

Sensibilidad y especificidad de una prueba para la detección de antígenos del virus SARS-CoV-2 en hisopado nasofaríngeo

Sensitivity and specificity of a test for the detection of SARS-CoV-2 virus antigens in nasopharyngeal swab

Marvin Durán Delgado¹, Silvia Araya Segura¹, Josué Solano Cerdas¹, Nicole Vargas Viquez¹, Melissa Carazo¹, Elizabeth Rojas¹, José Pablo Marín Gómez¹

¹Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense de Seguro Social, Costa Rica.

Correspondencia: mdurand@ccss.sa.cr

Recibido: 20/05/2021; aceptado para publicación: 27/09/2021.

Resumen

La detección oportuna de personas infectadas con el SARS-CoV-2 resulta fundamental en el abordaje y control de la COVID-19. La reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa (RT-PCR) es el método de referencia para su diagnóstico, sin embargo, la cantidad de pruebas requerida por los sistemas de salud en periodos de transmisión comunitaria activa sobrepasa la capacidad instalada para el diagnóstico basado en laboratorio, por lo tanto, surgió la necesidad de implementar métodos más rápidos y que requieran menor especialización. Las pruebas rápidas en el punto de atención (POCT, por sus siglas en inglés, *Point of Care Testing*) pretenden abordar este problema, de modo que algunos fabricantes han propuesto la detección de antígenos del SARS-CoV-2 en muestras respiratorias. En este trabajo, verificamos el rendimiento analítico de una prueba para la detección de antígenos del virus SARS-CoV-2, en condiciones de laboratorio y en comparación con la RT-PCR en pacientes del Servicio de Urgencias del Hospital San Juan de Dios. Para ello empleamos 246 muestras de hisopado nasofaríngeo de pacientes sintomáticos con cinco o menos días de evolución. La sensibilidad de la prueba de antígeno fue de 80.7% con una especificidad del 100% respecto a la RT-PCR; se estableció una sensibilidad de 90% cuando el promedio de los ciclos de reacción (Cts) es menor o igual a 30. La detección de antígeno de SARS-CoV-2 tiene potencial para detectar la enfermedad en su fase activa, pero su sensibilidad es insuficiente para otras aplicaciones requeridas por el sistema de salud como tamizajes comunitarios o estudios de contactos asintomáticos. Su uso se recomienda para pacientes sintomáticos, con cinco o menos días de evolución mientras se respete estrictamente las condiciones establecidas por el fabricante, y todos los resultados negativos deben ser corroborados por RT-PCR.

Palabras clave

COVID-19, prueba rápida, antígeno SARS-CoV-2

Abstract

The timely detection of people infected with SARS-CoV-2 is essential in the management and control of COVID-19. The reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) is the reference method for its diagnosis; however, the amount of tests required by health systems in periods of active community transmission exceeds the installed capacity for laboratory based diagnostics. Therefore, it is necessary to implement faster methods that require less specialization. Rapid point-of-care tests (POCT) are intended to address this problem. For that reason, some manufacturers have proposed the detection of SARS-CoV-2 antigens in respiratory samples. In this work we verify the analytical performance of the detection of antigens of the SARS-CoV-2 in comparison with RT-PCR in patients from the Emergency Department of the Hospital San Juan de Dios. We used 246 nasopharyngeal swab samples from symptomatic patients with 5 or less days of evolution. The sensitivity of the antigen test was 80.7% with a specificity of 100% in comparison with RT-PCR; a sensitivity of 90% was established when the average of the reaction cycles (Cts) is less than or equal to 30. The SARS-CoV-2 antigen detection has the potential to detect the disease in its active phase, but its sensitivity is insufficient for other applications required by the health system, such as community screenings or asymptomatic contact studies. Its use is recommended for symptomatic patients, with 5 or less days of evolution, strictly fulfilling the conditions established by the manufacturer. All negative results must be corroborated by RT-PCR.

