SARS-CoV-2 a partir de muestras de hisopado nasofaríngeo. Contienen una tira de membrana la cual se encuentra inmovilizada con el anticuerpo monoclonal anti SARS-CoV-2 en la línea de prueba (T) e IgG anti-ratón de cabra en la línea control (C). Cuando la muestra junto con la solución de extracción, se aplican al pocillo de la muestra, ésta se mueve a través de la almohadilla conjugada de oro y reacciona con el conjugado de oro acoplado al anticuerpo monoclonal anti-SARS-CoV-2 seguido de una reacción con el anti-SARS-CoV-2 anticuerpo monoclonal inmovilizado en la línea de prueba, haciendo visible la línea (T); así mismo se produce una banda en la región control (C) al continuar la migración y encontrar el reactivo de control que se une a un conjugado de control.

Se añaden 3 gotas de la solución de extracción con la muestra en el pozo del dispositivo. Esperar 10 minutos para interpretar el resultado.

■ Interpretación de Resultados

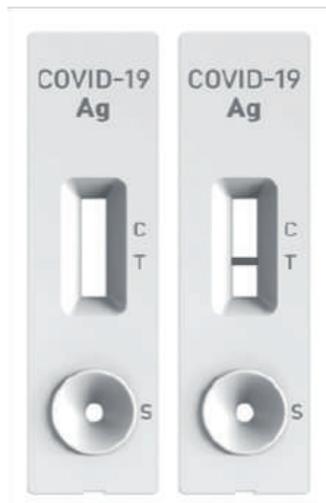
Positivo: Dos líneas; una en la línea de test “T” y una en la línea control “C”



Negativo: Una sola banda en la línea control “C”



Inválido: Sin línea “C” en la ventana de resultados, independientemente de que aparezca la línea “T”, se recomienda repetir la prueba con una nueva muestra.



Limitaciones:

No se excluye la posibilidad de un resultado falso positivo o falso negativo causado por varios factores. Tome una decisión final considerando en conjunto, el resultado de la prueba, la manifestación clínica, el resultado de otras pruebas y la opinión del médico.

Los resultados positivos de las pruebas no descartan coinfecciones con otros patógenos.

Puede producirse un resultado negativo de la prueba si el nivel de antígeno en la muestra está por debajo del límite de detección de la prueba o si se obtuvo o se transportó incorrectamente.

Las muestras recolectadas después del día 5 de la enfermedad tienen más probabilidades de ser negativas en comparación con un ensayo de RT-PCR.

Adaptado de: Green Cross Medical Science Corp (2020)

ANEXO 1

Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test Watmind

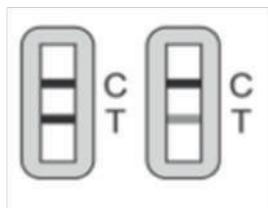
*Información de ejecución e interpretación
de resultados proporcionada en los inser-
tos de cada una de las pruebas evaluadas*

○ Fundamento

Human GmbH SARS-CoV-2 Ag Rapid Test, es un inmunoensayo tipo sandwich de anticuerpos doble mejorado con oro coloidal para la determinación cualitativa del antígeno de SARS-CoV-2 en muestras humanas de hisopado nasofaríngeo. Los anticuerpos del SARS-CoV-2 se inmovilizan en la región de prueba en la membrana de nitrocelulosa. Si la muestra contiene el antígeno del SARS-CoV-2 durante el ensayo, se permite que la muestra del ensayo reaccione con el conjugado de color (conjugado de oro coloidal del anticuerpo del SARS-CoV-2); a continuación, la mezcla migra cromatográficamente en la membrana por acción capilar. Una muestra positiva del SARS-CoV-2 genera una banda de color distinta en la región de prueba, al formarse el complejo conjugado de color del antígeno del anticuerpo “(Au-SARS-CoV-2-Ab)-(SARS-CoV-2-Ab)”. Siempre aparecerá una banda de color en la región control que sirve como control de procedimiento tanto si la muestra contiene o no SARS-CoV-2.

