

## **Resumen presentación**

“Ensayo de aptitud: Detección del virus SARS-CoV-2 por RT-qPCR”

Ante la pandemia originada por la enfermedad del nuevo coronavirus 2019 – COVID 19, desde el Instituto Nacional de Salud y el Instituto Nacional de Metrología, con el apoyo del programa de Calidad y Normas (GQSP) y del Instituto de Estándares y Tecnología de Estados Unidos (NIST) se desarrolló un Ensayo de Aptitud dirigido a los laboratorios que forman parte de la red ampliada para la detección del virus, como una herramienta de aseguramiento de la calidad de las mediciones y por tanto de fortalecimiento de la red de laboratorios.

Se presentan por tanto el desarrollo y caracterización del ítem de ensayo empleado, así como los resultados y conclusiones obtenidos en el ensayo de aptitud para la detección del virus por RT-PCR como método de referencia, el cual contó con 121 laboratorios participantes, y donde más del 90% de laboratorios obtuvieron un desempeño satisfactorio para cada uno de los genes evaluados.

Luis Felipe Santos

John Leguizamón

# Ensayo de aptitud: Detección del virus SARS-CoV-2 por RT-qPCR

John Leguizamon– SMQB

Luis Felipe Santos Becerra – SSM

Noviembre 2021

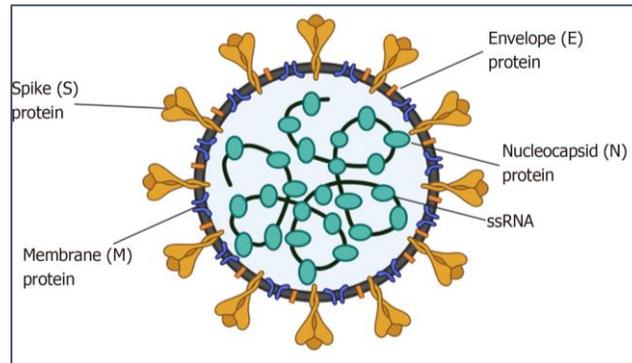
# Agenda

- Introducción
- Preparación del ítem de ensayo de aptitud (IEA)
- Ejecución del ensayo de aptitud

# Introducción

# Antecedentes

## Estructura SARS-CoV-2



### Summary table of available protocols in this document

Institute	Gene targets
China CDC, China	ORF1ab and N
Institut Pasteur, Paris, France	Two targets in RdRP
US CDC, USA	Three targets in N gene
National Institute of Infectious Diseases, Japan	Pancorona and multiple targets, Spike protein
Charité, Germany	RdRP, E, N
HKU, Hong Kong SAR	ORF1b-nsp14, N
National Institute of Health, Thailand	N

### Protocolos – Detección ácidos nucleicos PCR

[https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf?sfvrsn=de3a76aa\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf?sfvrsn=de3a76aa_2)

The screenshot shows the FIND COVID-19 website. The header includes the FIND logo with the tagline "Because diagnosis matters", a search bar, and navigation links for "COVID-19", "WHO WE ARE", "WHAT WE DO", and "NEWS". The main content area displays "523 RESULT(S)" and a list of PCR kits with links to contact information for each.

