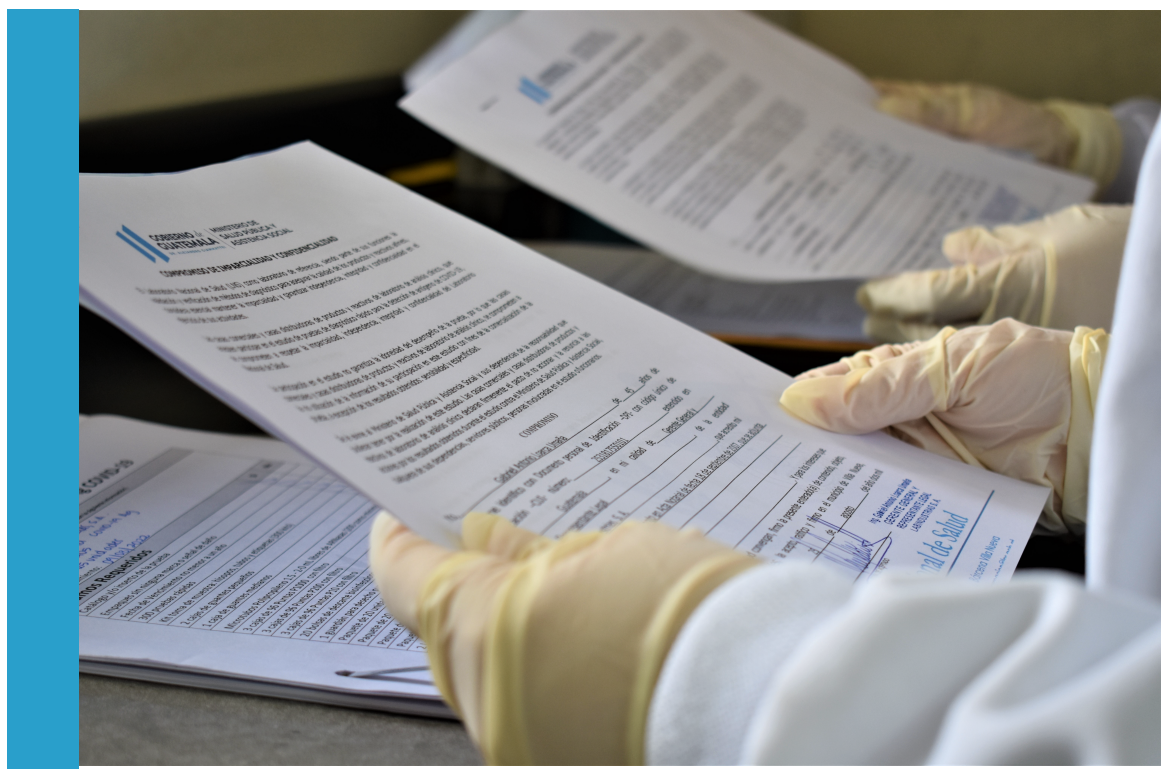




GOBIERNO *de*
GUATEMALA
DR. ALEJANDRO GIAMMATTEI

MINISTERIO DE
SALUD PÚBLICA
Y ASISTENCIA
SOCIAL



Informe de Resultados

"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*)"

**"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*)".**

Elaborado por:

Licenciada Carmen Julia Mazariegos Herrera

Licenciada María Fernanda Barrios Yong

Licenciada Paola María Paniagua Orozco

Licenciada Flora Eugenia Arana Figueroa

Bachiller Carolina Pacheco Baíl

**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**

Doctora Norma Lucrecia Ramírez de Castellanos

**Viceministra Técnica
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social**

Agradecimientos

- IntraHealth International
- Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. Oficina Regional Centroamericana -CDC-CAR
- Organización Panamericana de la Salud -OPS-
- Hospital General San Juan de Dios
- Hospital Temporal Parque de la Industria
- Hospital Nacional Especializado de Villa Nueva
- Instituto Guatemalteco de Seguridad Social

Índice

01	Introducción
02	Objetivos
03	Justificación
04	Antecedentes
05	Metodología
06	Resultados
07	Discusión de Resultados
08	Conclusiones
09	Recomendaciones
10	Bibliografía
11	Anexos

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 únicamente procesará muestras de pacientes con presencia de síntomas iniciando con una prueba rápida de detección de antígeno para COVID-19 (PDR-Ag).

Con el objetivo de evaluar el desempeño de las pruebas de diagnóstico rápido (PDR) disponibles en el país, y con la finalidad de complementar el algoritmo diagnóstico vigente fueron evaluadas 4 marcas, (Biocredit, GenBody, iChroma y Standard Q) en comparación con el RT-PCR protocolo *Charité*.

Un total de 826 pacientes que acudieron a los hospitales General San Juan de Dios (HGSJDD), Nacional Especializado de Villa Nueva (HNEVN), Temporal Parque de la Industria (HTPI), General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) y Policlínica del IGSS, fueron incluidos en el estudio.

En general la sensibilidad de las PDR-Ag se encontró en el rango de 52.54% - 72.62% y la especificidad en el rango de 97.6% – 100%. Ambos parámetros de desempeño mejoraron en muestras con mayor cantidad de partículas virales ($Ct < 25$).

Objetivo

General

Evaluar el desempeño de pruebas rápidas 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 expansión de la enfermedad por coronavirus COVID-19 llevo 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 el cual, se 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, el laboratorio únicamente procesará muestras de pacientes con presencia de síntomas iniciando con una prueba rápida de detección de antígeno para COVID-19 (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.

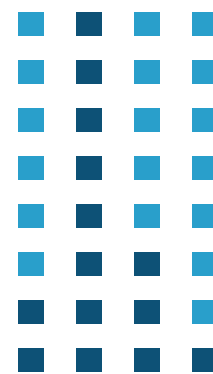
A pesar de su baja sensibilidad, las PDR-Ag para COVID-19 han demostrado en general tener una especificidad aceptable, por lo que pueden ser utilizadas como un criterio de confirmación en conjunto con la definición de caso, criterios clínicos y epidemiológicos. Otra característica de las PDR-Ag para 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 para detección de antígeno deben someterse a evaluación independiente para establecer su desempeño diagnóstico y evaluar sus modalidades de implementación. Sin embargo, a la fecha el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) no ha realizado ningún estudio de verificación de desempeño para dichas pruebas.

Derivado de lo anterior, surgió la necesidad de determinar los parámetros de desempeño de las pruebas rápidas de antígeno con el fin 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 la segunda semana de diciembre de 2020, 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 73.1 millones de casos de la enfermedad en 254 países, con más de 1.6 millones de muertes y más de 51.3 millones de casos de personas recuperadas. Para el mismo período de tiempo, en Guatemala se han reportado 130,082 casos confirmados por laboratorio y 4,476 casos fallecidos para una tasa de mortalidad local de 26.6 fallecidos por cada 100,000 habitantes (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social [MSPAS], 2020a; según tablero COVID-19). Todos los departamentos del país han reportado casos confirmados y el mayor riesgo (en su orden) se encuentra concentrado en los departamentos de Guatemala, Sacatepéquez y El Progreso.

■ 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).