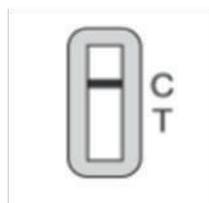
■ Interpretación de Resultados

Positivo: aparecen dos bandas moradas, en la línea de prueba (T) y en la línea de control (C).

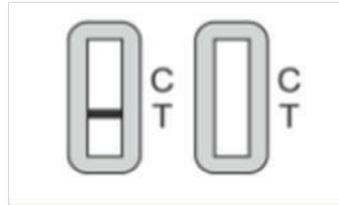


Nota: la banda morada del área de prueba “T” puede variar en intensidad del color. No obstante, durante el tiempo de observación especificado, sea cual sea el color de la franja, se deberá considerar como resultado positivo incluso cuando el color sea muy débil.

Negativo: Una banda de color rojo en la posición de la línea control “C, indica que no se ha detectado el antígeno de SARS-CoV-2.



Inválido: Si al cabo de 20 minutos no ha aparecido una banda de color rojo en la posición de la línea de control “C”, el resultado se considera válido independientemente del resultado que aparezca en la posición de la línea analítica. Si la prueba no es válida hay que repetirla con una nueva muestra del paciente y un nuevo dispositivo de prueba.



Limitaciones:

El resultado debe usarse como referencia clínica emitiendo una evaluación médica junto con los resultados de la RT-PCR, síntomas clínicos, condición de la epidemia y otros datos clínicos.

Los resultados negativos de pacientes que presenten síntomas desde hace más de 7 días deben tratarse como hipotéticos y deberán confirmarse mediante pruebas moleculares. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección.

Esta prueba solamente detecta cualitativamente antígenos del SARS-CoV-2 en hisopado nasofaríngeo u orofaríngeo humano y muestras de esputos profundos. No determina el contenido del antígeno concreto en la muestra. Además, pueden existir reacciones cruzadas.

Se pueden producir falsos negativos por las siguientes causas: Inadecuada toma de muestra, uso de solución inadecuada, tiempo de transferencia de la muestra demasiado largo (mayor a 30 minutos), volumen excesivo de solución al eluir el hisopo, operación de elución no estándar, poca concentración de virus en la muestra (debajo del límite de detección) y la mutación de los genes del virus, que cambien los epítomos del antígeno.

Se pueden producir falsos positivos por las siguientes causas: uso de otras soluciones de extracción y contaminación cruzada.

Se pueden producir resultados inválidos por las siguientes causas: volumen de muestra insuficiente o si el paquete del dispositivo de prueba está roto.

Adaptado de: Watmind (2020)

ANEXO 1

PCL COVID19 Ag Gold Saliva

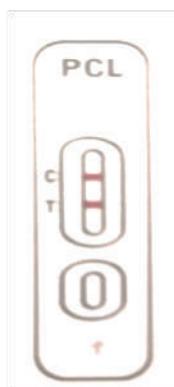
Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

○ Fundamento

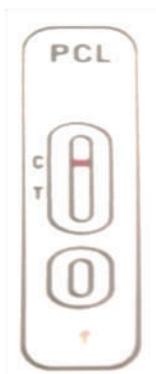
El anticuerpo COVID-19 de este producto está inmovilizado en la región de prueba de la membrana de nitrocelulosa. Cuando la muestra contiene un antígeno SARS-CoV-2, se une al conjugado (Conjugado anticuerpo COVID-19-oro) para formar un complejo que se mueve a lo largo de la membrana de nitrocelulosa por principio capilar y se inmoviliza con el anticuerpo COVID-19 inmovilizado en la región de prueba. Las respuestas inmunitarias antígeno-anticuerpo forman complejos dobles que aparecen en bandas de color formando una línea en el área del test "T" e independientemente de la presencia/ausencia del antígeno del SARS-CoV-2 se forma una banda de color en la región control "C".