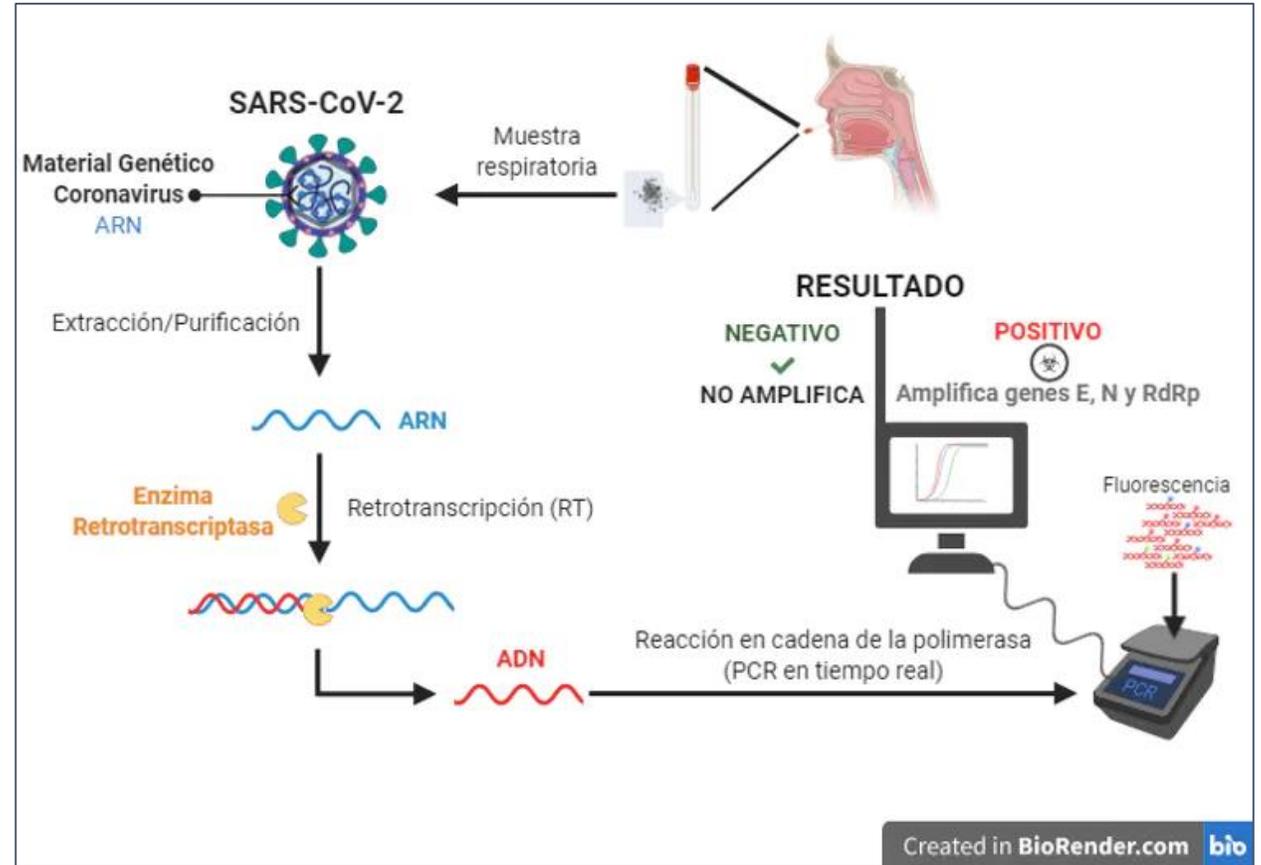
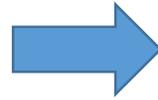
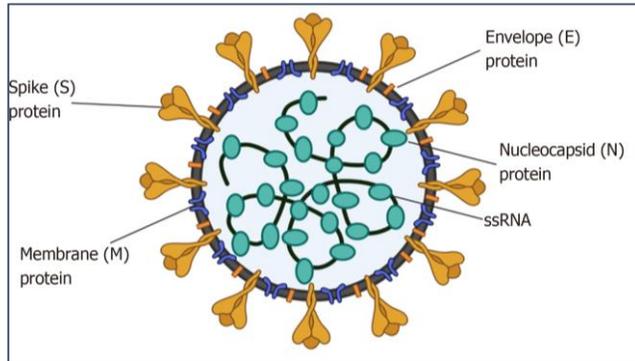
- [1drop Inc. 1copy™ COVID-19 qPCR Kit \(CE-IVD\)](#) [Contact](#)
- [3B BlackBio Biotech India Ltd](#) TRUPCR@SARS-CoV-2 RT qPCR Kit (IVD India) [Contact](#)
- [3D Medicines](#) ANDiS® SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit (US FDA-EUA - CE-IVD) [Contact](#)
- [3D Medicines](#) 3DMed 2019-nCoV RT-qPCR Detection Kit (RUO) [Contact](#)
- [A\\*ccelerate Technology](#) A\*STAR Fortitude Kit 2.0 (Singapore HSA) [Contact](#)
- [AB ANALITICA srl](#) REALQUALITY RQ-2019-nCoV (CE-IVD) [Contact](#)
- [AB ANALITICA srl](#) REALQUALITY RQ-SARS-CoV-2 (RUO) [Contact](#)
- [Abacus Diagnostica](#) GenomEra SARS-CoV-2 (RUO) [Contact](#)
- [Abbott Diagnostics Inc.](#) ID NOW COVID-19 (US FDA-EUA) [Contact](#)
- [Abbott Molecular Inc.](#) Abbott RealTime SARS-CoV-2 EUA test (US FDA-EUA - CE-IVD) [Contact](#)

World J Gastroenterol. Nov 7, 2020; 26(41): 6335-6345. doi: 10.3748/wjg.v26.i41.6335

# Antecedentes

## Proceso medición

### Estructura SARS-CoV-2



[https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf?sfvrsn=de3a76aa\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf?sfvrsn=de3a76aa_2)

World J Gastroenterol. Nov 7, 2020; 26(41): 6335-6345. doi: 10.3748/wjg.v26.i41.6335

# Ensayos comerciales



Live, work, travel in the EU

## COVID-19 In Vitro Diagnostic Devices and Test Methods Database

514 records found

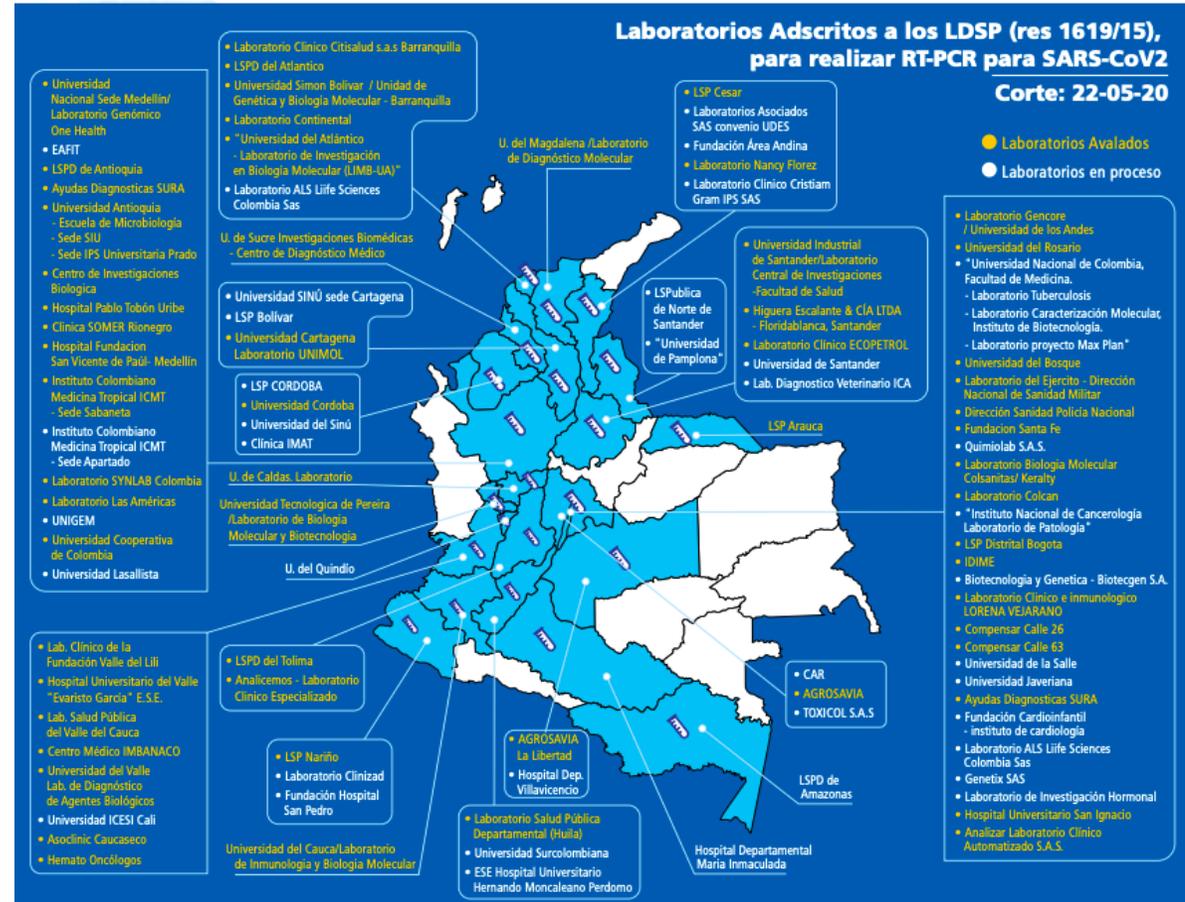
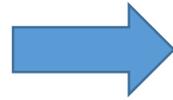
Download as [JSON](#), [XML](#), [CSV](#)

