



Cuba Salud

IV Convención
Internacional de Salud
17-21 de octubre, 2022

Evaluación clínica de la prueba rápida Panbio™ COVID-19 Ag contra muestras sobrantes de la prueba Panbio Ag usando el método RT-PCR.

Dra. Dra. Liem Laguna Oliva¹
DrC Abrahan Beato Canfux²
DrC Teresita De Jesús Montero González³
Dra. Beatriz Amat Valdés⁴
Dr. Edel García Vega⁵

¹Hospital Militar Central “Dr. Luis Díaz Soto”, La Habana, Cuba, lilao@infomed.sld.cu

²Universidad de ciencias Médicas de las FAR, La Habana, Cuba, abeato@infomed.sld.cu

³Hospital Militar Central “Dr. Luis Díaz Soto”, La Habana, Cuba, teremg@infomed.sld.cu

⁴Hospital Militar Central “Dr. Luis Díaz Soto”, La Habana, Cuba, bsuatv@infomed.sld.cu

⁵Hospital Militar Central “Dr. Luis Díaz Soto”, La Habana, Cuba, edelg@infomed.sld.cu

Resumen: La enfermedad por coronavirus es una virosis de origen infeccioso causada por una especie, recién descubierta, el síndrome respiratorio agudo severo (SARS-Cov-2). La pandemia de COVID-19 ha puesto una presión, casi sin precedentes en la era contemporánea a los sistemas de salud del mundo entero y las principales pruebas de detección utilizadas para COVID-19 emplean la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) que tarda unas pocas horas. La disponibilidad de una prueba de diagnóstico rápida y costo efectiva en un lugar de atención es fundamental para que los profesionales de la salud puedan ayudar en el diagnóstico de los pacientes y prevenir una mayor propagación del virus.

El objetivo de este trabajo es evaluar la prueba rápida Panbio Covid-19 Ag, utilizando muestra nasal recién recolectada, de sujetos sintomáticos, basada en los resultados obtenidos de la RT-PCR del material sobrante del tubo de extracción Panbio, del mismo hisopo nasal. Se realizó un estudio descriptivo y de corte transversal de 121 muestras de pacientes hospitalizados sintomáticos que se encontraban entre el 6to y 7mo día de evolución.

Del total de muestras en estudio hubo 101 coincidencias diagnósticas que representan el 83,47%. Hubo 20 discrepancias del total de muestras estudiadas que representan el 16,5%.

Podemos concluir que la prueba rápida de detección de Ag (Panbio) puede considerarse como sustituta de la RT-PCR del laboratorio cuando se deben tomar decisiones inmediatas sobre la atención del paciente, o cuando la RT-PCR no puede ser entregada a tiempo.

Palabras Claves: Covid 19, pruebas rápidas, antígeno (Ag), SARS-Cov2.

I. INTRODUCCIÓN

Los coronavirus se encuentran ampliamente distribuidos e infectan humanos, mamíferos y aves, pueden ocasionar enfermedades respiratorias, entéricas, hepáticas y neurológicas^(1,2). De acuerdo con el Comité Internacional de Taxonomía de Virus, pertenecen al orden Nidovirales familia Coronaviridae subfamilia Coronavirinae, esta última consta de cuatro géneros: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus y Deltacoronavirus⁽²⁾.

Se denominan coronavirus por la apariencia que dan bajo el microscopio electrónico parecido a una corona. Son virus envueltos, con un diámetro aproximado de 125 nm, genoma ARN de cadena simple, sentido positivo. Se considera el genoma más grande de los virus ARN con un tamaño de 26-32 kilobases, codifica cuatro proteínas estructurales que incluyen glicoproteína espiga (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N) y otras 16 proteínas no estructurales que participan en la transcripción y replicación viral como es la helicasa y la ARN polimerasa dependiente de ARN^(1,2,3).

Sobre la base de secuencias genéticas se sabe que todos los coronavirus humanos probablemente tienen un ancestro común, usan reservorios naturales o intermediarios en animales y tienen la capacidad de cruzar la barrera entre especies^(3,4).

La enfermedad por coronavirus (COVID-19), es una virosis de origen infeccioso causada por una especie, recién descubierta, el síndrome respiratorio agudo severo (SARS-Cov-2). El SARS-Cov-2 es un virus ARN de sentido positivo no segmentado con envoltura. Se transmite de persona a persona a través de gotitas o contacto directo, y se ha estimado que la infección tiene un periodo de incubación medio de 6,4 días y un número de reproducción básico de 2,24 a 3,58. Entre los pacientes con neumonía causada por SARS-Cov-2, la fiebre es los síntomas más comunes seguidos de la tos^(6,7).