Keywords

COVID-19, rapid diagnostic test, SARS-CoV-2 antigen

Introducción

El SARS-CoV-2 es el agente etiológico de la COVID-19 (1). En la gran mayoría de los casos, esta enfermedad se caracteriza por un cuadro respiratorio leve. Sin embargo, en una porción importante de pacientes se desarrolla una neumonía atípica que en algunos sujetos se complica con un síndrome de inflamación sistémica que puede cursar con síndrome de distrés respiratorio, coagulopatías y afectación multisistémica (2). Es conocido que el virus se transmite fácilmente entre sujetos susceptibles; el mecanismo principal es a través de secreciones respiratorias emitidas por sujetos que cursan con enfermedad activa o por contaminación de superficies cercanas. Para finales de marzo de 2021, ha infectado a más de 120 millones de personas y ocasionado más de 2.7 millones de muertes (3).

Ante la expansión global de la COVID-19, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció como prioridad implementar un sistema de diagnóstico oportuno, enfocado principalmente en individuos sintomáticos, con la finalidad de controlar la dispersión del virus y minimizar el impacto de la pandemia. La RT-PCR se estableció como método de referencia mostrando una especificidad casi perfecta y una excelente sensibilidad durante la fase activa de la enfermedad (4); no obstante, la disparidad entre la cantidad de muestras remitidas para confirmación diagnóstica y las capacidades instaladas de los laboratorios clínicos ha ocasionado problemas debido a la complejidad técnica y el tiempo de procesamiento demandados por dicha técnica; adicionalmente, estas pruebas son más costosas, lo que genera una presión económica adicional al sistema (5). Esto ha generado la necesidad de incursionar en métodos diagnósticos alternativos que permitan delimitar la condición de cada paciente en la brevedad posible. Como alternativa se ha propuesto la determinación del antígeno del virus SARS-CoV-2 que se basa en una técnica de inmunocromatografía de flujo lateral (SARS-CoV-2 Ag) y arroja resultados en pocos minutos. Esta técnica no requiere ni laboratorios ni personal altamente especializado para su ejecución, pero se sabe que su sensibilidad es menor respecto a la RT-PCR dado que no realiza ningún tipo de amplificación del material a detectar (6). La OMS recomendó el uso de estas pruebas para el diagnóstico de la COVID-19 siempre y cuando se cumplan requisitos importantes, específicamente, en el tiempo de la toma de la muestra y la forma de seleccionar a los sujetos candidatos a la prueba, así como la utilización de los productos de los fabricantes que hayan mostrado cumplir ciertos requerimientos analíticos, el cuadro uno resume algunos de estos requisitos.

Cuadro 1. Resumen de requisitos técnicos de la OMS para la aprobación de una prueba de SARS-CoV-2 Ag (7)

Característica	Requisito técnico
Población diana	Pacientes que cumplan la definición de caso sospechoso de COVID-19 (sintomáticos)
Muestra	Hisopado nasofaríngeo (recomendado), hisopado orofaríngeo, hisopado nasal
Sensibilidad	Mayor o igual 80% respecto al ensayo de referencia
Especificidad	Mayor o igual a 95% respecto al ensayo de referencia

Actualmente, existe una falta de consenso sobre la sensibilidad y especificidad de estas pruebas; los hallazgos de la comunidad científica son muy dispares entre sí, y han evidenciado importantes diferencias entre los productos ofrecidos por distintos fabricantes, de modo que en este trabajo nos orientamos a determinar la sensibilidad y especificidad de uno de los fabricantes que ha demostrado cumplir con los requerimientos establecidos por la OMS (8).

Metodología

Aspectos bioéticos

El presente estudio fue realizado bajo la modalidad de investigación en salud pública y considerada como propia del quehacer institucional, según lo contenido en el artículo 7 de la ley 9234 de la República de Costa Rica, para lo cual se solicitó excepción del consentimiento informado. El estudio fue aprobado tanto por el Centro de Desarrollo Estratégico e Información en Salud y Seguridad Social (CENDEISSS-AB-2142-2020) como por el Consejo Nacional de Investigación (CONIS 387-2020).