CE Marking	Manufacturer	Commercial Name	Method	Target	Format	
✓ Yes	1drop Inc	1copy COVID-19 qPCR Kit	RT-PCR	Nucleic acid	Manual	>
✗ No	3B BlackBio Biotech India Ltd	TRUPCR SARS-CoV-2 RT qPCR Kit	RT-PCR	Nucleic acid	Manual	>
✓ Yes	3D Medicines	2019-nCoV RT-qPCR	RT-PCR	Nucleic acid	Manual	>
✓ Yes	<a href="#">3D Medicines</a>	<a href="#">3DMed 2019-nCoV RT-qPCR Detection Kit</a>	<a href="#">RT-PCR</a>	<a href="#">Nucleic acid</a>	<a href="#">Manual</a>	>

<https://covid-19-diagnostics.jrc.ec.europa.eu>

# Antecedentes

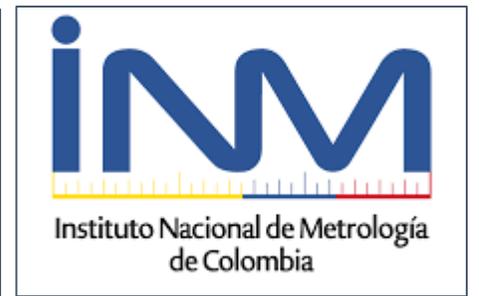
## Red laboratorios detección y diagnóstico SARS-CoV-2 (162)



<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/laboratorios-pruebas-covid-19.pdf>

# Objetivo

Fortalecer la red de laboratorios del país que realizan actividades de detección y diagnóstico relacionadas con el virus SARS-CoV2 por RT-PCR a través del desarrollo de herramientas de aseguramiento de la calidad de las mediciones para asegurar la confiabilidad de los resultados de medición

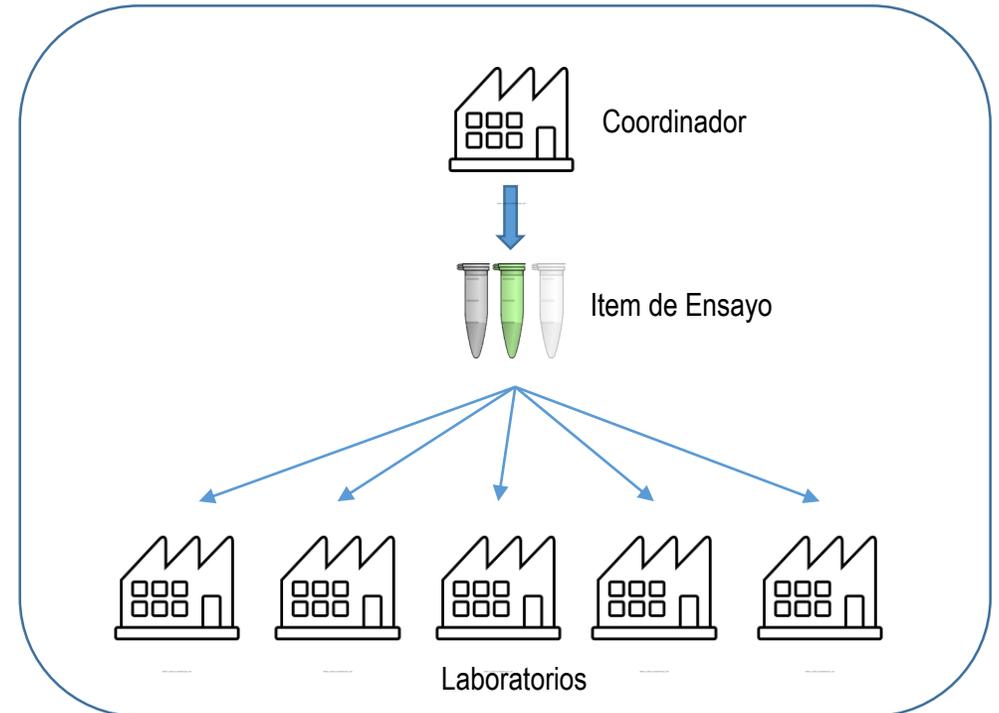


# Objetivo

Fortalecer la red de laboratorios del país que realizan actividades de detección y diagnóstico relacionadas con el virus SARS-CoV2 por RT-PCR a través del desarrollo de herramientas de aseguramiento de la calidad de las mediciones para asegurar la confiabilidad de los resultados de medición