Las últimas recomendaciones de la OPS/OMS, publicadas el 8 de julio del presente, en el documento “Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección con el virus COVID-19”, contemplan la realización de pruebas de antígeno como criterio diagnóstico y para la toma de decisiones de salud pública dentro de un protocolo que se complementa con la realización de pruebas moleculares. Dichas pruebas se basan en la detección de proteínas virales que aparecen durante los primeros días de síntomas. Sin embargo, la dinámica de producción y secreción de dichas proteínas no se ha establecido y, dada su reciente inclusión en protocolos, la OPS/OMS recomienda la evaluación de su desempeño previo a incluirlas en algoritmos o protocolos diagnósticos (OPS, 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 Laboratorio Nacional de Salud, LNS el protocolo de referencia implementado es el *Charité* 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
<i>Charité</i> (Alemania)	RdRp E N	Amplificación de gen E tamizaje; amplificación de gen RdRp confirmación para SARS-CoV-2.	Coreman et al., 2020

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 pruebas rápidas de detección de antígenos (PDR-Ag), las cuales son inmunoensayos 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, 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).

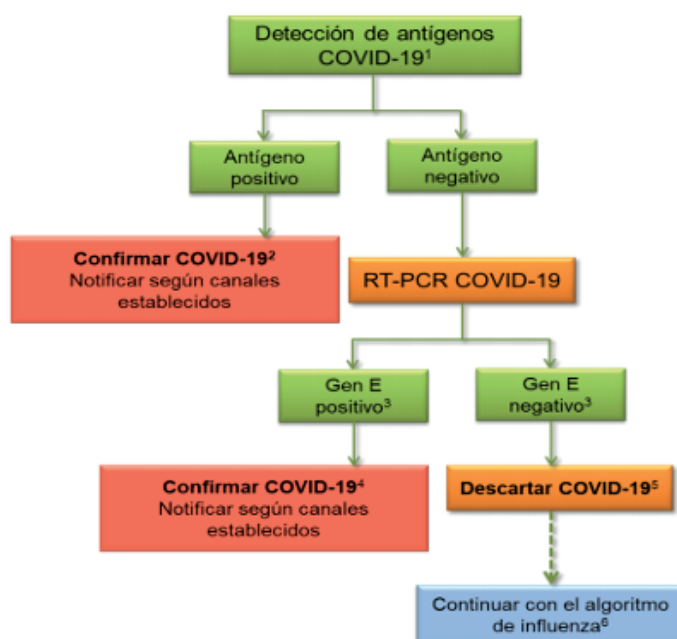
Estas pruebas tienen las ventajas de poder realizarse de forma sencilla, en laboratorios o servicios sanitarios de baja complejidad y dan un resultado rápido (10 a 30 min). Estas características permiten mejorar el acceso a pruebas y disminuyen el tiempo de respuesta, pudiendo utilizarse como una estrategia 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).

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 de las PDR-Ag para COVID-19 puede variar entre marcas de pruebas y con 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).

Figura 1 Algoritmo diagnóstico para uso de PDR-Ag



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

A continuación, se presenta una tabla comparativa de las principales diferencias entre las pruebas 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, esputo, saliva	Hisopado nasal, nasofaríngeo
Sensibilidad	Varía por test, generalmente alto	Moderada
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 2 días	Rango de 15 minutos a 2 días
Costo	Moderado	Bajo

Fuente: Adaptada de Interim Guidance for Antigen Testing for SARS-CoV-2 (CDC, 2020a)

Los datos de rendimiento (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 (5-7 días). Esto brinda la oportunidad de diagnosticar la infección precozmente e interrumpir la transmisión por medio del aislamiento (OMS, 2020).

■ Enfoques para estudios de verificación.

Una verificación o evaluación del desempeño es fundamental para garantizar la implementación eficiente y eficaz de las pruebas de diagnóstico *in vitro* y serológicas del SARS-CoV-2 para garantizar 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, en otras palabras, la verificación 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 prueba de antígeno implica su comparación con el *gold standard* RT-PCR. La validación debe realizarse respecto a 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 menores que aquellos 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 evaluada.
-  **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.

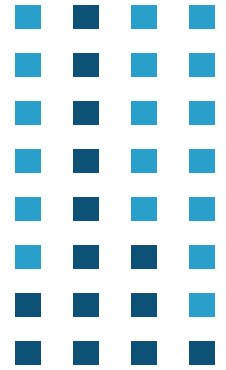
En la tabla No. 3, se enumeran las pruebas de diagnóstico rápido para antígeno COVID-19 evaluadas en el estudio, incluyendo los parámetros de sensibilidad y especificidad reportados por el fabricante, tiempo de lectura, requerimiento de equipo para su lectura y los componentes incluidos en el kit. En 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 No. 3 Descripción Pruebas de Diagnóstico Rápido para antígeno COVID-19 evaluadas según inserto de fabricantes

Nombre de la prueba	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Tiempo de lectura	Requerimiento de equipo para lectura	Componentes
Biocredit	92.0	98.0	5 a 8 minutos y no leer después de 8 minutos	No	- Dispositivo de prueba - Tubo diluyente de extracción - Tapa con filtro - Hisopo estéril - Instrucciones de uso
GenBody	90.0	98.0	15 a 20 minutos y no leer después de 30 minutos	No	- Dispositivo de prueba - Solución de extracción - Tubo de extracción - Tapón cuenta gotas - Hisopo estéril - Instrucciones de uso
iChroma	87.5	96.5	12 minutos y leer inmediatamente en el equipo iChroma II	Si	- Cartucho - Buffer de extracción - Tapón - Tubo detector - Hisopo estéril - Chip ID de la prueba - Instrucciones de uso
Standard Q	84.38	100	15-30 minutos y no leer después de 30 minutos	No	- Dispositivo de prueba - Buffer de extracción - Tapón de boquilla - Hisopo estéril - Instrucciones de uso

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 para antígeno de COVID-19 y pudieron participar tras presentar intención, sin embargo, solamente se evaluó una única vez cada una de las marcas.

■ Temporalidad

La verificación de desempeño de las PDR se realizó durante un periodo de tres meses, septiembre, octubre y noviembre, hasta que se alcanzó a la cantidad para cumplir con el número de muestra.

■ Población

Pacientes que consultaron a los servicios sanitarios Hospitales San Juan de Dios, (HGSJDD), Hospital Nacional Especializado de Villa Nueva (HNEVN), Hospital Temporal del Parque de la Industria, (HTPI), Hospital General de Enfermedades (IGSS zona 9) y Policlínicas del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS Policlínica), con sintomatología congruente para infección por COVID-19 y definido como caso sospechoso por la guía epidemiológica del 24 de agosto del Departamento de Epidemiología con solicitud de análisis para prueba de COVID-19.

■ Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión: cualquier paciente que ingrese a los hospitales con sintomatología compatible para infección por COVID-19, cumpliendo con la definición de caso sospechoso por la guía epidemiológica del 24 de agosto del Departamento de Epidemiología con solicitud de análisis para prueba de COVID-19 o pacientes recién diagnosticados (menos de 72 horas de diagnóstico) con COVID-19.

Exclusión: pacientes que no cumplan criterios de inclusión.