Selección de los participantes

Se seleccionaron, de forma aleatoria y prospectiva, a 246 sujetos de ambos sexos, mayores de 18 años, que consultaron en el Servicio de Urgencias del Hospital San Juan de Dios, los cuales cumplían la definición de caso sospechoso de COVID-19 vigente por el Ministerio de Salud de Costa Rica (9). Dichos sujetos fueron sometidos a un hisopado nasofaríngeo para detección de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 según el procedimiento rutinario de la institución. Los sujetos tuvieron un máximo de cinco días de evolución desde el inicio de los síntomas al momento de presentarse a consultar, tal y como se requiere en la práctica diaria de acuerdo al lineamiento supracitado.

Se excluyeron sujetos que habían sido sometidos a hisopado nasofaríngeo para detección de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 por nexo epidemiológico, tamizaje comunitario o asintomáticos. Adicionalmente, se excluyeron sujetos que habían sido sometidos a hisopado nasofaríngeo para detección de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 y que al momento de la recepción en el laboratorio su muestra excediera las cuatro horas de obtenida.

Obtención de los especímenes

Las muestras de hisopado nasofaríngeo de los 246 sujetos seleccionados fueron recolectadas por el personal médico en el área de urgencias siguiendo el procedimiento institucional. La recolección de la muestra se realizó utilizando hisopos de dacrón o de poliéster y depositándolos en el medio de transporte correspondiente. Las muestras recolectadas fueron remitidas al Laboratorio de Biología Molecular del Hospital San Juan de Dios, en donde se seleccionaron aquellas que cumplieron con los requisitos en tiempo y forma para el estudio, detallados en el punto anterior.

Ejecución de las pruebas RT-PCR

Las muestras se procesaron de forma paralela con el método estándar RT-PCR en alguna de las plataformas disponibles: Allplex™ 2019-nCoV (detecta los genes E, N y RdRp con una sensibilidad de 100 copias/reacción), Cobas 6800 SARS-CoV-2 (detecta los genes ORF1 y E con una sensibilidad de 25 y 32 copias/mL, respectivamente), GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp (detecta los genes E, N, RdRp con una sensibilidad de 10 copias/reacción) o BioFire® Respiratory 2.1-EZ Panel. La utilización de una u otra plataforma molecular fue completamente azarosa. De cada muestra de hisopado nasofaríngeo seleccionada para el estudio se extrajo primero la alícuota para la prueba molecular y el procesamiento de las muestras se realizó siguiendo las instrucciones del respectivo fabricante.

Al analizar los resultados de la RT-PCR en cada una de las plataformas mencionadas, se extrajo de las muestras con resultado positivo por SARS-CoV-2 el valor del umbral de ciclos o valor del Ct por sus siglas en inglés (*Cycle threshold*) de cada gen detectado. Este valor corresponde a la cantidad de ciclos necesarios para que la fluorescencia del colorante reportero propio de cada técnica de PCR en tiempo real, supere el umbral predeterminado e inicie el crecimiento exponencial de la señal indicando positividad. Estos valores fueron tabulados para cada muestra positiva, para su análisis posterior.

Ejecución de la prueba STANDARD Q SD-Biosensor SARS-CoV-2 Ag

El procesamiento de la muestra para la prueba de antígenos de SARS-CoV-2 se realizó de forma paralela al procesamiento de la prueba molecular, de modo que de manera inmediata se tomaba el hisopo del espécimen para efectuar la detección de proteínas virales, según lo indicado por el fabricante, sumergiendo el hisopo en la solución tampón y frotándolo contra las paredes. Posteriormente se agregaron 2 gotas de esta mezcla en la ventana del espécimen del dispositivo de inmunocromatográfica de flujo lateral. La prueba se leyó en el lapso de 15 a 30 minutos, luego se procedió a realizar la lectura donde la aparición de la línea control y la línea de test permitió clasificar el resultado como positivo mientras que la detección de únicamente la raya de control permitió clasificar el resultado como negativo; cualquier otra combinación generó un resultado inválido.