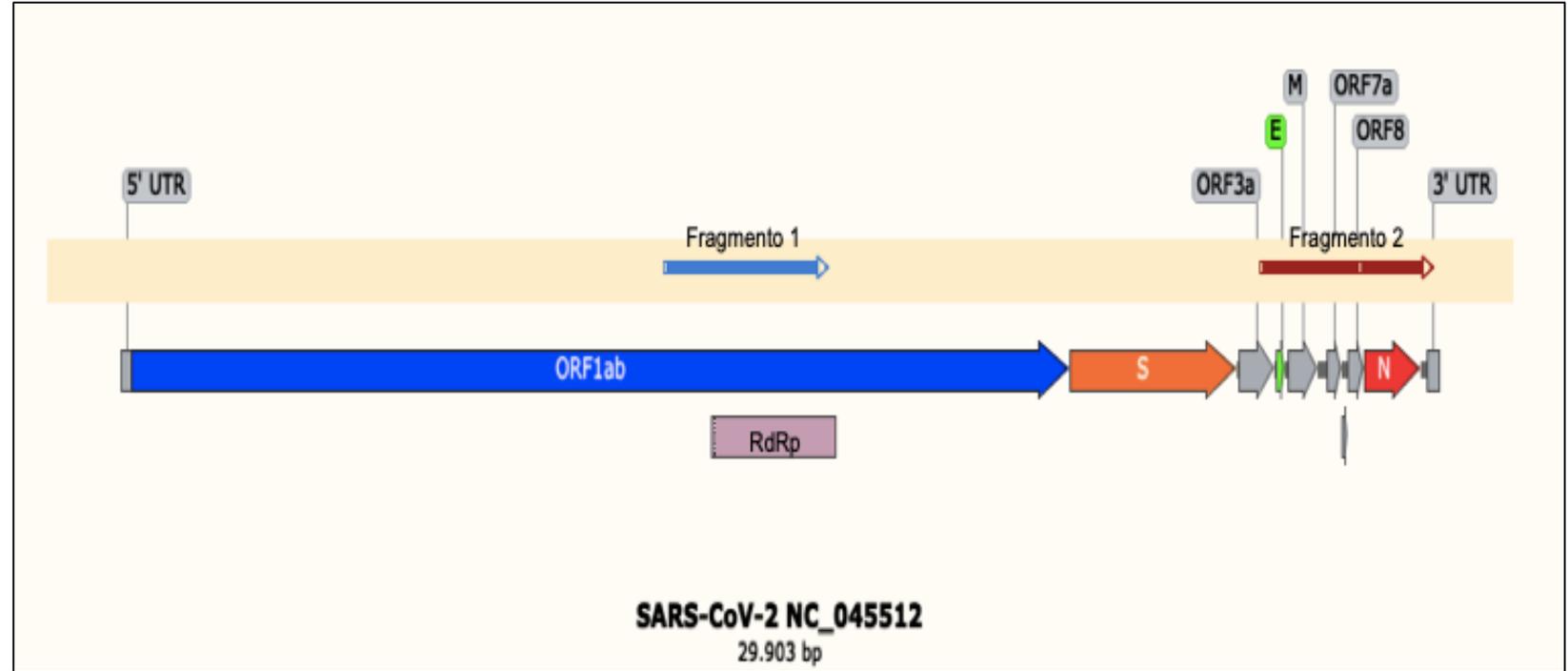
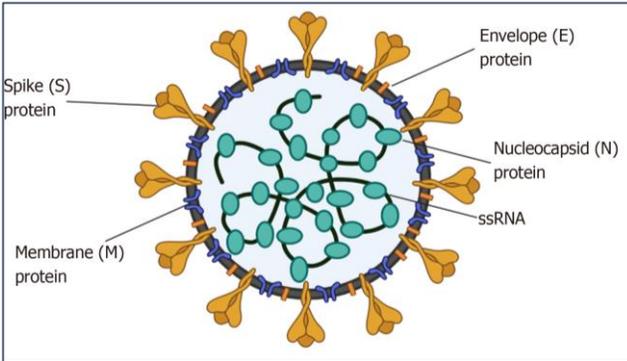
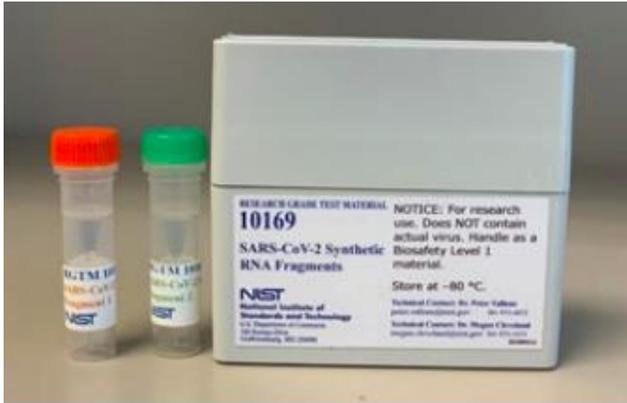
1. Caracterizar un material de referencia para ser usado como Ítem de ensayo (IE) en un ensayo de aptitud (EA)