■ Cálculo de la muestra

En colaboración con 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 que acudieron a los servicios de salud HGSJDD, HTPI y HNEVN, durante el mes de julio y el porcentaje de positividad reportado por cada uno, se calculó un tamaño de muestra siguiendo un muestreo probabilístico con afijación proporcional. El tamaño de muestra se calculó para un IC 95% confianza, 40% proporción de positivos y un error de 7%, también con un porcentaje de pérdida del 10% para un total de 207 personas, utilizando la fórmula:

$$n = \left(\frac{(Z \alpha / (2\sqrt{p(1-p)}))}{E} \right)^2 = \left(\frac{(Z^2 \alpha / 2 * p(1-p))}{E^2} \right)$$

Donde:

n: tamaño de la muestra necesario

$Z_{\alpha/2}$: valor de Z para el nivel de confianza $=1-\alpha$

p: proporción esperada

E: error aceptado o precisión deseada

Tabla No. 4 Cálculo de muestra

Hospital	No. en 15 días	No. en 1 mes	No. Positivas	% Positividad	W Peso proporcional por estrato	Escenario 2: 95% confianza, 40% proporción y error 7% (ajuste 3.1% fracción muestreo)	Escenario 2 ajustado a un 10% pérdida
HGSJDD	2493.5	4987	1499	0.301	84%	156	174
HTPI	283	566	395	0.698	9.5%	18	20
HNEVN	186	372	64	0.172	6.2%	12	13
TOTAL		5925	1958	0.390	100%	186	*207

*Cantidad de pacientes por prueba participante.

**Como los datos del Hospital de Villa Nueva eran por 15 días se multiplicó por dos para que fuera la misma temporalidad.

■ 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 en los pacientes, con la misma probabilidad de aparición hasta alcanzar el número de muestra calculado.

■ Estrategia de muestreo

En la tabla 5 se resume la estrategia de muestreo utilizada y la cantidad de pacientes muestreados por cada servicio sanitario.

Tabla No. 5 Distribución de muestreo PDR-Ag

Hospital	HGSJDD	HNEVN	HTPI	Hospital General de Enfermedades IGSS	<u>Policlínica</u> IGSS	Total
Cantidad de muestras	64	14	160	395	193	826

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

Metodología

- 01 De acuerdo con el protocolo nacional para diagnóstico de COVID-19, a todos los pacientes se les llenó una ficha epidemiológica de la cual, se envió una copia al LNS para el análisis de datos.
- 02 Por cada paciente, el personal de salud tomó en forma paralela dos muestras de hisopado nasofaríngeo, una para la realización de la PDR *in situ* y otra para la prueba molecular protocolo *Charité* la cual fue procesada en las instalaciones del LNS.
- 03 Los hisopados nasofaríngeos para ser evaluados con PDR para antígenos virales de COVID-19, se evaluarán siguiendo el protocolo establecido en el inserto de la prueba:
 - Los resultados dudosos o que no hayan marcado francamente en la línea *test*, fueron evaluados por un segundo observador independiente, en caso de desacuerdo se consultó con un tercer observador.
 - Los resultados inválidos no fueron tomados en consideración para el cálculo de los parámetros de desempeño.

04 El hisopado para realizar el RT-PCR fue procesado en el LNS, siguiendo el protocolo establecido:

- La extracción de ARN se realizó de forma automatizada utilizando el Equipo Nextractor.
- La amplificación y detección viral se realizaron de acuerdo con el protocolo *in house* (WHO, 2020b) *Charité*, Alemania: detección de genes E y RdRP.

05 Los resultados de las pruebas fueron anotados en hojas de control de pruebas, a partir de las cuales se alimentó la base de datos general, identificándose con número correlativo para cada hospital.

06 Los resultados de PDR se compararon con el resultado del *gold standard* RT-PCR, y se estableció sensibilidad, especificidad, valores predictivos e índice kappa de Cohen.

■ Interpretación de resultados

Se elaboró un manual de laboratorio para cada hospital dentro del que se incluyeron normas de bioseguridad y clasificación de riesgos, toma de muestra, protocolo operativo estándar para cada prueba (Ver anexo 1), según las indicaciones del fabricante. Incluyó ejemplos de causas invalidez de las pruebas y espacio para anotar observaciones operacionales de cada prueba (Ver anexo 2), por lo que cada resultado de PDR se interpretó según las indicaciones del fabricante.

■ Control de errores y sesgos

La lectura del resultado de la prueba analizada se realizó desconociendo el resultado del gold standard, para evitar el sesgo.

Las analistas tomaron evidencia fotográfica de 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. Las tablas de resultados y análisis fueron compartidas con OPS-Guatemala y CDC-CAR

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 e índice kappa. (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 de síntomas, y por ciclo de amplificación en la prueba RT-PCR, antes del ciclo 30 y ciclo 25.

El programa reportó los parámetros sensibilidad, especificidad, valores predictivos e índice de kappa 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 F.	Mesa técnica de verificación de pruebas COVID-19
4.	Lda. Carmen Julia Mazariegos	Mesa técnica de verificación de pruebas COVID-19
5.	Lda. Paola 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.	Br. Katerin Castañeda	Analista
8.	Br. Carolina Pacheco Baíl	Analista

■ Instituciones colaboradoras

1.	<i>IntraHealth International</i>
2.	Centros para el Control y Prevención de Enfermedades -CDC-
3.	Organización Panamericana de la Salud -OPS-
4.	Hospital General San Juan de Dios
5.	Hospital Temporal Parque de la Industria
6.	Hospital Nacional Especializado de Villa Nueva
7.	Instituto Guatemalteco de Seguridad Social

■ Mecanismo de financiamiento

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

La Fundación para el Desarrollo de Guatemala – FUNDESA – apoyó con la contratación de dos analistas responsables de la realización de las PDR *in situ*, la preparación de alícuotas para referencia al LNS, la recolección de datos, el envío de copia de ficha epidemiológica, entre otros.

■ Protección de participantes en la investigación

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

El registro de resultados de caracterización de muestras se mantuvo en computadoras y bases de datos diferentes a la utilizada para datos COVID-19 del LNS.

La información del estudio fue custodiada exclusivamente por personal del LNS y 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.



Resultados



En la tabla 6 se observa el desempeño general PDR-Ag de las cuatro marcas participantes en el estudio, de las 826 muestras de hisopado nasofaríngeo solamente se tomaron en consideración para el análisis 816, ya que 10 de ellas se invalidaron durante la fase experimental de la verificación.

Tabla No. 6 Desempeño General PDR-Ag

Desempeño General															
Marca	VP	FP	FN	VN	Total	Sensibilidad (%)	IC95%	Especificidad (%)	IC95%	VPP (%)	IC95%	VPN (%)	IC95%	KAPPA	IC95%
iChroma	51	0	23	128	202	68.92	57.66-78.31	100	97.09-100	100	93-100	84.77	78.18-89.63	0.74	0.60-0.87
Standard Q	61	3	23	123	210	72.62	62.25-81.01	97.62	93.23-99.19	95.31	87.1-98.39	84.25	77.47-89.27	0.73	0.60-0.86
Biocredit	31	3	28	143	205	52.54	40.04-64.73	97.95	94.13-99.3	91.18	77.04-96.95	83.63	77.35-88.42	0.58	0.45-0.71
GenBody	49	3	25	122	199	66.22	54.88-75.95	97.6	93.18-99.18	94.23	84.36-98.02	82.99	76.1-88.21	0.68	0.54-0.81
Desempeño General	192	9	99	516	816	65.92	60.36-71.18	98.29	96.77-99.1	95.52	91.71-97.63	83.9	80.79-86.6	0.7	0.62-0.76

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.

