

COVID-19 Antigen Rapid Test

VALIDACIÓN ANALÍTICA

BIOLAN
HEALTH

Fecha: 10/01/2022

CONTENIDO

| | |
|---|----------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 2 |
| 2. OBJETIVO | 3 |
| 3. PROCEDIMIENTO Y RESULTADOS | 3 |
| 3.1. Evaluación clínica | 3 |
| Precisión, especificidad y sensibilidad clínica | 3 |
| 3.2. Resultados analíticos | 5 |
| Límite de Detección (Sensibilidad Analítica) | 5 |
| Reactividad Cruzada (Especificidad Analítica) | 6 |
| Sustancias Interferentes (Especificidad Analítica) | 7 |
| Efecto Gancho | 7 |

1. INTRODUCCIÓN

El SARS-CoV-2 (síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2) es un coronavirus nuevo que provoca la enfermedad COVID-19, una enfermedad respiratoria que puede abarcar desde un resfriado común hasta enfermedades más graves que pueden provocar la muerte. Fue detectado por primera vez en diciembre de 2019 en la ciudad china de Wuhan y desde entonces, se ha propagado rápidamente por el mundo¹. De acuerdo con las pruebas actuales, la transmisión entre humanos del virus de la COVID-19 se realiza, básicamente, a través de gotas de la respiración y por contacto². Aunque el período de incubación de la COVID-19 abarca entre 1 y 14 días, como media, transcurren entre 5 y 6 días desde que una persona se infecta con el virus hasta que comienzan a aparecer los síntomas³. Además, la carga viral del SARS-CoV-2 en vías respiratorias superiores tiende a alcanzar su nivel máximo en la primera semana después del inicio de los síntomas⁴ por lo que el paciente tiende a ser más infeccioso en esta fase de la enfermedad⁵. Por tanto, resulta fundamental la detección y el aislamiento tempranos de estos pacientes para evitar la propagación del virus.

Hasta la fecha, la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) sigue siendo el método estándar para la detección de SARS-CoV-2. A pesar de su elevado nivel de sensibilidad y especificidad, la muestra debe enviarse a un laboratorio central para que éste realice el análisis y hay que esperar unas cuantas horas para obtener el resultado. En este contexto, el COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH, es un inmunoensayo de flujo lateral que permite la detección rápida (15-20 min) y sencilla del antígeno de la nucleoproteína del SARS-CoV-2, un antígeno detectable generalmente en muestras de hisopos nasales durante la fase aguda de la infección. Por lo tanto, el COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH puede ser una herramienta extremadamente útil para la detección precoz de personas infectadas y, por lo tanto, para prevenir la propagación de la COVID-19 gracias a la identificación y el aislamiento tempranos de casos potencialmente infecciosos.

¹ <https://www.who.int/es/emergencias/diseases/novel-coronavirus-2019>

² <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/modes-of-transmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations>

³ <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19>

⁴ Cevik M, Tate M, Lloyd O, Maraolo AE, Schafers J, Ho A. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Microbe*. 2021;2(1):e13-e22. doi:10.1016/S2666-5247(20)30172-5.

⁵ Cheng HY, Jian SW, Liu DP, Ng TC, Huang WT, Lin HH. Contact Tracing Assessment of COVID-19 Transmission Dynamics in Taiwan and Risk at Different Exposure Periods before and after Symptom Onset. *JAMA Internal Medicine*. 2020;180(9):1156-1163. doi:10.1001/jamainternmed.2020.

2. OBJETIVO

Evaluar la aplicabilidad del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH S.L. para la detección de SARS-CoV-2 en muestras clínicas.

3. PROCEDIMIENTO Y RESULTADOS

3.1. Evaluación clínica

Precisión, especificidad y sensibilidad clínica

El desempeño clínico del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH se evaluó en un estudio prospectivo realizado en el Hospital Universitario de Cruces en el que se realizaron pruebas a un total de 430 voluntarios. Entre los voluntarios, algunos presentaban síntomas compatibles con una infección por SARS-CoV-2 (en el plazo de 7 días a partir del inicio de los síntomas) y otros eran asintomáticos con o sin contacto estrecho positivo conocido.

Se recogió un hisopo nasal directo de todos los voluntarios, que fue manipulado y analizado *in situ* con el COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH por personal cualificado y de acuerdo con las instrucciones descritas en el prospecto del dispositivo a evaluar. En este estudio, los resultados del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH se compararon con los obtenidos en un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) para la detección de SARS-CoV-2 en muestras de hisopos nasofaríngeos. Para ello, además del hisopo nasal, el mismo profesional sanitario recogió una muestra de hisopo nasofaríngeo de todos los voluntarios. Este hisopo fue eluído y guardado en un medio de transporte de virus (MTV) para realizar la RT-PCR en el laboratorio central del Hospital Universitario de Cruces.