Análisis de los datos

El análisis estadístico descriptivo, los datos de sensibilidad, especificidad y la prueba U de Mann-Whitney, se realizaron con el programa SPSS versión 20 (International Business Machines Corporation). Los gráficos fueron creados con el programa GraphPad Prism versión 8.0 (GraphPad software, San Diego, California, USA).

Resultados

Características generales de la población en estudio

En el estudio se analizaron un total de 246 muestras respiratorias de pacientes que cumplían los criterios para la sospecha de infección por SARS-CoV-2. Un 55.3% correspondía a mujeres y, un 44.7%, a hombres que consultaron en el servicio de Urgencias del Hospital San Juan de Dios.

La positividad general de la prueba RT-PCR alcanzó un 44.31% (109/246 muestras). La mayoría (65.45%) se analizaron mediante el kit de Allplex™ 2019-nCoV Assay (Seegene, Korea), el resto se realizó con otras plataformas que utilizan el estándar de oro: RT-PCR, tal y como se muestra en el cuadro dos. El porcentaje de positividad entre hombres y

mujeres fue muy similar, obteniéndose un 41.82% para hombres y un 46.32% para las mujeres. El promedio de la edad de los pacientes fue de 44 años con un rango de 18 a 99 años.

El valor promedio de los Cts de los casos positivos por RT-PCR, fue de 23.06. Para el gen E, que es el gen que comparten todas las metodologías utilizadas en el estudio, se obtuvo un valor de 22.06. Estos y otros datos de interés de los Cts se resumen en el cuadro dos.

Cuadro 2. Características clínicas y de la detección de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 de las muestras analizadas

Característica	Resultados
Edad (años)	Media= 44
	Rango= 18 - 99
Sexo (n)	Masculino= 110
	Femenino= 136
Resultados RT-PCR (n)	Positivos= 109
	Negativos= 137
Metodología RT-PCR (n)	Allplex™ 2019-nCoV= 161
	Cobas 6800 SARS-CoV-2= 68
	GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit= 13
	BioFire® Respiratory 2.1-EZ Panel=4
Valor-Ct gen E	n=108
	media=22.06 (rango 12-36)
Valor-Ct gen N	n=73
	media=24.41 (rango 15-38)
Valor-Ct gen RdRp	n=73
	media=23.26 (rango 14-38)
Valor-Ct gen ORF-1	n=35
	media=22.51 (rango 15-32)

Resultados prueba STANDARD Q SD-Biosensor SARS-CoV-2 Ag	Negativos= 137
	Positivos= 88

Desempeño de la prueba de detección de antígeno frente a la RT-PCR

La totalidad de las 246 muestras se ensayaron simultáneamente por ambas metodologías. La comparación del estándar de oro (RT-PCR) con la prueba STANDARD Q SD-Biosensor SARS-CoV-2 Ag, se resumen en el cuadro tres.

Cuadro 3. Comparación de resultados de pruebas para la detección del virus SARS-CoV-2 obtenidos mediante las pruebas de detección de ácidos nucleicos (SARS-CoV-2 RT-PCR) y la detección de antígeno (SARS-CoV-2 Antígeno)

	SARS-CoV-2 RT-PCR positivo	SARS-CoV-2 RT-PCR negativo	Total
SARS-CoV-2 Antígeno positivo	88	0	88
SARS-CoV-2 Antígeno negativo	21	137	158
Total	110	136	246

De las muestras positivas por la prueba de antígeno no hubo ningún resultado negativo por RT-PCR. Sin embargo, se detectaron 21 muestras negativas por prueba rápida de antígeno que dieron un resultado positivo en la RT-PCR. El cuadro cuatro muestra los valores de sensibilidad y especificidad con su intervalo de confianza asociado.