De las muestras analizadas, se obtuvieron 291 (35.67%) positivas y 525 (64.33%) negativas por la metodología de referencia. De los 291 pacientes con un resultado positivo, 192 (65.98%) fueron detectados adecuadamente por las PDR-Ag, mientras, 99 no fueron detectadas (falsos negativos), lo cual equivale a un 34.02%. Asimismo, de los 525 pacientes con un resultado negativo a la prueba, 516 fueron detectados correctamente por las PDR-Ag, lo cual equivale a 98.29%, mientras que en 9 pacientes (1.71%) las PDR-Ag dieron resultado positivo (falsos positivos) en ausencia de la enfermedad.

En las tablas 7, 8, 9 y 10 se presenta un resumen de los resultados obtenidos del desempeño para cada una de las pruebas, al ser comparadas con RT-PCR y sus respectivos intervalos de confianza (IC 95%), además se comparan con los datos reportados en los insertos de los fabricantes (sensibilidad y especificidad).

Adicionalmente, se incluye un análisis estratificado para los parámetros de sensibilidad, especificidad, valores predictivos e índice de concordancia kappa por ciclo de amplificación (Ct) y días de inicio de síntomas.

Tabla No. 7 Comparación de desempeño para PDR-Ag Biocredit

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct<25 (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	92 (NR)	52.54 (40.04-64.73)	78.95 (63.65-88.93)	92.31 (75.86-97.86)	62.5 (47.03-75.78)	59.09 (44.41-73.31)
Especificidad	98 (NR)	97.62 (94.13-99.3)	97.95 (94.13-99.3)	97.95 (94.13-99.3)	97.14 (91.93-99.02)	97.52 (92.96-99.15)
Valor Predictivo Positivo	NR	91.18 (77.04-96.95)	90.91 (76.43-96.86)	88.89 (71.94-96.15)	89.29 (72.8-96.29)	89.66 (73.61-96.42)
Valor Predictivo Negativo	NR	83.63 (77.35-88.42)	94.7 (89.89-97.29)	98.62 (95.11-99.62)	87.18 (79.92-92.07)	86.76 (80.05-91.46)
kappa	NR	0.58 (0.45-0.71)	0.81 (0.66-0.95)	0.89 (0.74-1.04)	0.66 (0.5-0.82)	0.64 (0.49-0.78)

NR: No reportado
Fuente: Análisis de la base de datos del estudio de verificación.

Tabla No. 8 Comparación de desempeño para PDR-Ag GenBody

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct<25 (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	90 (73.47-97.89)	66.22 (54.88-75.95)	88.64 (76.02-95.05)	88.46 (71.02-96)	67.39 (52.97-79.13)	64.15 (50.69-75.60)
Especificidad	98 (92.96-99.76)	97.6 (93.18-99.18)	97.6 (93.18-99.18)	97.6 (93.18-99.18)	96.43 (90.02-98.78)	96.91 (91.3-98.94)
Valor Predictivo Positivo	NR	94.23 (84.36-98.02)	92.86 (80.99-97.54)	88.46 (71.02-96.0)	91.18 (77.04-96.95)	91.89 (978.7-92.2)
Valor Predictivo Negativo	NR	82.99 (76.1-88.21)	96.06 (91.11-98.31)	97.6 (93.18-99.18)	84.38 (75.81-90.03)	83.19 (75.23-88.96)
kappa	NR	0.68 (0.54-0.81)	0.88 (0.72-1)	0.86 (0.7-1.02)	0.68 (0.51-0.85)	0.66 (0.5-0.81)

NR: No reportado

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

Tabla No. 9 Comparación de desempeño para Prueba iChroma

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct<25 (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	87.50 (NR)	68.92 (57.66-78.31)	95.45 (84.86-98.74)	100 (85.69-100)	71.7 (58.43-82.03)	70.49 (58.11-80.45)
Especificidad	97 (NR)	100 (97.09-100)	100 (97.09-100)	100 (97.09-100)	100 (95.68-100)	100 (95.99-100)
Valor Predictivo Positivo	NR	100 (93-100)	100 (91.62-100)	100 (85.69-100)	100 (90.82-100)	100 (91.8-100)
Valor Predictivo Negativo	NR	84.77 (78.18-89.63)	98.46 (94.56-99.58)	100 (97.09-100)	85 (76.72-90.69)	83.64 (75.61-89.39)
kappa	NR	0.74 (0.6-0.87)	0.97 (0.82-1.1)	1 (0.84-1.16)	0.76 (0.6-0.92)	0.74 (0.59-0.9)

NR: No reportado

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

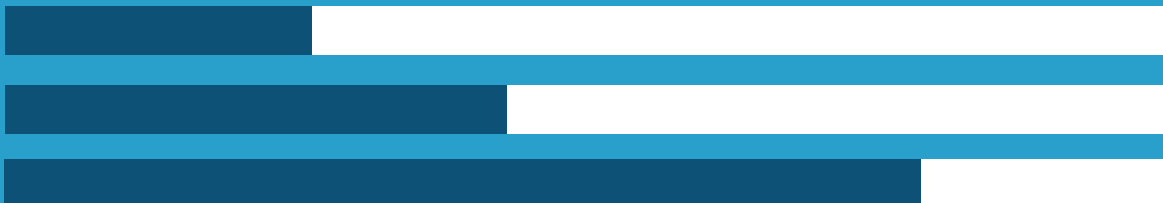
Tabla No. 10 Comparación de desempeño para Prueba Standard Q

Especificaciones	Reportado por Fabricante % (IC 95%)	Reportado por el Laboratorio Nacional de Salud				
		General % (IC 95%)	Ct <30 (IC 95%)	Ct <25 (IC 95%)	≤5 días de síntomas (IC 95%)	≤7 días de síntomas (IC 95%)
Sensibilidad	84 (NR)	72.62 (62.25-81.01)	98 (89.5-99.65)	97.22 (85.83-99.19)	73.68 (61.02-83.35)	69.12 (57.36-78.83)
Especificidad	100 (NR)	97.62 (93.23-99.19)	97.62 (93.23-99.19)	97.62 (93.23-99.19)	97.8 (92.34-99.4)	97.89 (92.65-99.42)
Valor Predictivo Positivo	NR	95.31 (87.1-98.39)	94.23 (84.36-98.02)	92.11 (79.2-97.28)	95.45 (84.86-98.74)	95.92 (86.29-98.87)
Valor Predictivo Negativo	NR	84.25 (77.47-89.27)	99.19 (95.57-99.86)	99.19 (95.57-99.86)	85.58 (77.56-91.06)	81.58 (73.47-87.62)
kappa	NR	0.73 (0.6-0.86)	0.94 (0.8-1.1)	0.93 (0.78-1.08)	0.75 (0.59-0.9)	0.7 (0.55-0.85)

NR: No reportado

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 cuatro marcas distintas de PDR-Ag para COVID-19, siendo estas Biocredit, GenBody, iChroma, Standard Q, y comparando cada una contra los resultados de RT-PCR protocolo *in house* Charité, Alemania.