2. Organizar un ensayo de aptitud (EA) para ejecutar entre los laboratorios de la red nacional de laboratorios encargados de la detección y el diagnóstico del SARS CoV-2 por RT-PCR



# Preparación del IEA

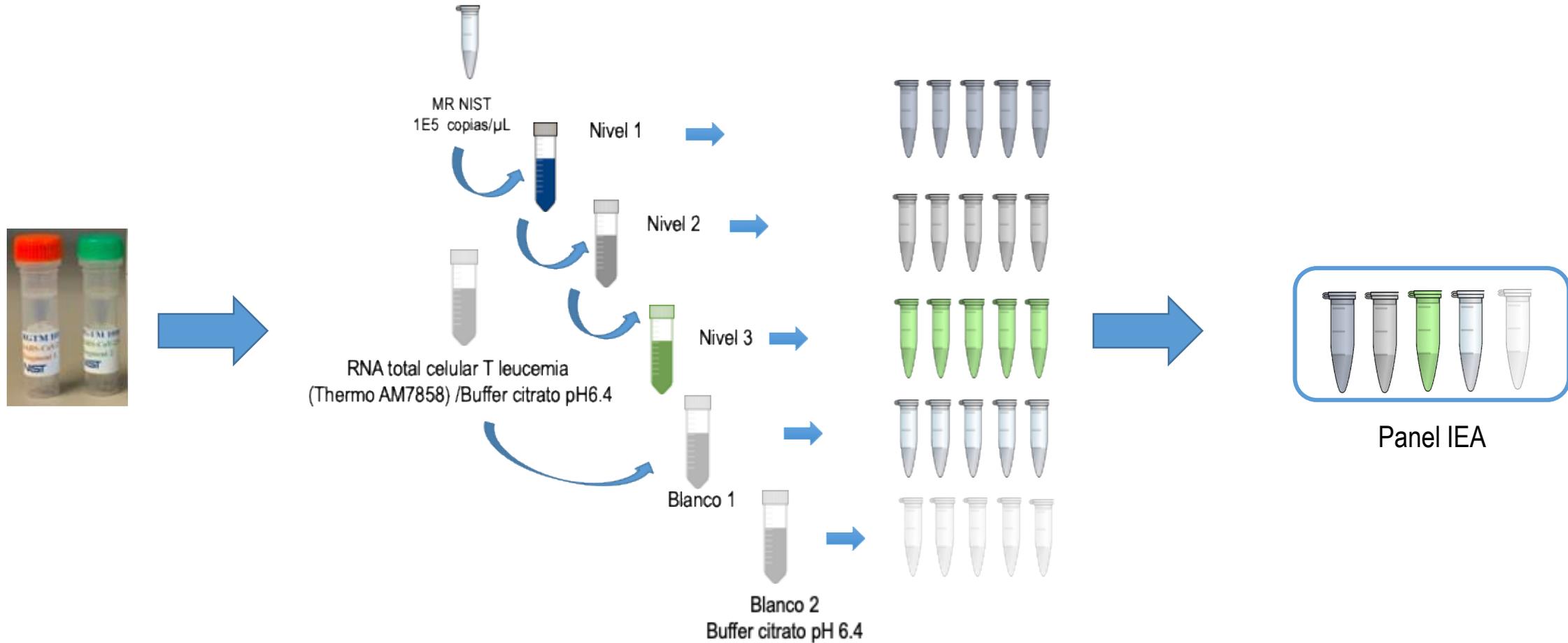
# 1. Caracterizar un MR



MR RGTM 10169 NIST

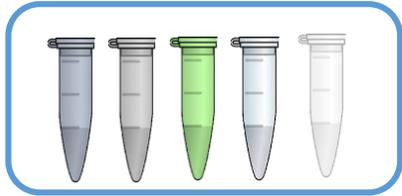
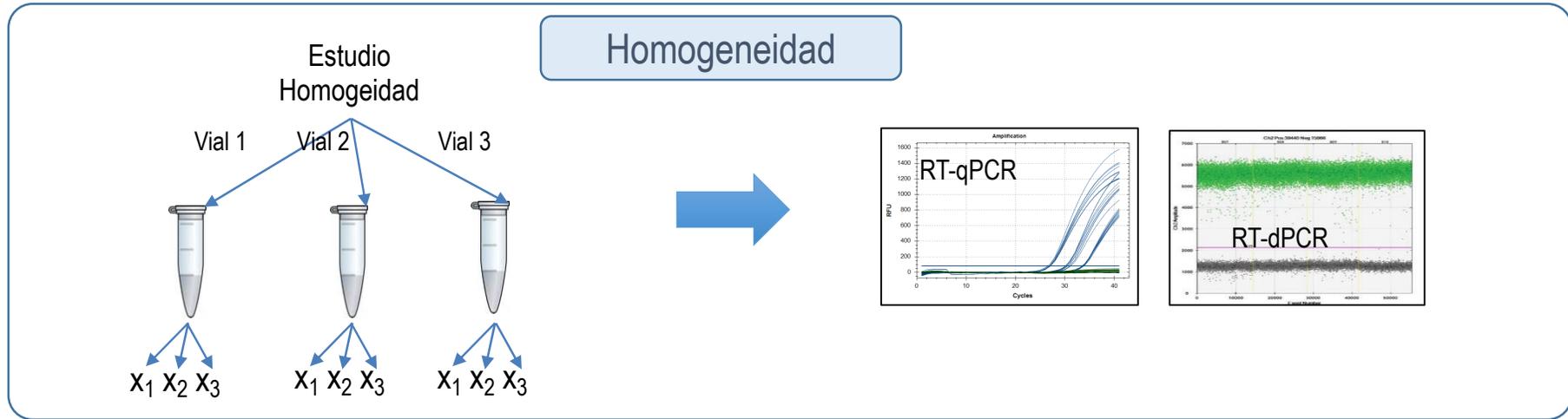
# 1. Caracterizar un MR