Cuadro 4. Parámetros de sensibilidad y especificidad para la descripción de la exactitud analítica de la prueba de detección de antígeno del SARS-CoV-2 respecto a las pruebas de detección de ácidos nucleicos

	Valor (%)	Intervalo de confianza 95% (%)
Sensibilidad	80.7	71.6 a 86.5
Especificidad	100	97.25 a 100

Al realizar el análisis de Chi cuadrado en la tabla de contingencia se obtuvo el índice Kappa de Cohen, indicando que la concordancia entre resultados de ambas metodologías fue clasificada como buena (índice $\kappa=0.82$; 95% IC).

Evaluación del valor de Ct de las muestras positivas respecto al resultado de la prueba de antígeno

Se utilizó el valor de Ct como un estimador indirecto de la carga viral, de modo que se procedió a valorar el promedio de los Cts de los resultados positivos por RT-PCR respecto al resultado de la prueba STANDARD Q SD-Biosensor SARS-CoV-2 Ag, y se conformaron dos grupos: uno de ellos con resultados de RT-PCR y detección de Ag positivos (RT-PCR+Ag+), en el otro se agruparon los resultados negativos de Ag con la RT-PCR positiva (RT-PCR+ Ag-). Ambos grupos se compararon de acuerdo con la media de los Cts de los genes que amplificaron en cada muestra. En este análisis, se pudo demostrar que los valores promedio de Cts en las muestras que mostraron concordancia (RT-PCR+ Ag+) fueron significativamente más bajos; tal y como se muestra en la figura uno, la mediana de los valores discordantes es más alta. Adicionalmente, al aplicar la prueba Manne-Whitney U entre los dos grupos, se obtiene un valor $P<0.0001$, lo que confirma la diferencia estadísticamente significativa de los promedios de Ct de ambos grupos. Con estos datos del promedio de los Cts, se realizó un cálculo de la sensibilidad del test, utilizando únicamente los resultados con Cts menores a 30, con esta dinámica la sensibilidad aumenta a un 90% y la especificidad se mantiene en un 100%.

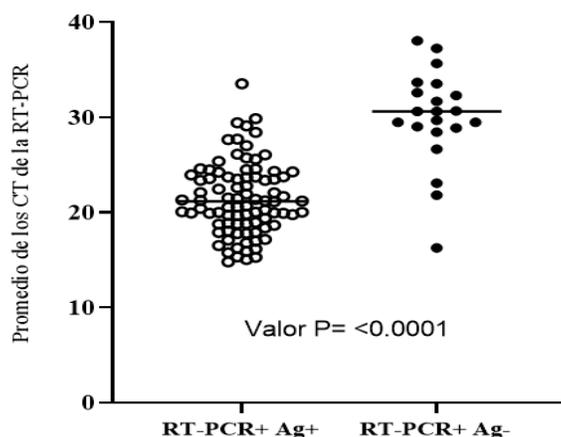


Figura 1. Comparación de los valores promedio de los Cts (Cycle Treshold), para los resultados concordantes y discordantes entre la prueba RT-PCR y la prueba STANDARD Q SD-Biosensor SARS-CoV-2 Ag

Discusión

En este estudio encontramos que la sensibilidad (80.7%) y la especificidad (100%) de la prueba STANDARD Q SD-Biosensor SARS-CoV-2 Ag se ajustan a cabalidad a los requisitos analíticos expuestos por la OMS (cuadro uno). Estos hallazgos coinciden con los encontrados por: The Foundation for Innovative Diagnostics (FIND, por sus siglas en inglés) para el producto de este fabricante en particular, donde en tres estudios independientes los autores reportaron sensibilidades de 80 a 90.7% cuando los pacientes consultaban en los primeros siete días de evolución. Como es de esperar, la capacidad de la prueba de discriminar los positivos de los negativos disminuyó paulatinamente conforme los sujetos se presentaban más tarde; esto coincide con los datos encontrados por otros grupos donde la sensibilidad fue mejor durante la primera semana de evolución. Nuestros datos también son similares a los de otros grupos que han estudiado la misma prueba, pero nuestra metodología difiere de manera importante. El grupo de Uganda encontró una sensibilidad del 70% en la prueba, pero sus criterios de inclusión de sujetos para el estudio fueron más laxos incluyendo incluso voluntarios presuntamente sanos (11). Una fortaleza particular de nuestro estudio, en referencia a estos otros estudios, es el porcentaje de positividad por RT-PCR que fue de 44.3%, merced a los 109 casos positivos analizados, mientras estos estudios contaron con porcentajes de positividad entre 3.7% y 36.1% con