Fueron analizadas un total de 826 muestras respiratorias provenientes de pacientes que cumplieron con la definición de caso sospechoso de acuerdo con la guía epidemiológica del 24 de agosto del Departamento de Epidemiología con solicitud de análisis para prueba de COVID-19 o pacientes recién diagnosticados (menos de 72 horas de diagnóstico) con COVID-19. De estas únicamente fueron tomadas en consideración 816, debido a que diez resultados fueron inválidos: siete durante la realización de las PDR-Ag y tres en el análisis de resultados del RT-PCR. De los resultados PDR-Ag inválidos (Ver anexo 2), cinco correspondieron a la prueba iChroma II, uno a GenBody y uno a la prueba Standard Q. De acuerdo con lo reportado por las analistas del estudio, esto ocurrió en la mayoría de los casos por la presencia excesiva de moco en las muestras respiratorias, lo cual impidió que la muestra fluyera adecuadamente en el casete. 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 análisis.

Con respecto a los parámetros de desempeño generales de las PDR-Ag (sensibilidad y especificidad), iChroma presentó una sensibilidad de 68.92%, Standard Q de 72.62%, Biocredit de 52.54% y GenBody de 66.22%. Las cuatro marcas presentaron una sensibilidad más baja de la reportada por el fabricante (ver tabla 6).

Con respecto a la especificidad general obtenida, iChroma (100%) fue la única que presentó una especificidad mayor que la reportada por el fabricante de 96.5%. A diferencia, de Standard Q (97.62%), Biocredit (97.95%) y GenBody (97.60%) que presentaron menor especificidad que la reportada (ver tabla 6).

FIND ha realizado evaluaciones independientes de dos de las marcas evaluadas en este estudio. En la evaluación diagnóstica prospectiva, para la prueba Biocredit COVID-19 Ag, el estudio en Brasil estimó un desempeño analítico de sensibilidad de 74.4% (IC95% de 65.8-81.4) y especificidad de 98.95% (IC95% 97.2-99.6); Alemania reportó una sensibilidad de 52% (IC95% 33.5-70) y especificidad de 100% (IC95% 99.7-100). En ambos estudios se utilizaron protocolos de RT-PCR diferentes al utilizado en este estudio.

Para la Standard Q, tres estudios independientes se encuentran reportados en la página de FIND, Brasil estimó un desempeño analítico de sensibilidad de 88.7% (IC95% de 81.3-93.4) y especificidad 97.6% (IC95% 95.2-98.8); Alemania reportó una sensibilidad de 76.6% (IC95% 62.8-86.4) y especificidad de 99.3% (IC95% 98.6-99.6); Suiza reportó sensibilidad de 89.9% (IC95% 83.8-92.7) y especificidad de 99.7% (IC95% 98.3-99.9). En las tres evaluaciones se utilizaron protocolos de RT-PCR diferentes al utilizado en este estudio. Para GenBody y iChroma, no hay información disponible en la página (FIND, 2020).

De acuerdo con CDC, es aceptable que las especificaciones de desempeño determinadas por el laboratorio evaluador, difieran con las reportadas por el fabricante y esto es cierto, 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 un 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 7, 8, 9 y 10, 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 cumplen con las recomendaciones de la OMS. (OMS, 2020a).

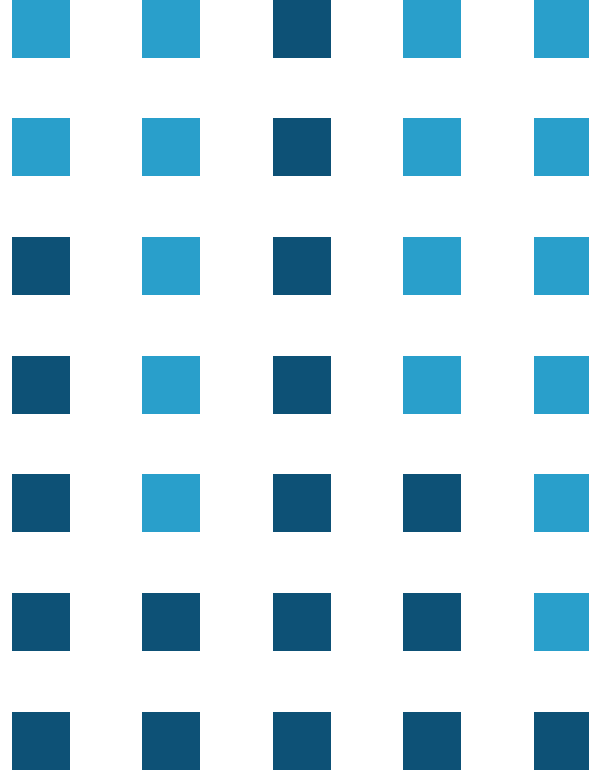
Generalmente, los valores de Ct < 25 aparecen en las fases sintomáticas iniciales de la enfermedad (en los primeros 5 a 7 días). Lo cual, indica que si las PDR-Ag son utilizadas adecuadamente en población sintomática, pueden apoyar en una detección precoz de la enfermedad e interrumpir la transmisión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

Con respecto al análisis realizado por día de aparición de síntomas, como se observa en las tablas 7, 8, 9 y 10, la sensibilidad mejora cuando el inicio de síntomas reportado por el paciente es menor o igual a 5 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 entre 25-30. 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 diciembre es de 22.2% de los casos tamizados acumulados registrados (MSPAS, 2020). 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, 2020). 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 Centre 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 con una PAAN, según lo indica el algoritmo nacional de diagnóstico actual, ya que, incluso utilizando las PDR en población diana con una elevada prevalencia, tanto la sensibilidad como el VPN de las pruebas es bajo.



CONCLUSIONES

- 01 La sensibilidad analítica general de las PDR-Ag obtenida fue de 65.92%, especificidad de 98.29%, VPP de 95.52%, VPN de 83.9% e índice kappa de 0.7.
- 02 La sensibilidad analítica general para iChroma obtenida fue de 68.92%, especificidad de 100%, VPP de 100%, VPN de 84.77% e índice kappa de 0.74.
- 03 La sensibilidad analítica general para Standard Q obtenida fue de 72.62%, especificidad de 97.62%, VPP de 95.31%, VPN de 84.25% e índice kappa de 0.73.
- 04 La sensibilidad analítica general para Biocredit obtenida fue de 52.54%, especificidad de 97.95%, VPP de 91.18%, VPN de 83.63% e índice kappa de 0.58.
- 05 La sensibilidad analítica general para GenBody obtenida fue de 66.22%, especificidad de 97.6%, VPP de 94.23%, VPN de 82.99% e índice kappa de 0.68.
- 06 La sensibilidad y especificidad de todas las PDR-Ag evaluadas aumentaron en muestras con $Ct < 25$.