■ Interpretación de Resultados

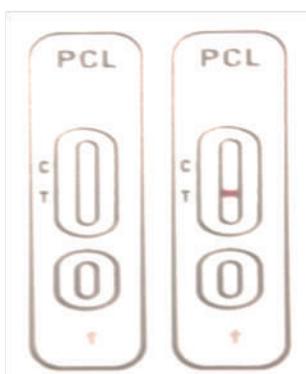
Positivo: aparecerá una línea de color rojo tanto en la sección control (C) como en la de Test (T)



Negativo: Solamente aparecerá una línea de color rojo en la sección de control (C)



Inválido: No aparece una línea de color rojo en (C).



Limitaciones

Los resultados no deben considerarse como absoluto y no deben ser la única base para el tratamiento o el manejo del paciente.

Este kit detecta tanto el SARS-CoV como el SARS-CoV-2, independientemente de su viabilidad pero no los diferencia entre ellos.

No se recomienda el uso en pacientes asintomáticos, solo se recomienda el uso en pacientes altamente sintomáticos.

Los resultados negativos no pueden descartar por completo la posibilidad de infección.

Esta prueba es cualitativa para antígeno de SARS-CoV-2 en muestras de saliva humana y no puede determinar la cantidad de antígeno específico en la muestra.

Adaptado de: LVL technologies GmbH & Co. (2020)

ANEXO 1

Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device

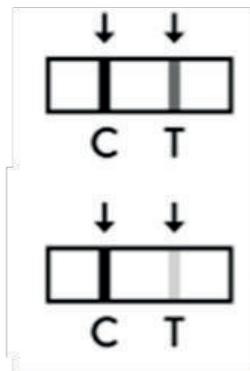
Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

○ Fundamento

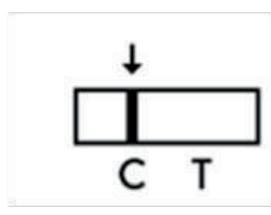
Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device contiene una tira de membrana, que está pre-revestida con anticuerpo anti-SARS-CoV-2 inmovilizado en la línea de prueba e IgY anti-pollo monoclonal de ratón en la línea de control. Dos tipos de conjugado (IgG humana específica para el conjugado de oro de SARS-CoV-2 Ag y el conjugado de oro de IgY de pollo) se desplazan hacia arriba en la membrana cromatográficamente y reaccionan con el anticuerpo anti-SARS-CoV-2 y el anticuerpo monoclonal de ratón IgY de pollo pre-revestido respectivamente. Si el resultado es positivo, la IgG humana específica para el conjugado de oro SARS-CoV-2 Ag y el anticuerpo anti-SARS-CoV-2 formarán una línea de prueba en la ventana de resultados. Se requiere una línea de control visible para indicar que el resultado de la prueba es válido.

■ Interpretación de Resultados

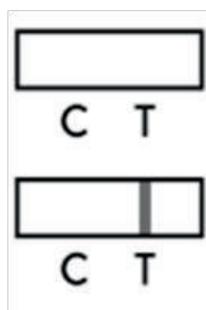
Positivo: la presencia de la línea (T) y la (C) dentro de la ventana de resultados, independientemente de la línea que aparezca primero, indica un resultado positivo.



Negativo: la presencia de solo la línea de control (C) y ninguna línea de prueba (T) dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.



Inválido: si la línea de control (C) no es visible dentro del resultado ventana después de realizar la prueba, el resultado es considerado inválido.



Limitaciones

El contenido de este kit está indicado para uso profesional y para la detección cualitativa del antígeno del SARSCoV-2 a partir de un hisopado nasofaríngeo. Otros tipos de muestras pueden dar lugar a resultados incorrectos y no deben utilizarse.

No seguir las instrucciones para el procedimiento de prueba y la interpretación de los resultados de la prueba puede afectar adversamente el desempeño de la prueba y/o producir resultados no válidos.

Puede producirse un resultado negativo de la prueba si la muestra se recogió, extrajo o transportó incorrectamente.