## Estudio piloto



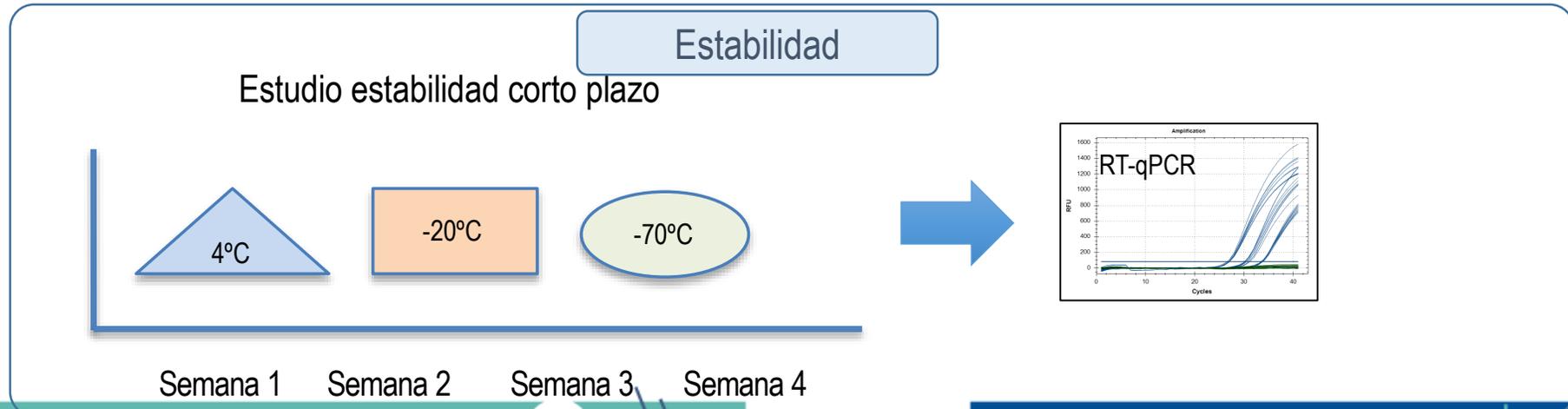
# 1. Caracterizar un MR

## Estudio piloto



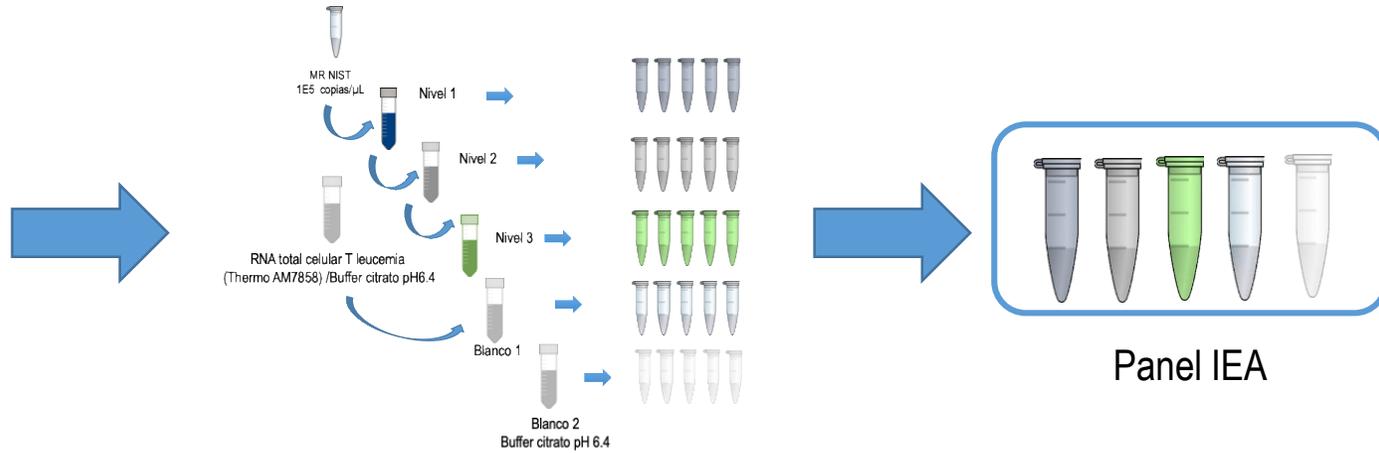
Panel IEA

Apto para el EA



# 1. Caracterizar un MR

## Item de Ensayo SARS-CoV-2



Asignación de valor

Nivel	Valor (copias/µL)	U* (copias/µL)
Alto	1417	216
Medio	146	28
Bajo	14	10

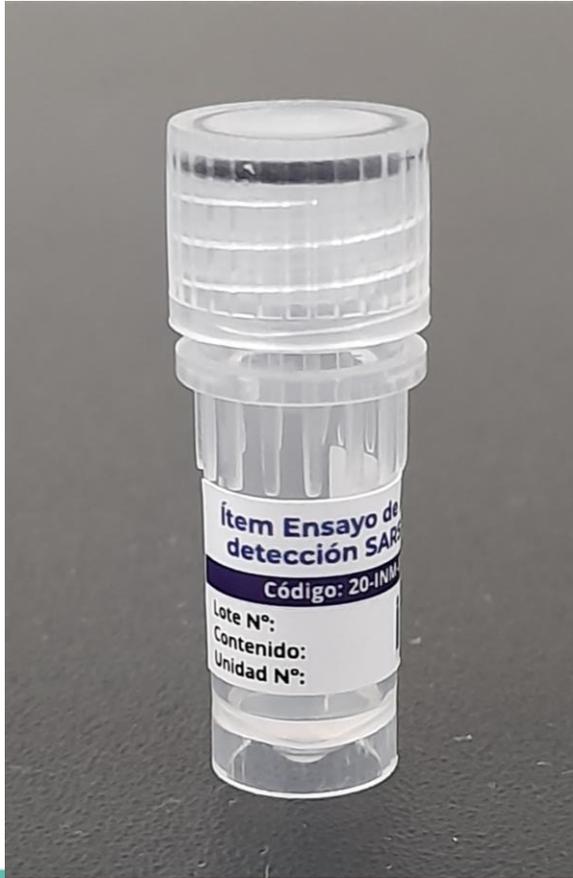
\* k=2, 95% nivel de confianza

Evaluación IEA con diferentes ensayos por RT-qPCR – Respuesta en Ct