Los métodos diagnósticos del SARS Cov-2 resultaron ser una incógnita en la identificación molecular del mismo. Métodos de diagnóstico rápido como las técnicas inmunocromatográficas (test diagnóstico de Ag y Ac) y las técnicas moleculares de (PCR-RT) resultaron ser herramientas efectivas y seguras para la identificación de la enfermedad, siempre y cuando cumplieran con los indicadores de sensibilidad y especificidad establecidos.

Las principales pruebas de detección utilizadas para COVID-19 emplean la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) que tarda unas pocas horas y con una sensibilidad y especificidad superior al 99%. Esta técnica ya empleada hace algunos años en el mundo para el diagnóstico de otras enfermedades resultó ser el Gold estándar para la confirmación del nuevo coronavirus. La disponibilidad de una prueba de diagnóstico rápida y costo efectivo en un lugar de atención es fundamental para que los profesionales de la salud puedan ayudar en el diagnóstico de los pacientes y prevenir una mayor propagación del virus.

Con el curso de la enfermedad se hacía urgente e imprescindible desarrollar pruebas rápidas que permitieran identificar al menos el 80% de casos infectados con Covid-19 en grupos poblacionales. Con el inicio de los test de anticuerpos (Ac) y múltiples resultados discordantes por el poco conocimiento de la evolución clínica de la Covid, las pruebas de antígenos (Ag) jugarían un papel fundamental en la lucha contra la pandemia resultando ser más precisas y efectivas, sobre todo en el periodo sintomático de la enfermedad.

Por todo lo antes dicho, nos propusimos evaluar la prueba rápida Panbio Covid-19 Ag, de sujetos sintomáticos, con sospecha de infección por Covid-19.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la prueba rápida Panbio Covid-19 Ag, utilizando muestra nasal recién recolectada, de sujetos sintomáticos, basada en los resultados obtenidos de la RT-PCR del material sobrante del tubo de extracción Panbio, del mismo hisopo nasal.

II. MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo y de corte transversal de 121 muestras de pacientes sintomáticos hospitalizados en el HMC Dr. Luis Díaz Soto que se encontraban entre el 6to y 7mo día de evolución.

A. Descripción del dispositivo de investigación

El dispositivo de prueba rápida Panbio™ COVID-19 Ag es una prueba inmunocromatográfica de flujo lateral en la plataforma Panbio™ COVID-19 Ag, diseñada como una ayuda para diagnosticar la enfermedad COVID-19 en pacientes infectados por el virus SARS-CoV-2 y puede usar tejido líquidos obtenidos de hisopos nasales o nasofaríngeos. Para la prueba rápida Panbio™ COVID-19 Ag, el hisopo del paciente se lava en tampón de extracción, del cual una pequeña fracción se usa para la prueba, dejando más de la mitad de la muestra sin usar⁽⁵⁾.

B. Criterios de inclusión de sujetos

- Hombre o mujer de todas las edades.
- El personal del estudio sospecha que el paciente ha contraído la COVID-19 en los últimos 7 días de inscripción y presenta síntomas compatibles con la enfermedad.

C. Criterios de exclusión

- Paciente con lesiones, hemorragia nasal, traumatismos faciales o una afección que crea una barrera mecánica para obtener muestras de manera segura.
- El paciente está actualmente inscrito en un estudio para evaluar un fármaco en Investigación (candidato vacunal).
- El paciente ya ha participado en este estudio.
- Paciente que no puede o no quiere dar su consentimiento informado.
- Extracción de muestras nasales o nasofaríngeas en las últimas 24 horas posteriores a la inscripción.
- Poblaciones vulnerables consideradas inapropiadas para el estudio por el investigador principal del sitio (pacientes que presenten un agravamiento de su enfermedad).

D. Diseño del estudio

Se utilizará un hisopo de espuma nasal para recolectar la muestra de cada paciente de quien se haya obtenido el consentimiento informado. Se inscribirán paciente de todos los grupos de edad que cumplan con los criterios de elegibilidad. El hisopo nasal se usará en ambas fosas nasales del paciente y se probará inmediatamente con el dispositivo de prueba rápida Panbio™ COVID-19 Ag siguiendo las instrucciones de uso.