Un resultado negativo de la prueba no elimina la posibilidad de infección por SARS-CoV-2 y debe confirmarse mediante cultivo viral o un ensayo molecular o ELISA.

Los resultados positivos de las pruebas no descartan coinfecciones con otros patógenos.

Los resultados de la prueba deben evaluarse junto con otros datos clínicos disponibles para el médico.

La lectura de resultados de la prueba antes de 15 minutos o después de 20 minutos puede dar resultados incorrectos.

Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device no está destinado para detectar virus defectuosos (no infecciosos) en etapas tardías de la diseminación viral que podrían detectarse mediante pruebas moleculares de PCR.

ANEXO 1

COVID-19 Ag Respi-Strip CORIS BioConcept

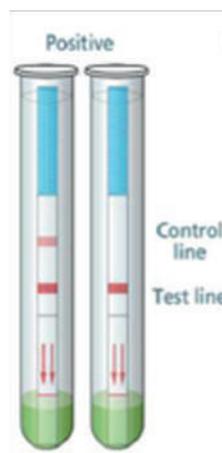
Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

○ Fundamento

CORIS-Ag Respi-Strip, se basa en una tecnología de membrana con nanopartículas de oro coloidal. Se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con anticuerpos monoclonales frente al antígeno de la nucleoproteína del SARS-CoV y el SARS-CoV-2, altamente conservado. Otro anticuerpo monoclonal se conjuga con nanopartículas de oro coloidal. El conjugado se inmoviliza en una membrana. Cuando la secreción nasofaríngea entra en contacto con la tira, el conjugado solubilizado migra con la muestra mediante difusión pasiva y tanto el conjugado como el material de la muestra entran en contacto con el anticuerpo anti-SARS adsorbido en la tira de nitrocelulosa. Si la muestra contiene SARS-CoV-2, el complejo conjugado-SARS-CoV permanecerá unido al anticuerpo anti-SARS-CoV-2 inmovilizado en la nitrocelulosa.

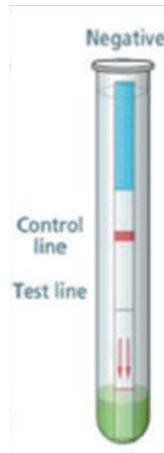
■ Interpretación de Resultados

Positivo: aparece una banda púrpura rojiza en la posición de la línea de prueba (T). La aparición de una banda débil, debe considerarse un resultado positivo.



Nota: En caso de un resultado fuertemente positivo, la línea control podría ser débil e incluso no aparecer. Sin embargo, si la banda (T) es positiva, debe considerarse una prueba positiva auténtica, incluso sin la línea control.

Negativo: aparece sólo una banda púrpura rojiza en la posición de la línea (C).



Inválido: Una tira en la que no aparezca banda de control al cabo de 15-30 minutos debe considerarse como un resultado inválido.

Limitaciones

Es prueba cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra.

Debe tenerse en cuenta la presentación clínica y los resultados de otras pruebas para establecer un diagnóstico.

Una prueba positiva no descarta la posibilidad de la presencia otros patógenos presentes.

Es una prueba de tamizaje para la fase aguda. Las muestras obtenidas tras esta fase pueden contener títulos de antígenos inferiores al umbral de sensibilidad del reactivo.

Si una muestra da resultado negativo a pesar de los síntomas observados, deberán realizarse otras pruebas pertinentes para comprobar la muestra.