mayor cantidad de pacientes analizados respecto a nuestro estudio (12). En un metaanálisis reciente (13), se encontró que los datos globales de positividad para varias pruebas de SARS-CoV-2 Ag fue de 56.2% con un rango de 27.5 a 79.8%, evidenciando que la aplicación exitosa de estas técnicas requiere de criterios estrictos para seleccionar los candidatos a la prueba. En este análisis, se incluyen estudios de contactos y tamizajes comunitarios, aplicaciones que la misma OMS no recomienda para este tipo de prueba.

Otra situación que debe llamar la atención en este análisis es la selección de la prueba ya que el metaanálisis considera todos los estudios identificados, independientemente del fabricante, incluyendo los de fabricación casera, siempre y cuando cumplan requisitos de ser POCT. Esta información por lo tanto es mucho más general que la requerida por las autoridades para tomar decisiones al respecto. En nuestro estudio verificamos el desempeño de una prueba que cuenta con varios estudios independientes (12) que sugieren que atiende adecuadamente los requerimientos analíticos de la OMS (cuadro uno).

Las discrepancias entre la RT-PCR y el SARS-CoV-2 Ag se pueden explicar, en parte, por la carga viral al momento de recolectar la muestra. Si se toma en cuenta que las pruebas de antígeno, a diferencia de la RT-PCR, no realizan una amplificación del material a detectar, se ha sugerido que las pruebas de SARS-CoV-2 Ag tienen mayor probabilidad de detectar sujetos positivos cuando estos cursan con cargas virales altas. Si empleáramos el Ct como indicador de carga viral, se considera alta aquella con un Ct menor o igual a 25 (7). En este trabajo nos concentramos en la población sintomática que acude a recibir atención al área de urgencia debido a que ya se conocen varios reportes de asociación positiva entre la sintomatología y la carga viral (14, 15, 16). En el metaanálisis publicado en Cochrane (13), encontraron que al hacer subgrupos de análisis, enfocándose en el grupo con alta carga viral, la sensibilidad mejoraba hasta en un 60% respecto al análisis de todos los datos sin agrupar. En nuestro estudio, la carga viral en los 246 especímenes se estimó mediante las Cts para cada gen en particular, obteniéndose que la media para todos los genes se ubicó entre 22 y 24 ciclos, este dato es consistente con la relación positiva entre carga viral y sintomatología, además, explica en parte la buena sensibilidad que hemos obtenido en este estudio. En conjunto, estas observaciones ofrecen evidencia a favor del criterio expuesto en el lineamiento LS-SS-012 del Ministerio de salud de Costa Rica (17) de que la prueba se

aplique solo a los sujetos que se presentan en los primeros cinco días de evolución, ya que se ha visto que en una gran cantidad de sujetos la carga viral es mayor durante la primera semana de evolución y luego disminuye paulatinamente (18, 19).

Para garantizar el éxito de la aplicación de este tipo de prueba en la práctica clínica, es esencial el control de las variables preanalíticas. En primer lugar, la obtención de la muestra, a este propósito varias guías indican que lo adecuado es el uso de hisopos de dacrón o poliéster porque no generan productos que interfieran en la detección de los antígenos (20, 21); adicionalmente, es importante la toma de una muestra de buena calidad y cantidad suficiente de epitelio respiratorio de la superficie posterior de la nasofaringe que permita evaluar la presencia de las partículas virales. Sin una muestra adecuada, con poca o escasa cantidad de células epiteliales, la sensibilidad de la prueba antigénica se reduce. Otra condición que altera la calidad de la muestra es su transporte al laboratorio y su almacenamiento hasta el momento de ejecución del análisis; para esto es esencial el uso de un medio de transporte validado por el fabricante o verificado por los usuarios. Otro punto importante es garantizar que el almacenamiento se lleve a cabo en las condiciones de temperatura y tiempo adecuadas para garantizar la integridad máxima de la estructura antigénica del virus al momento de realizar el análisis (20, 22).