RECOMENDACIONES

- 01 El algoritmo nacional de diagnóstico debe ser revisado por un equipo multidisciplinario coordinado por el Departamento de Epidemiología para discutir los resultados obtenidos en este estudio, en relación con la variación en el desempeño de las PDR-Ag observada a menores Ct, con la finalidad de evaluar una nueva estrategia de muestreo a nivel nacional.
- 02 De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, es necesario continuar confirmando los resultados negativos obtenidos por PDR-Ag con una PAAN.
- 03 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

I. Bibliografía

- BIONOTE. (2020). *NowCheck Covid-19 Ag Test* [Inserto]. [http://bionote.co.kr/eng/common/asp/download.asp?file=/board/NOW_CHECK/201117/NowCheck_COVID-19_Ag_insert_\[CE\]_\(NP\)_2.pdf&target=TB_BOARD_ALL&num=2325](http://bionote.co.kr/eng/common/asp/download.asp?file=/board/NOW_CHECK/201117/NowCheck_COVID-19_Ag_insert_[CE]_(NP)_2.pdf&target=TB_BOARD_ALL&num=2325)
- BodiTech Med Incorporated. (2020). *iChroma™ COVID-19 Ag* [Inserto]. <https://desego.com/wp-content/uploads/2020/11/COVID-Ag-2020.pdf>
- 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>
- European Centre 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 Key messages.
- Fundación para la Obtención de Medios de Diagnóstico Innovadores -FIND- (2020). Comparative evaluation of lateral flow assay tests that directly detect antigens of SARS-CoV-2. 1-3.
- GenBody Inc. (2020). *GenBody COVID-19 Ag. Detection kit for SARS-CoV-2 antigen in nasopharyngeal and oropharyngeal swab from human* [Inserto]. https://www.szabo-scandic.com/pub/media/product_data/datasheet/GBY/GBY-DATA-GBYCOVAG025.pdf
- Hanson, K. E., Caliendo, A. M., Arias, C. A., Englund, J. A., Lee, M. J., Loeb, M., ... Mustafa, R. A. (5 de junio de 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/map.html](https://coronavirus.jhu.edu/map.html)
- Listing, E. U. (2020). Listing (EUL) submission: and rapid diagnostics tests detecting SARS-CoV-2 Emergency Use Listing of IVDs, (June).

Ministerio de Salud y Protección Social. (2020, April). Lineamientos para el uso de pruebas en el laboratorio de salud pública (LSP) en el marco de la emergencia sanitaria por (COVID-19) en Colombia. (Versión 1). <https://www.minsalud.gov.co/RID/lineamientos-pruebas-lsp-covid-19.pdf>

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2020). Situación de COVID-19 en Guatemala. Guatemala. Recuperado el 19 de julio 2020 de <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 Mundial de la Salud. (2020a). Detección de antígenos para el diagnóstico de la infección por el SARS-CoV-2 mediante inmunoanálisis rápidos. (septiembre), 1–11.

Organización Panamericana de la Salud. (2020b). Implementación de la prueba rápida de detección de antígenos para COVID-19- *Estudio piloto*. (octubre), 1–4.

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/jccp.v51i1.7887>

Porte, L., Legarraga, P., Vollrath, V., Aguilera, X., Munita, J. M., Araos, R., ... Weitzel, T. (2020). Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *International Journal of Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.05.098>

Schoy, A., Anantharajah, A., Bodéus, M., Kabamba-Mukadi, B., Verroken, A., & Rodriguez-Villalobos, H. (2020). Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *Journal of Clinical Virology*, 129(May), 104455. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104455>

RapiGEN Inc. (2020). *Biocredit COVID-19 Ag. One Step SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test* [Inserto]. <http://biocant.cl/wp-content/uploads/2020/04/Inserto-RapiGEN-COVID-19-Ag.pdf>

SD Biosensor Inc. (2020). *Standard™ Q COVID-19 Ag Test* [Inserto]. <https://www.who.int/publications/m/item/eul-0563-117-00-standard-q-covid19-ag-ifu>

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/10.1101/2020.05.27.119255>

World Health Organization. (2015). ANNEX 7. Diagnostics for HIV diagnosis (WHO/HIV/2015.26). https://apps.who.int/iris/bitstream/10665/180221/1/WHO_HIV_2015.26_eng.pdf?ua=1

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

World Health Organization. (2020b). Laboratory Guidelines for the Detection and Diagnosis of COVID-19 Virus Infection Sample collection and proper shipment Laboratory testing. *Paho*, (March), 1–7.

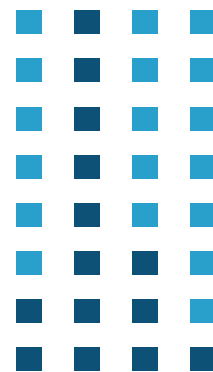
World Health Organization. (2020c). Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays: Interim guidance, 11 September 2020. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334253>

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>

Anexos





Anexo 1: Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

■ Biocredit COVID-19 Ag RapiGEN

Fundamento

BIOCREDIT COVID-19 Ag es un ensayo de inmunocromatografía de flujo lateral que adoptó el sistema dual color. Este test contiene un conjugado de oro coloidal en una almohadilla y una membrana en tira pre-revestida con anticuerpos específicos al antígeno de SARS-CoV-2 visible cuando aparece una banda negra en la línea del Test (T); al formarse el complejo conjugado de oro anticuerpo-antígeno-anticuerpo. La línea control (C) se utiliza como control del procedimiento, y siempre debe aparecer si la prueba se realizó correctamente. Su finalidad es la detección cualitativa de antígeno SARS-CoV-2 en la nasofaringe humana.

Se agita el tubo con el diluyente, y se añaden de 3 a 4 gotas en el pozo del dispositivo. Esperar de 5 a 8 minutos para leer el resultado.

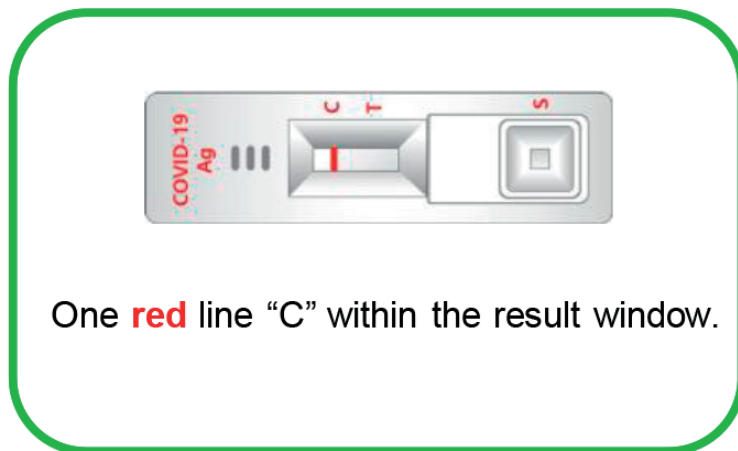
Interpretación de resultados

Positivo: Dos líneas; una negra “T” línea de test y una roja “C” línea control

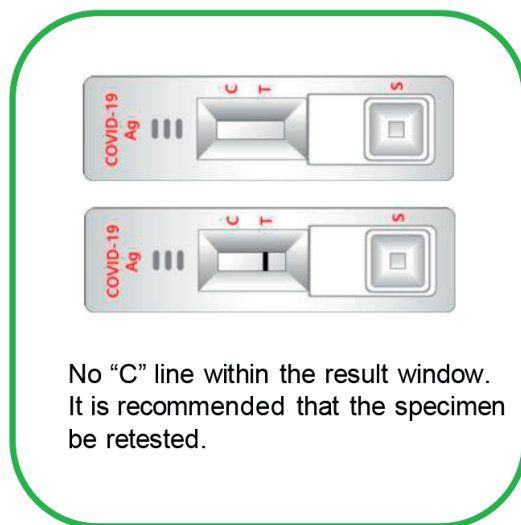


Two bands ; **black** “T” test line and **red** “C” control line within the result window.