Adaptado de: Coris BioConcept (2020)

ANEXO 1

SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test SD Biosensor

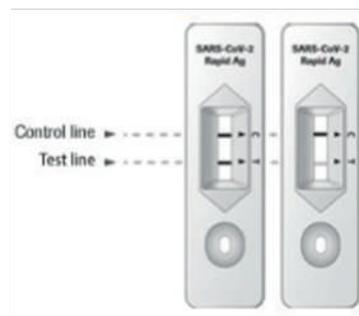
Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

○ Fundamento

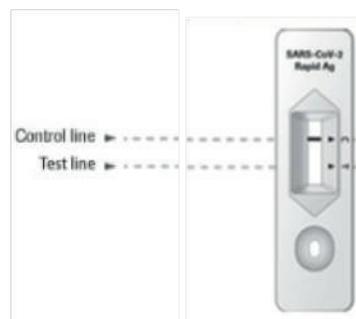
El SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test presenta dos líneas prerrecubiertas: la línea de control “C” y la línea del test “T” en la superficie de la membrana de nitrocelulosa. Ni la línea de control ni la línea del test son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar las muestras. El anticuerpo monoclonal de ratón anti-pollo IgY está revestido en la región de la línea de control. El anticuerpo monoclonal de ratón anti-SARS-CoV-2 conjugado con partículas de color se utiliza como detector para el dispositivo de antígeno específico de SARS-CoV-2. Durante el test, el antígeno SARS CoV 2 de la muestra interactúa con el anticuerpo monoclonal antiSARS CoV 2 conjugado con partículas de color para formar un complejo antígeno anticuerpo con partículas de color. Este complejo migra en la membrana a través de la acción capilar hasta la línea de test, donde es capturado por el anticuerpo monoclonal de ratón anti SARS CoV 2. La línea de test de color se vuelve visible en la ventana de resultados cuando se detecta la presencia de antígenos específicos de SARS CoV 2 en la muestra. La intensidad de la línea de test de color depende de la cantidad de antígeno específico de SARS CoV 2 presente en la muestra.

■ Interpretación de Resultados

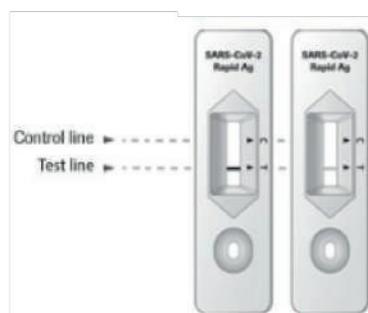
Positivo: debe aparecer una línea en la sección de control (C) y también una línea de color en la sección de Test (T), sin importar si la intensidad es tenue.



Negativo: debe aparecer una línea en la sección de control (C) y no aparecerá una línea de color en (T)



Inválido: No aparece una línea de color en (C).



Limitaciones

Esta prueba es cualitativa, por lo que no permite determinar valores cuantitativos de la concentración de antígeno de SARS-CoV-2.

No es posible valorar la respuesta inmune con este test, sino que se necesitan otros métodos de análisis.

El resultado del test no debe utilizarse exclusivamente para la determinación del tratamiento las decisiones sobre la gestión de los pacientes, sino que debe interpretarse en el contexto de las exposiciones recientes del paciente, su historial y la presencia de signos y síntomas clínicos coherentes con COVID-19.

Puede obtenerse un resultado negativo si la concentración de antígeno de una muestra es inferior al límite de detección o si los procedimientos de obtención y transporte de la muestra no se han realizado correctamente. Por lo tanto, un resultado negativo del test no excluye la posibilidad de una infección por SARS-CoV-2 y debería confirmarse mediante un ensayo molecular.

Los resultados positivos de test no descartan infecciones simultáneas con otros patógenos.

Los resultados positivos de test no diferencian entre SARS-CoV-2 y SARS-CoV.

Adaptado de: SD Biosensor (2020)

ANEXO 1

BD Veritor™ System for Rapid Detector of SARS-CoV-2 with de BD Veritor™ Plus Analyzer

Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

Fundamento

El sistema BD Veritor consta de un instrumento de interpretación optoelectrónico exclusivo y de ensayos inmunocromatográficos para la detección cualitativa de antígenos de organismos patógenos en muestras procesadas a partir de muestras respiratorias. El sistema BD Veritor para la detección rápida de SARS-CoV-2 está diseñado para detectar la presencia o ausencia de proteínas de la nucleocápside del SARS-CoV-2 en muestras respiratorias de pacientes con signos y síntomas sospechosos de COVID-19. Cuando las muestras se procesan y se agregan al dispositivo de prueba, los antígenos del SARS-CoV-2 presentes en la muestra se unen a los anticuerpos conjugados con las partículas detectoras en la tira reactiva. Los complejos antígeno-conjugado migran a través de la tira reactiva al área de reacción y son capturados por una línea de anticuerpos unidos a la membrana.