El tubo de extracción Panbio que contiene la muestra sobrante / residual se enviará inmediatamente al Laboratorio de Biología Molecular del HMC Dr. Luis Díaz Soto. Se agregará una alícuota de 500 µl del medio de transporte BTV de producción nacional (BioCen) al tubo de extracción, la solución resultante se mezclará golpeando suavemente y luego se transferirá a un tubo Eppendorf para su análisis mediante RT-PCR. La prueba de RT-PCR se realizara de acuerdo a los protocolos vigentes, la extracción del RNA viral se hará por el método automatizado utilizando un extractor de 32 posiciones de fabricación China y el equipo de PCR a utilizar será un SLAN-96P.

Nota: La mezcla de 120 µl de muestra de Panbio sobrante en el tubo de extracción y 500 µl de BTV generará aproximadamente la misma concentración de partículas virales que la utilizada por las pruebas estándar de detección (RT-PCR).

E. Procedimiento

Procedimiento del dispositivo de prueba rápida de residuos -Panbio COVID-19 Ag.

1. Obtenga los tubos de extracción que contienen las muestras sobrantes de la prueba Panbio™ (aproximadamente 120µl).
2. Destape los tubos dentro de una campana de flujo laminar Clase 2B2, en la sección de extracción del LBM.
3. Agregue 500 µl BTV al tubo.
4. Mezcle el tubo tocándolo.
5. Después de mezclar, retire la tapa inferior del tubo de extracción y recoja todo el contenido del tubo en un tubo Eppendorf de 1,5 ml.
6. 100/200µl se utilizará para la extracción de ARN, siguiendo el procedimiento estándar local de RT-PCR para el Dx molecular de la COVID-19.
7. Siga los procedimientos operativos estándar descritos en los protocolos del LBM.

F. Operadores

Categoría	Funciones
Médicos	Lectura e Interpretación de resultados de la PCR-TR
Licenciados y Técnicos	Procesamiento de las muestras
Alumnos de Bioanálisis clínico	Toma de muestras y transporte hacia el Laboratorio.

G. Pruebas de Control

Los hisopos de control externo (positivos y negativos) deben probarse con una prueba de antígeno Panbio™ COVID-19 cada vez que se abre un nuevo kit. Según se indica en inserto del producto, estos hisopos de control no deben usarse para tomar muestras de hisopos de pacientes.

H. Flujograma

Lugar de toma de muestra	Salas del hospital y Cuerpo de guardia
Transporte de la muestra	Desde las aéreas de recolección hacia el laboratorio en contenedores cerrados
Procesamiento de la muestra	En el LBM antes de las 2 horas posteriores a la toma de muestra.
Emisión de resultados	En el LBM en las primeras 24 horas .

III. RESULTADOS

La tabla 1 muestra los estudios de coincidencia entre los métodos rápidos analizados. De las 121 muestras estudiadas, 101 mostraron coincidencias diagnósticas, representando el 83,47%.

Total, de coincidencias	Test/PCR +	Test/PCR -
101	21	80
%	83,47	

Tabla1

La tabla 2 representa el porcentaje de discrepancia entre ambos métodos estudiados (Panbio™ COVID-19 y PCR-RT SENTINEL). Según los resultados obtenidos, aunque breves, representan claramente el porcentaje de discrepancia entre ambos métodos de solo un 16,5 %.

Total, de discrepancias	Test		PCR-TR	
	+	-	+	-
20		4	4	
	16			16
%	16,5			

Tabla2

Estas discrepancias diagnósticas tienen un balance positivo ya que de los 20 pacientes solo se dejaron de diagnosticar 4(16.5%) por Test. El bajo nivel de discrepancia y la alta coincidencia diagnóstica entre

ambos métodos demuestra que es eficaz su utilización en pacientes sospechosos, para el control de foco y la vigilancia epidemiológica.

La tabla 3 muestra el análisis de sensibilidad y especificidad del test rápido Abbott, comparado con el PCR/RT

PCR	Test rápido Abbott		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	21	4	25
Negativo	16	80	96
Total	37	84	121

Tabla3

Sensibilidad = 56 % (Proporción de personas realmente positivas, que serán identificadas correctamente con la prueba).

Especificidad = 95 % (Proporción de personas realmente negativas que serán correctamente identificadas por la prueba).

Valor predictivo positivo = 84 % (Posibilidad que una persona con la prueba positiva, sea realmente positiva).

Valor predictivo negativo = 83 % (probabilidad de que una persona con la prueba negativa, sea realmente negativa).