Negativo: Una línea roja “C” en la ventana de resultados.



Inválido: Sin línea “C” en la ventana de resultados, es recomendable repetir la prueba.
Nota: Este resultado no se atribuye a la intensidad o grosor de la línea.



Limitaciones

Un resultado negativo puede aparecer si la cantidad de coronavirus presente en la muestra está por debajo del límite de detección de la PDR-Ag.

Un resultado negativo no excluye una infección reciente.

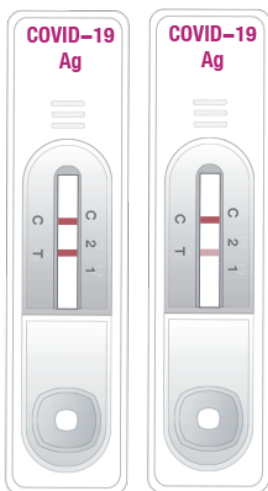
Adaptado de: RapiGen Inc (2020)

Fundamento

GenBody COVID-19 es un kit de inmunoensayo para la determinación rápida y cualitativa de infección por SARS-CoV-2 en muestras de hisopados. Los antígenos de SARS-CoV-2 en las muestras se les permite reaccionar con el conjugado de oro acoplado al anticuerpo monoclonal anti-SARS-CoV-2 seguido de la reacción con anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2, inmovilizados en la línea de prueba. Cuando la muestra contiene antígeno de SARS-CoV-2, aparecerá una línea visible en la región del casete en la membrana. La solución continuará migrando hasta encontrar el reactivo control el cual se unirá a un conjugado control, produciendo otra línea en la región de control.

Se añaden 4 gotas en el pozo del dispositivo. Esperar de 15 a 20 minutos para leer el resultado.

Interpretación de resultados



Positive

Positivo: Dos líneas; una negra “T” línea de test y una roja “C” línea control

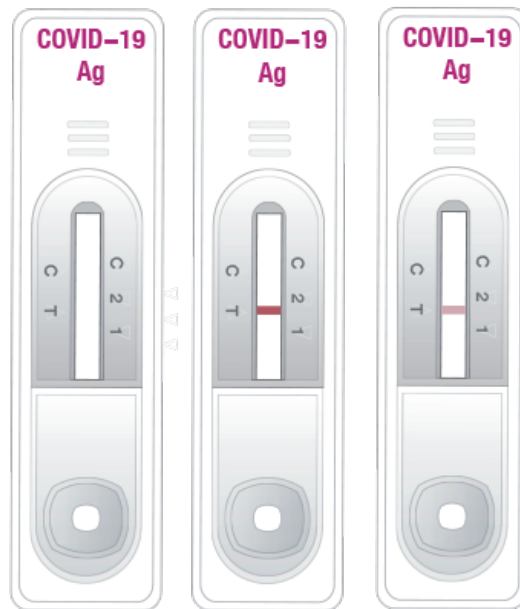


Negative

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.

Interpretación de resultados

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.



Invalid

Limitaciones

Esta PDR-Ag está diseñada para la detección primaria de antígeno SARS-CoV-2 y solo está previsto para su uso en laboratorios clínicos o para que se utilicen por el personal médico como “pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia”, y no para uso en casa.

Adaptado de: GenBody (2020)

Fundamento

Esta prueba utiliza un método de inmunodetección “en sándwich”; los anticuerpos detectores en el buffer, se unen a los antígenos de la muestra, formando complejos antígenos-anticuerpos que migran a la matriz de nitrocelulosa para ser capturados por los otros anticuerpos inmovilizados en la tira reactiva.

Cuanto más antígenos estén presentes en la muestra, se formarán más complejos antígenos-anticuerpos que conducen a una señal de inmunofluorescencia más fuerte por anticuerpos detectores, los cuales son procesados por el equipo iChroma II para mostrar la concentración de antígenos SARS-CoV-2 en la muestra respectivamente. Esta señal es detectada por el equipo para mostrar el “Positivo”/”Negativo” en la muestra.

Se agregan 6 gotas de mezcla de muestra en el tubo detector, se pipetea 75µl desde el tubo detector y se coloca en el pozo de muestra del cartucho; esperar 12 minutos y se escanea inmediatamente obteniéndose el resultado de la prueba en la pantalla LCD del equipo.

Interpretación de resultados

El equipo iChroma II calcula el resultado de la prueba automáticamente y muestra “Positivo” o “Negativo”.

Si el resultado de la prueba es no válido, se debe realizar una nueva prueba en un nuevo cartucho de prueba con una nueva muestra.



Limitaciones

Pueden producirse falsos positivos por reacciones cruzadas y/o adhesión no específica de ciertos componentes de la muestra a los anticuerpos de captura/detector.

Pueden producirse falsos negativos por la falta de respuesta del antígeno a los anticuerpos que es más común si el epítipo está enmascarado por algunos componentes desconocidos, por lo que no puede ser detectado o capturado por los anticuerpos. La inestabilidad o degradación del antígeno con el tiempo y/o la temperatura también pueden causar falso negativo, ya que hace que el antígeno sea irreconocible por los anticuerpos.

Otros factores pueden interferir con el ensayo y causar resultados erróneos, como errores técnicos/procesales, degradación de componentes/reactivos del ensayo o presencia de sustancias interferentes en la muestra.

Si el resultado de la prueba es “Negativo” aunque el paciente tenga síntomas infecciosos significativos, se debe recomendar hacer pruebas adicionales, incluyendo PCR o cultivo.

La determinación precisa del resultado de la prueba como “positivo” debe confirmarse con una evaluación clínica adicional.

El resultado “Negativo” debe considerarse con posibilidades de otras infecciones. El resultado “Positivo” debe considerarse con infecciones adicionales por otra bacteria patógena.

Si el producto tiene resultados positivos, cualquier diagnóstico clínico basado en el resultado de la prueba, debe estar respaldado por un juicio exhaustivo del médico incluidos los síntomas clínicos y otros resultados de prueba relevantes.

En caso de que la concentración de antígenos sea baja, la prueba puede producir resultados falsos negativos. Por lo tanto, los resultados negativos no excluyen la posibilidad de infección por completo.