Nuestro estudio presenta ciertas limitaciones. En primer lugar, este fue diseñado para verificar la sensibilidad y especificidad de una de las pruebas comerciales para la detección del antígeno de SARS-CoV-2 en las condiciones operativas actuales de nuestro sistema de salud público, es decir, verificamos su rendimiento como si se tratara de una metodología de diagnóstico basado en laboratorio y no como POCT, por lo tanto, no podemos concluir nada respecto a su desempeño analítico como POCT.

Otra limitación de la investigación es la metodología utilizada para clasificar definitivamente a un paciente como positivo o negativo. A todas las muestras se les aplicó solo una prueba de RT-PCR para confirmar o descartar la presencia del virus. Aunque la prueba de RT-PCR es el estándar de oro y muestra una alta sensibilidad y especificidad, existen ciertas condiciones propias de la metodología y de la etapa preanalítica que pueden afectar la detección del material genético del virus. Por lo tanto, este único dato de la PCR como medida para descartar el diagnóstico de COVID-19, constituye una condición

limitante del estudio, ya que no se contaron con otras pruebas posteriores en estos pacientes que consultaron en el servicio de urgencias.

La detección de antígeno de SARS-CoV-2 tiene potencial para detectar la COVID-19 en su fase activa. Mediante el diseño de una estrategia adecuada en tiempo y forma se puede garantizar el éxito del empleo de esta prueba a nivel nacional, permitiendo confirmar las infecciones activas, en combinación con un resultado RT-PCR negativo descartarlas rápidamente y a menor costo. Esto permitiría al personal médico establecer rápidamente las necesidades de atención de los diversos pacientes, así como indicar el aislamiento y el estudio de contactos con la finalidad de mitigar la dispersión de la enfermedad en la población.

Conclusiones

La evidencia generada en este trabajo y la que consta vigente en otros estudios permite reafirmar que la estrategia de aplicación de las distintas pruebas es el factor clave para poder aprovechar al máximo las características de cualquier metodología de análisis. En el contexto del diagnóstico de la COVID-19, la implementación de esta estrategia requiere un minucioso análisis de la historia natural de la enfermedad. Esto permite definir la temporalidad idónea para la aplicación del análisis. Por otro lado, el conocimiento de las bondades y limitaciones de la metodología permite definir la forma en la que se debe aplicar el análisis, así por ejemplo seleccionar el espécimen más adecuado para el muestreo, las condiciones de embalaje, transporte y el tiempo de estabilidad de este. Con el conocimiento de estos dos factores, tiempo y forma, se puede comprender mejor la gran heterogeneidad de resultados descritos en otras investigaciones para las pruebas de SARS-CoV-2 Ag; en el campo del laboratorio clínico, tan importante es la tecnología como la estrategia. Los resultados obtenidos en este trabajo no se pueden generalizar para otras metodologías disponibles en el mercado; también pueden diferir de manera importante si la metodología de aplicación de la prueba se aleja de lo especificado por el fabricante, por lo cual la recomendación es verificar las características analíticas de los productos de cada fabricante o bien realizar una revisión de otras investigaciones con la finalidad de corroborar los hallazgos realizados por la comunidad científica; es clave que sean similares

en el tiempo y la forma de aplicación. Es probable que el rendimiento de las pruebas de SARS-CoV-2 Ag como POCT sea mejor que el observado cuando se aplican como metodologías de diagnóstico basado en laboratorio. Esto requiere una exploración adicional y cambios importantes en la logística en que opera nuestro sistema de salud. En este trabajo hemos evidenciado que, en las condiciones descritas, la prueba STANDARD Q SD-Biosensor SARS-CoV-2 Ag cumple con los requisitos mínimos para emplearse en la detección de nuevos casos de COVID-19, lo que mejora el tiempo de respuesta y alivia la presión económica y operativa de los laboratorios de biología molecular, particularmente, en tiempos de transmisión comunitaria activa, entendiendo que sus limitaciones pueden ser cubiertas de manera eficaz por la técnica de RT-PCR.