Nivel	E	N1	N2	RdRp	Promedio	RNasaP
Alto	25.75	26.31	25.20	26.95	26.15	27.39
Medio	29.11	29.55	28.36	30.30	29.40	27.38
Bajo	32.48	32.78	32.10	33.37	32.75	27.20
Blanco matriz						27.25

# 1. Caracterizar un MR

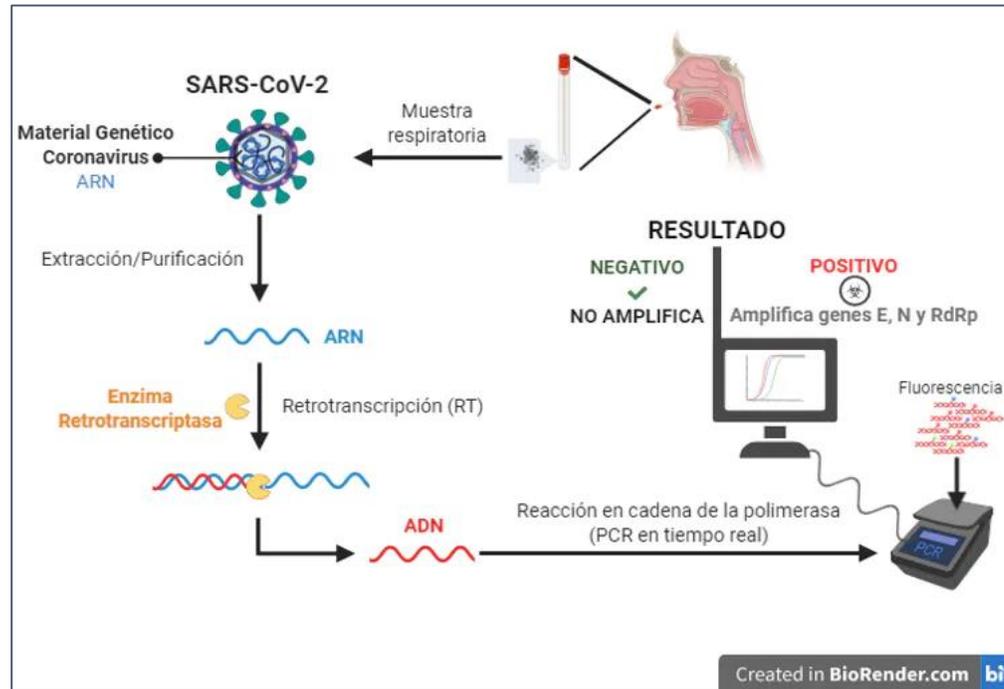
## Item de Ensayo SARS-CoV-2



# Ejecución del EA

## 2. Ensayo de Aptitud

Ítem de ensayo

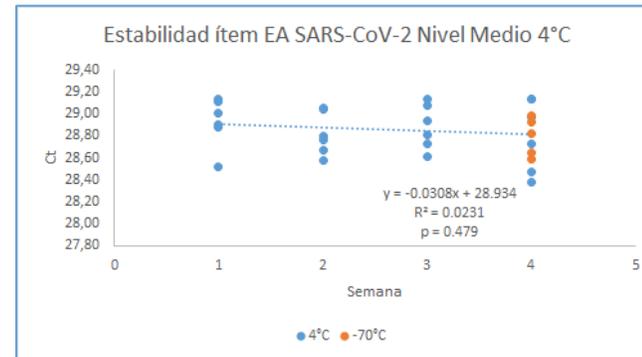
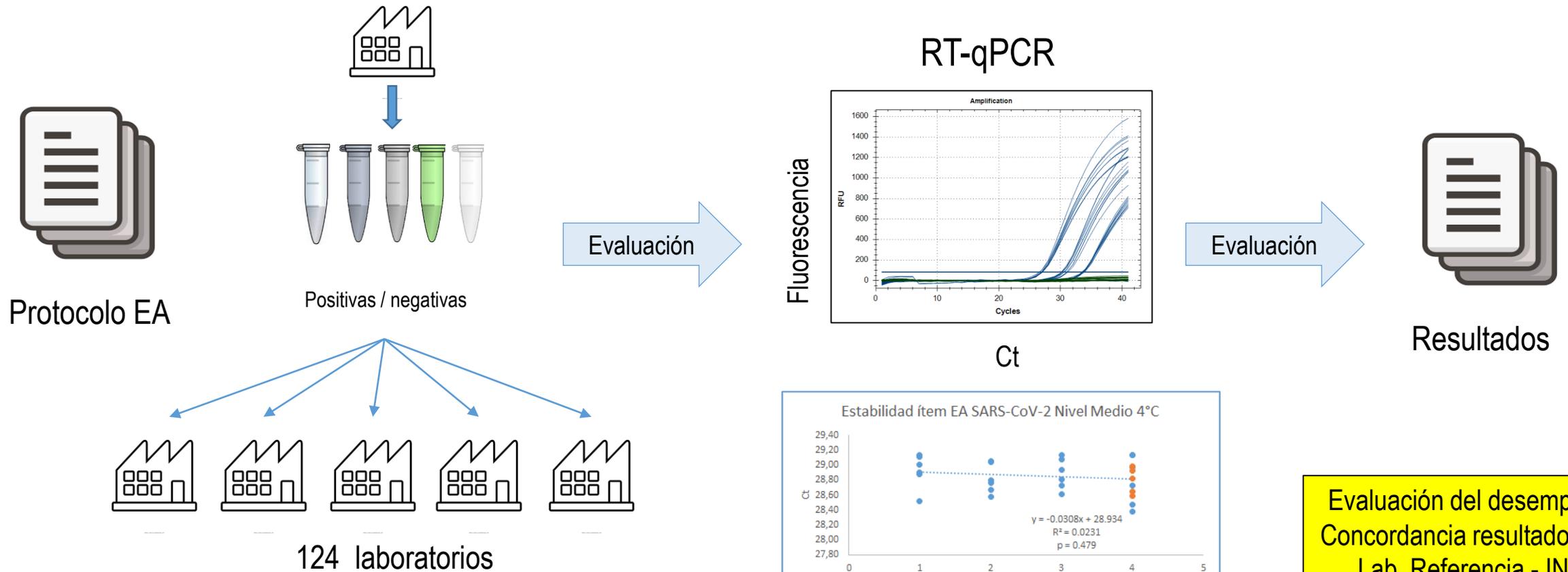