Interpretación de Resultados

El analizador BD Veritor Plus determina un resultado positivo cuando el antígeno-conjugado se deposita en la posición de prueba "T" y la posición de control "C" en el dispositivo de ensayo. El instrumento analiza y corrige la unión no específica y detecta los positivos no reconocidos a simple vista para proporcionar un resultado objetivo.

Limitaciones

Los resultados positivos de las pruebas no descartan coinfecciones con otros patógenos.

Los resultados de la prueba BD Veritor System para la detección rápida de SARS-CoV-2 deben correlacionarse con la historia clínica, los datos epidemiológicos y otros datos disponibles para el médico que evalúa al paciente.

La cantidad de antígeno en una muestra puede disminuir a medida que aumenta la duración de la enfermedad. Es más probable que las muestras recolectadas después del día 5 de la enfermedad sean negativas en comparación con un ensayo de RT-PCR ya que el nivel de antígeno viral se encontrará por debajo del límite de detección de la prueba. Por lo que un resultado negativo no elimina la posibilidad de infección por SARS-CoV-2.

No seguir el procedimiento de prueba puede afectar negativamente el rendimiento de la prueba y/o invalidar el resultado de la prueba.

El contenido de este kit debe utilizarse para la detección cualitativa de antígenos del SARS-CoV-2 a partir de muestras de hisopos nasales únicamente.

El sistema BD Veritor para la detección rápida de SARS-Cov-2 puede detectar material de SARS-CoV-2 tanto viable como no viable. El rendimiento del sistema BD Veritor para la detección rápida del SARS-CoV-2 depende de la carga de antígeno y puede no correlacionarse con otros métodos de diagnóstico realizados en la misma muestra.

Los valores predictivos positivos y negativos dependen en gran medida de las tasas de prevalencia. Es más probable que los resultados positivos de las pruebas representen resultados falsos positivos durante períodos de poca o ninguna actividad del SARS-CoV-2 cuando la prevalencia de la enfermedad es baja. Los resultados falsos negativos de la prueba son más probables cuando la prevalencia de la enfermedad causada por el SARS-CoV-2 es alta.

Los anticuerpos monoclonales pueden no detectar, o detectar con menos sensibilidad, los virus del SARS-CoV-2 que han sufrido cambios menores de aminoácidos en la región del epítipo diana.

El rendimiento de esta prueba no se ha evaluado para su uso en pacientes sin signos y síntomas de infección respiratoria y el rendimiento puede diferir en individuos asintomáticos.

Se ha demostrado que la sensibilidad de la prueba después de los primeros cinco días del inicio de los síntomas disminuye en comparación con un ensayo RT-PCR SARS-CoV-2.

Los resultados negativos deben tratarse como presuntivos y confirmarse con un ensayo molecular si es necesario, para el manejo clínico, incluido el control de infecciones.