Tabla 1. Desempeño clínico del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH frente a RT-PCR.

| BIOLAN HEALTH COVID-19 Antigen Rapid Test | Método de Referencia RT-PCR | | |
|---|-----------------------------|----------|-------|
| | Positivo | Negativo | Total |
| Positivo | 94 | 6 | 100 |
| Negativo | 22 | 308 | 330 |
| Total | 116 | 314 | 430 |
| PCP (sensibilidad): 81,0% (95% CI: 73,90-88,16%) | | | |
| PCN (especificidad): 98,1% (95% CI: 96,57-99,60 %) | | | |
| PCG (precisión): 93,5% (95% CI: 91,15-95,82 %) | | | |

Explicación de los términos:

95% C.I.: 95% Intervalo de Confianza

PCP: Porcentaje de Concordancia Positiva (sensibilidad) = Verdaderos positivos/Verdaderos positivos + Falsos negativos. Porcentaje de concordancia observada respecto a los valores positivos entre el producto del test y el test de referencia.

PCN: Porcentaje de Concordancia Negativa (especificidad) = Verdaderos negativos/Verdaderos negativos + Falsos positivos. Porcentaje de concordancia observada respecto a los valores negativos entre el producto del test y el test de referencia.

PCG: Porcentaje de Concordancia Global (precisión) = Verdaderos positivos + Verdaderos negativos/ Total de muestras. Porcentaje de concordancia observada respecto a los valores totales entre el producto del test y el test de referencia.

Al igual que con el resto de test de antígenos, la sensibilidad en la población analizada depende de la carga viral de la persona y, por tanto, la detección de casos positivos, puede disminuir a medida que se reduzca la carga viral. Tal y como se muestra en la Tabla 2, donde se recoge la correlación entre los resultados del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH y el valor Ct RT-PCR, que está inversamente relacionado con la carga viral, la sensibilidad del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH aumenta con la carga viral y se sitúa en un **98,1% para valores de Ct RT-PCR ≤ 25**.

Tabla 2. Desempeño clínico del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH frente al valor Ct de la RT-PCR.

| BIOLAN HEALTH COVID-19 Antigen Rapid Test | Método de Referencia RT-PCR | | |
|--|-----------------------------|---------|---------|
| | Positivo | | |
| | Ct ≤ 25 | Ct ≤ 30 | Ct ≤ 35 |
| Positivo | 53 | 81 | 94 |
| Negativo | 1 | 11 | 19 |
| Total | 54 | 92 | 113 |
| PCP (sensibilidad) Ct ≤ 25: 98,1% (95% CI: 94,55-100%) | | | |
| PCP (sensibilidad) Ct ≤ 30 : 88,0% (95% CI: 81,41-94,67%) | | | |
| PCP (sensibilidad) Ct ≤ 35: 83,2% (95% CI: 76,29-90,08%) | | | |

Nuestros resultados (**sensibilidad 98,1% para valores de Ct RT-PCR ≤ 25, especificidad 98,1%**) muestran que el COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH **cumple los criterios definidos por la OMS⁶ y por el Health Security Committee de la Comisión Europea⁷, con una sensibilidad mayor del 80% (y >90% para valores de Ct RT-PCR ≤ 25) y una especificidad superior al 98%**, lo que demuestra que el test cumple los requisitos para su aplicación en la práctica clínica.

3.2. Resultados analíticos

Límite de Detección (Sensibilidad Analítica)

El límite de detección (LoD) del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH se determinó evaluando diferentes concentraciones de una muestra de virus SARS-CoV-2 inactivada por calor. Para ello, se adicionó el material inicial (una muestra de virus SARS-CoV-2 inactivada por calor con una concentración de $1 \times 10^{4,95}$ TCID₅₀/mL) en un pool de muestras nasales de donantes sanos confirmados como negativos para SARS-CoV-2.

Posteriormente, se realizó un ensayo con cada dilución de virus añadiendo 50 µL de la muestra al hisopo y siguiendo el procedimiento descrito en el prospecto.

En primer lugar, se llevó a cabo un estudio preliminar en el que se analizaron por quintuplicado diluciones seriadas (1/10) de la muestra original, y se

⁶ Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays: Interim guidance, 11 September 2020, WHO.