Las técnicas rápidas Panbio COVID 19 Ag Abbot Point of Care es un ensayo de flujo lateral para la detección rápida y cualitativa del SARS CoV 2. Son técnicas de alto rendimiento que permiten el tratamiento inmediato o medidas de aislamientos con el objetivo de minimizar la transmisión, Con los datos obtenidos en nuestro trabajo resulto ser un instrumento confiable y accesible para ayudar a los profesionales de la salud a detectar infecciones tempranas por COVID 19

Las correlaciones y la discrepancia en la relación del método rápido con el PCR- RT han resultado factibles según describe la literatura. Según P Gras Valenti y cols de 494 pacientes estudiados por ambos métodos el 95 % resultaron con buena correlación, resultados muy similares a los obtenidos en este estudio,

Según los estudios realizados por esta técnica los valores de sensibilidad y especificidad superan el 80% de la sensibilidad y 90 % de la especificidad como demuestran algunos autores en la literatura realizada. Según Dinnes y cols en un estudio de validación del test en estudio con el gold estándar PCR-RT los valores de especificidad y sensibilidad fueron superiores al 80 % valores que se asemejan a los de nuestro estudio. Según el estudio (Fig. 1) de un total de 585 muestras la sensibilidad y especificidad estuvieron en un 85 y 99% respectivamente sin diferencias significativas con nuestro trabajo. Estos resultados demuestran la efectividad del estudio para el pesquizaje de poblaciones con COVID 19 en cualquier latitud, indicando una opción diagnostica más de la enfermedad.

Figura 1.

Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device Results

		PCR Test Result		
		Positive	Negative	Total
Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device Results	Positive	128	1	129
	Negative	12	444	456
	Total	140	445	585
		Sensitivity	Specificity	Overall Percent Agreement
		91.4% [85.5%;95.5%]	99.8% [98.8%;100%]	97.8% [96.2%;98.8%]

“La sensibilidad de las pruebas de antígeno varía. En las personas con signos y síntomas de covid-19, las sensibilidades son más altas en la primera semana de la enfermedad, cuando la carga viral es mayor. Las pruebas que han mostrado cumplir con los criterios apropiados, como los perfiles de productos prioritarios de la OMS (WHO's priority target product profiles) para el diagnóstico de covid-19 (sensibilidad $\geq 80\%$ y especificidad $\geq 97\%$ "aceptables"), pueden considerarse como sustitutas de la RT-PCR del laboratorio cuando se deben tomar decisiones inmediatas sobre la atención del paciente, o cuando la RT-PCR no puede ser entregada a tiempo. Los valores predictivos positivos indican que se podría considerar la realización de pruebas de confirmación de personas con resultados positivos en entornos de baja prevalencia. Debido a la sensibilidad variable de las pruebas de antígeno, las personas con resultado negativo aún podrían estar infectadas”⁽⁸⁾.

IV. CONCLUSIONES

Consideramos que el test rápido Abbot, según lo reportado por el fabricante en cuanto a sensibilidad y especificidad, lo reportado en la literatura consultada, así como los resultados obtenidos en el estudio realizado, puede ser útil en el diagnóstico entre el quinto y séptimo día de la covid-19.

REFERENCIAS

- 1- Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020; Feb 26: 102433. doi:10.1016/j.jaut.2020.102433.
- 2- Guo YR, Cao QD, Hong ZS, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak-an update on the status. *Mil Med Res.* 2020; Mar 13; 7(1):11. doi:10.1186/s40779-020-00240-0.
- 3- Lai CC, Shih TP, Ko WC, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-Cov-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *IntJ Antimicrob Agents.* 2020; Mar 55(3): 105924. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105924.

- 4- In Vitro Diagnostic Assays for COVID-19; Recent Advance and emerging Trends (Sandeep Kumar Vashist, 2020 April 05:: diagnostics).
- 5- Nano Research for COVID-(<http://dx.doi.org/10.1021/acsnano.0c02540>).
- 6- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, et al. The proximal origin of SARS-Cov-2. Nat Med.2020; 26 (april): 450-452.
- 7- Han Q, Lin Q, Jin S, You L. Coronavirus 2019-n CoV: A brief perspective from the front line. Journal of infection 2020; 80:373-377.
- 8- Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, Taylor M, Adriano A, Davenport C, et al. Pruebas rápidas moleculares y de antígeno en el lugar de atención para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2. Biblioteca Cochrane. 2020. Disponible en: <https://www.cochranelibrary.com/es/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD013705.pub2/full/es>