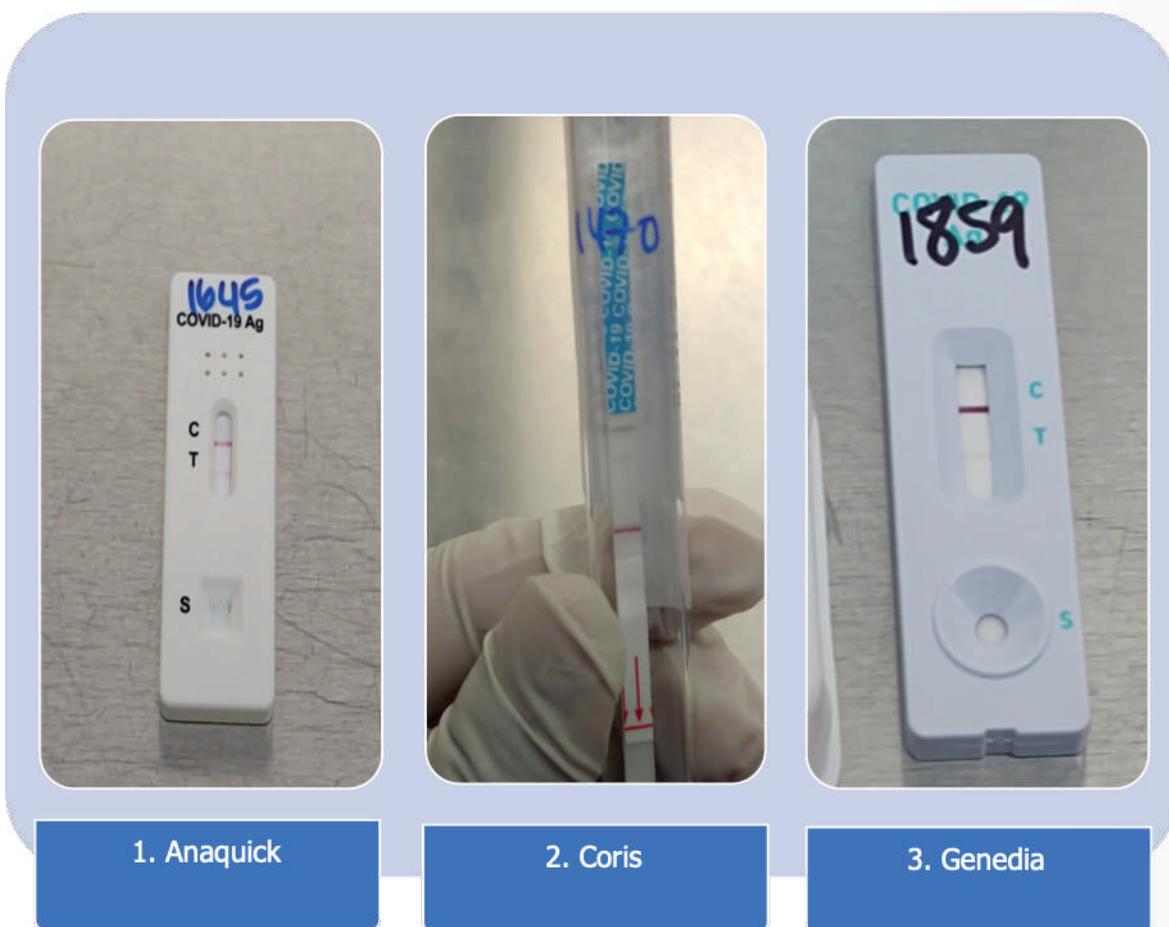
Las recomendaciones de estabilidad de las muestras se basan en los datos de estabilidad de las pruebas de influenza y el rendimiento puede ser diferente con el SARS-CoV-2. Los usuarios deben analizar las muestras lo más rápido posible después de la recolección de la muestra y dentro de una hora después de la recolección de la muestra.

Adaptado de: Becton, Dickinson and Company (2020)