⁷https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/preparedness_response/docs/covid-19_rat_common-list_en.pdf

seleccionó una concentración entre la última dilución en proporcionar 5 resultados positivos y la primera en proporcionar 5 resultados negativos. Utilizando esta concentración, se delimitó aún más el LoD. Para verificar el LoD, la última dilución que demostró una positividad del 100 %, fue posteriormente ensayada en otras 20 réplicas. Finalmente, el LoD se determinó como la concentración de virus más baja que se detectó ≥ 95 % de las ocasiones.

En este estudio, se confirmó que el LoD del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH (la concentración de virus con la que, como mínimo, 19/20 replicados arrojaron resultados positivos) es de $3,5 \times 10^{2,5}$ TCID₅₀/mL.

| Concentración del material inicial | LOD estimado | N. ° Positivos/Total | % Positivos |
|---|--|----------------------|-------------|
| $1 \times 10^{4,95}$ TCID ₅₀ /mL | $3,5 \times 10^{2,5}$ TCID ₅₀ /mL | 19/20 | 95% |

Reactividad Cruzada (Especificidad Analítica)

La reactividad cruzada del COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH se evaluó con la realización de pruebas de un grupo de patógenos respiratorios de alta prevalencia que pueden estar presentes en la cavidad nasal y que puedan presentar reacciones cruzadas con el COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH. La concentración final de cada organismo aparece documentada en la siguiente tabla. No se observó reactividad cruzada.

| Sustancia de reactividad cruzada | Concentración testada | Concentración final en el test | Reactividad cruzada |
|----------------------------------|---|---|---------------------|
| Enterovirus tipo 71 | $4,17 \times 10^5$ TCID ₅₀ /mL | $3,79 \times 10^4$ TCID ₅₀ /mL | No |
| Adenovirus | $1,05 \times 10^6$ TCID ₅₀ /mL | $9,55 \times 10^4$ TCID ₅₀ /mL | No |
| Virus influenza B | $4,68 \times 10^4$ TCID ₅₀ /mL | $5,51 \times 10^3$ TCID ₅₀ /mL | No |
| Virus H1N1 influenza A | $4,17 \times 10^5$ TCID ₅₀ /mL | $4,91 \times 10^4$ TCID ₅₀ /mL | No |
| Virus parainfluenza tipo 1 | $1,26 \times 10^6$ TCID ₅₀ /mL | $1,48 \times 10^5$ TCID ₅₀ /mL | No |
| Nucleoproteína HCoV-229E | 0,25 mg/mL | 29,41 µg/mL | No |
| Nucleoproteína HCoV-NL63 | 0,25 mg/mL | 29,41 µg/mL | No |
| Nucleoproteína HCoV-HKU1 | 0,25 mg/mL | 29,41 µg/mL | No |
| Nucleoproteína HCoV-OC43 | 0,25 mg/mL | 29,41 µg/mL | No |

**Nota: El SARS-CoV Humano y MERS-CoV no se testaron por falta de disponibilidad.*

Sustancias Interferentes (Especificidad Analítica)

Las siguientes sustancias, que pueden estar presentes naturalmente en las muestras respiratorias o que pueden ser introducidas artificialmente en la cavidad nasal o nasofaringe, fueron evaluadas con el COVID-19 Antigen Rapid Test de BIOLAN HEALTH en las concentraciones listadas a continuación y se observó que no interfieren en el resultado del test.

| Sustancias Potencialmente Interferentes | Concentración testada | Concentración final en el test | Interferencias |
|---|-----------------------|--------------------------------|----------------|
| Ibuprofeno | 175 mg/dL | 25 mg/dL | No |
| Amoxicilina | 35 mg/dL | 5 mg/dL | No |
| Hemoglobina | 700 mg/L | 100 mg/L | No |
| Ácido acetilsalicílico | 70 mg/dL | 10 mg/dL | No |
| Mucina | 4% (v/v) | 1% (v/v) | No |
| Biotina | 1 mg/mL | 100 ug/mL | No |
| Benzocaina | 1 mg/mL | 0,14 mg/mL | No |
| Tobramicina | 140 ug/mL | 20 ug/mL | No |
| Acetaminofen | 21 mg/dL | 3 mg/dL | No |
| Proteína A de Staphylococcus aureus | 175 ng/mL | 25 ng/mL | No |

Efecto Gancho

No se observó ningún efecto gancho hasta la concentración más alta de SARS-CoV-2 inactivado por calor disponible en stock: $1 \times 10^{4,95}$ TCID₅₀/mL.

Informe publicado el 10 de Enero de 2022.



Larraitz Añorga

CEO de BIOLAN HEALTH