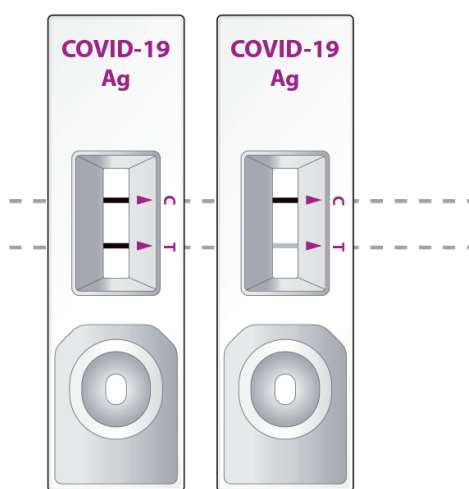
Adaptado de: Boditech Med Incorporated (2020)

Fundamento

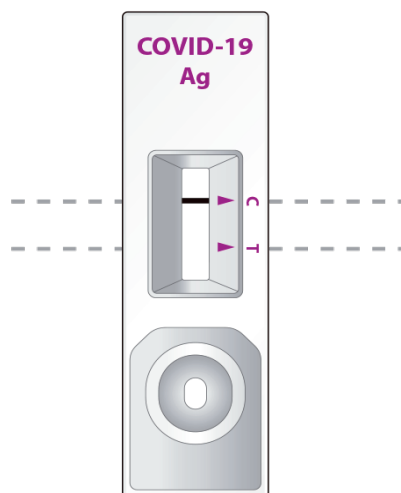
La prueba STANDARD Q COVID-19 Ag tiene dos líneas precubiertas en la superficie de la membrana de nitrocelulosa: la línea control “C” y la línea de prueba “T”. Tanto la línea control como la línea de prueba no son visibles antes de la aplicación de las muestras. La región de la línea de prueba está cubierta con el anticuerpo monoclonal de ratón anti-COVID-19 y la región de la línea control está cubierta con el anti cuerpo anti-pollo IgY monoclonal de ratón. El anticuerpo monoclonal de ratón anti-COVID-19 conjugado con partículas de color, se utiliza como detector del antígeno COVID-19 en el dispositivo. Durante la prueba el antígeno COVID-19 en la muestra, interactúa con el anticuerpo anti-COVID-19 monoclonal conjugado con partículas de color para generar el complejo de partícula de color antígeno-anticuerpo. Este complejo migra a través de la membrana por acción capilar hasta la línea de prueba, donde es capturado por el anticuerpo monoclonal anti-COVID-19 de ratón.

Se agregan 3 gotas de muestra extraída en el pocillo de muestra del dispositivo de prueba. Esperar de 15-30 minutos para leer el resultado.

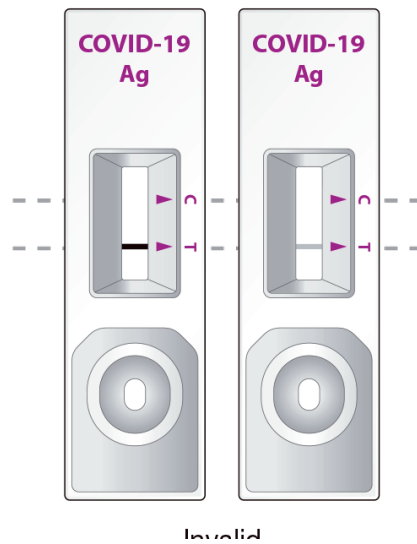
Interpretación de resultados



Positivo: Una marca de color aparecerá en la sección inferior de la ventana de resultado; Línea de antígeno COVID-19 “T”.



Negativo: Una marca de color aparecerá en la sección superior de la ventana de resultado para demostrar que la prueba funciona adecuadamente; línea control “C”.



Inválido: Si la línea control es débil o la línea de prueba no es uniforme, la prueba se considerará como realizada correctamente y el resultado se interpretará como positivo. La presencia de cualquier línea sin importar qué tan débil se vea, se considera como resultado positivo. Los resultados positivos deben ser considerados junto con el historial clínico del paciente y otros datos importantes.

Limitaciones

El procedimiento de prueba, precauciones y la interpretación de resultados, debe seguirse rigurosamente al realizar la misma.

La prueba debe utilizarse para la detección del antígeno del SARS-CoV-2 hisopado nasofaríngeo de origen humano.

Esta prueba cualitativa no determina valores cuantitativos ni índices de concentración de antígeno de SARS-CoV-2.

Si no se sigue el procedimiento de la prueba y su interpretación de resultados, es posible que el resultado sea afectado adversamente o invalidado.

Para una mayor precisión del estado inmunológico, se recomienda dar seguimiento adicional utilizando otros métodos de laboratorio.

Puede obtenerse un resultado negativo si el nivel de antígeno de una muestra, está por debajo del límite de detección de la prueba o si la muestra es recolectada o transportada inadecuadamente. Por lo cual un resultado negativo de la prueba no elimina la posibilidad de infección por SARS-CoV-2 y debe ser confirmado por cultivo viral, ensayo molecular o ELISA.

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

Resultados negativos de las pruebas no están destinados a descartar otras infecciones por coronavirus.

Anexo 2: Observaciones durante la ejecución de las Pruebas

■ Inválidas

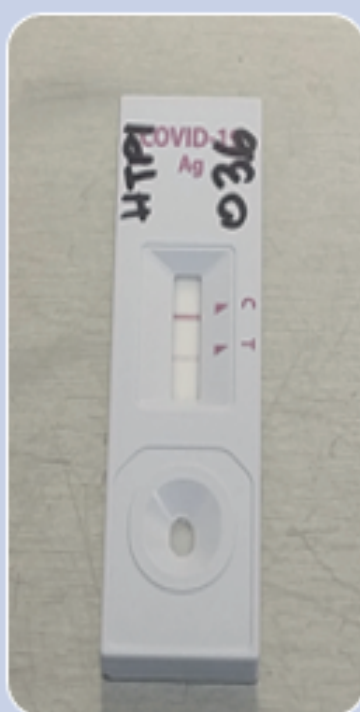


Fuente: Imágenes obtenidas de los servicios de salud donde se realizó el muestreo. En las imágenes 1 y 2 se observa que no marcó la línea control de las pruebas y en la imagen 3 se observa el mensaje del equipo iChroma II.

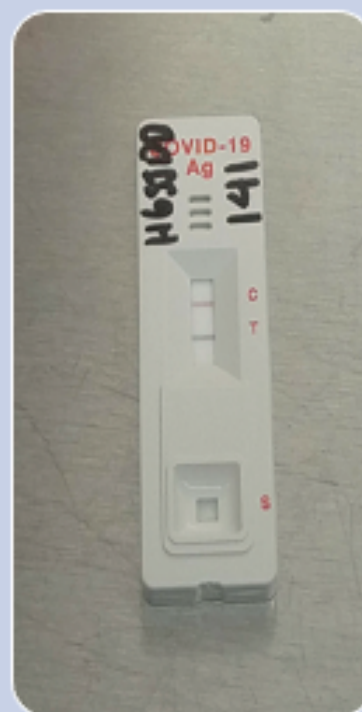
■ Líneas tenues



1. GenBody



2. Standar Q



3. Biocredit

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).