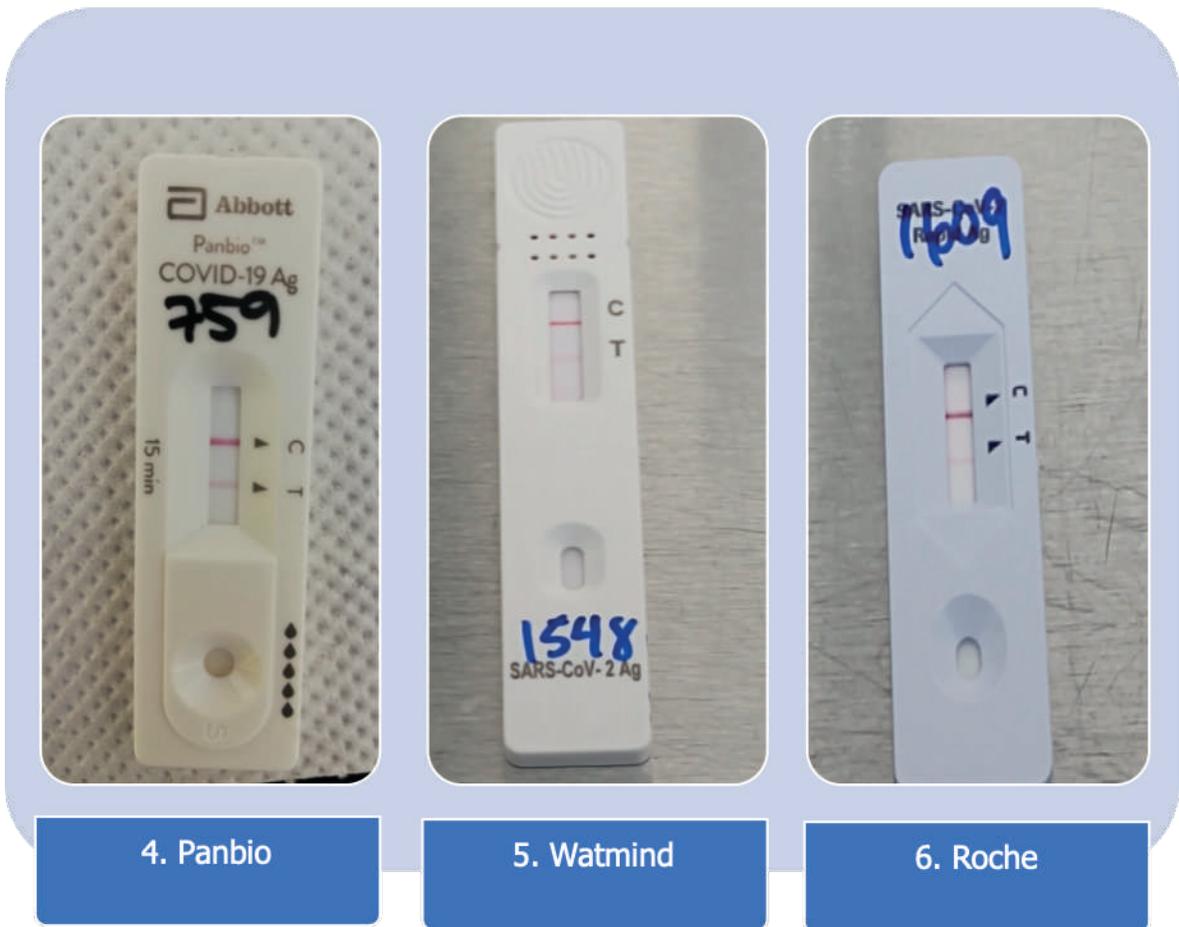
ANEXO 2

Observaciones durante la ejecución de las pruebas

■ Líneas Tenues



Fuente: Imágenes obtenidas de los servicios de salud donde se realizó el muestreo. En las tres imágenes se observa con dificultad la línea confirmatoria del test (T).



Fuente: Imágenes obtenidas de los servicios de salud donde se realizó el muestreo. En las tres imágenes se observa con dificultad la línea confirmatoria del test (T).



**GOBIERNO de
GUATEMALA**
DR. ALEJANDRO GIAMMATTEI

MINISTERIO DE
SALUD PÚBLICA
Y ASISTENCIA
SOCIAL



Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
Laboratorio Nacional de Salud
Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica

Evaluación del desempeño de pruebas de diagnóstico rápido (PDR) para la detección de antígenos virales del COVID-19 disponibles en Guatemala en comparación con un ensayo de referencia. (RT-PCR protocolo Charité) FASE II