Financiamiento y declaración de conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflicto de interés. Las pruebas para detección de antígeno del SARS-CoV-2 fueron donadas a este grupo de investigación por el Instituto Clodomiro Picado, todos los investigadores e investigadoras donaron su tiempo para el planeamiento, ejecución y realización del informe final de este trabajo.

Referencias

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727–33.
2. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical–therapeutic staging proposal. *J Hear Lung Transplant*. 2020;39(5):405–7.
3. John Hopkins University Coronavirus resource center. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). 2021.
4. Infectious diseases society of America. IDSA Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Molecular Diagnostic Testing. 2020.
5. Santaella-Tenorio J. Sars-cov-2 diagnostic testing alternatives for Latin America. *Colombia Medica*. 2020; 51(2): 1–7.
6. Gao J, Quan L. Current status of diagnostic testing for SARS-CoV-2 infection and

- future developments: A review. *Med Sci Monit.* 2020;26:1–7.
7. World health organization. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays Interim guidance, 11 September 2020. World Health Organization. 2020.
 8. FIND. FIND evaluation of SARS-COV-2 antigen (Ag) detecting tests. 2020.
 9. Ministerio de salud pública de Costa Rica. LS-VS-001. Lineamientos Nacionales para la Vigilancia de la enfermedad COVID-19. 2021.
 10. Ristić M, Nikolić N, Čabarkapa V, Turkulov V, Petrović V. Validation of the STANDARD Q COVID-19 antigen test in Vojvodina, Serbia. *PLoS One.* 2021 Feb;16(2):e0247606.
 11. Nalumansi A, Lutalo T, Kayiwa J, Watera C, Balinandi S, Kiconco J, et al. Field evaluation of the performance of a SARS-CoV-2 antigen rapid diagnostic test in Uganda using nasopharyngeal samples. *Int J Infect Dis.* 2021;104: 282–6.
 12. The foundation for innovative diagnostics. STANDARD Q COVID-19 Ag Test, External Report Version 1.1 FIND Evaluation of SD Biosensor, Inc. STANDARD Q COVID-19 Ag Test External Report. 2020.
 13. Cunningham J, Beese S, Dretzke J, Im H, Mj P, Im H, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection (Review). *Cochrane Database Syst Rev.* 2020.
 14. Zheng S, Fan J, Yu F, Feng B, Lou B, Zou Q, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January–March 2020: Retrospective cohort study. *BMJ.* 2020 Apr;369.
 15. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med.* 2020; 382(12):1177–9.
 16. Salvatore PP, Dawson P, Wadhwa A, Rabold EM, Buono S, Dietrich EA, et al. Epidemiological Correlates of Polymerase Chain Reaction Cycle Threshold Values in the Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis.* 2021; 72(11). 761-767.
 17. Ministerio de salud pública de Costa Rica. LS-SS-012. Lineamientos generales para el uso de pruebas de antígeno para diagnóstico de COVID-19. 2021.
 18. To KKW, Tsang OTY, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(5): 565–74.
 19. Yang Y, Yang M, Yuan J, Wang F, Wang Z, Li J, et al. Comparative sensitivity of different respiratory specimen types for molecular diagnosis and monitoring of SARS-CoV-2 shedding in COVID-19 patients. *Innov.* 2020; 1(13): 100061.

20. Centers for disease control and prevetion. Interim Guidelines for Clinical Specimens for COVID-19 | CDC. 2020.
21. Organización Panamericana de la Salud. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19, 8 de julio del 2020. 2020.
22. Tang Y, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. *J Clin Microbiol.* 2020;58(6):1–9.