<https://urologiaymedicinasexual.wordpress.com/category/espana/>

Alcance - Cualitativo



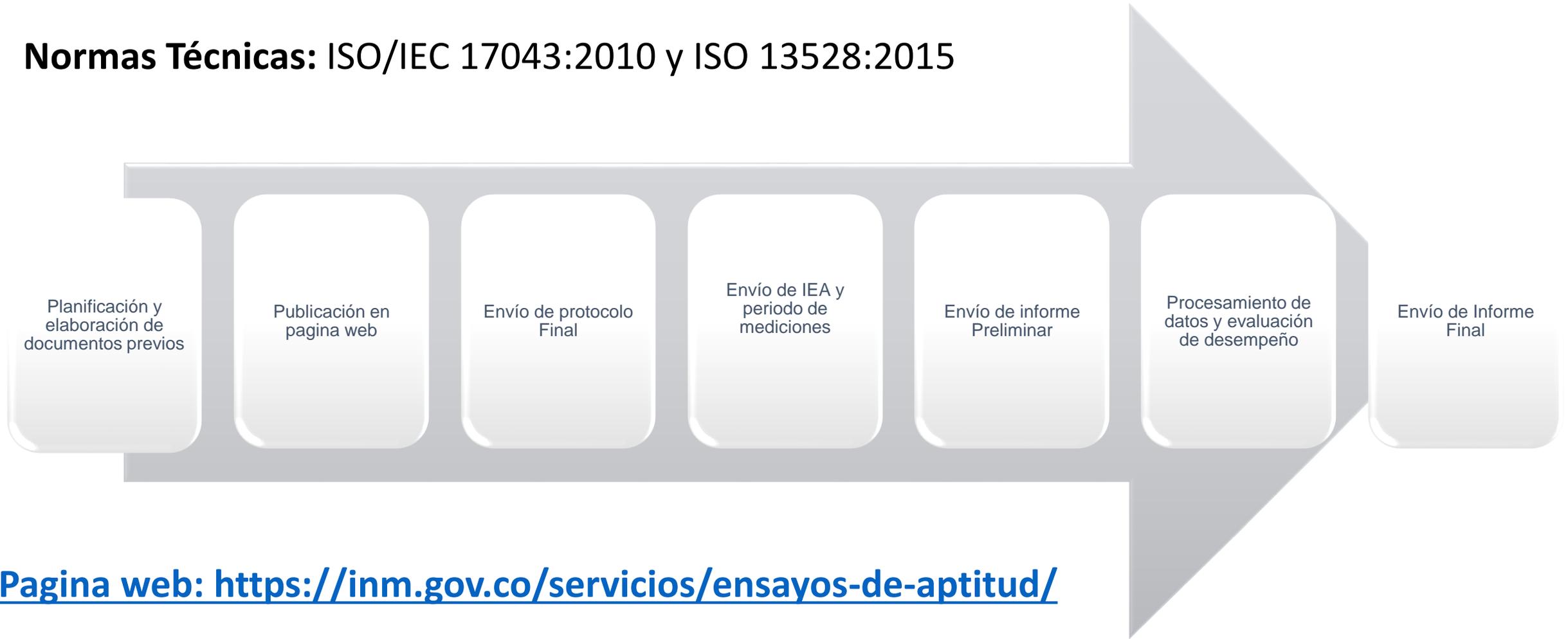
## 2. Ensayo de Aptitud



Evaluación del desempeño:  
Concordancia resultados con  
Lab. Referencia - INM

# Organización del EA

**Normas Técnicas: ISO/IEC 17043:2010 y ISO 13528:2015**



**<https://inm.gov.co/servicios/ensayos-de-aptitud/>**

# Evaluación del desempeño

Parámetro	Declaración de resultados	Criterio de evaluación
SARS-CoV-2 (Cualitativo)	Positivo Negativo	80 % (4 de 5 resultados correctos respecto al valor de referencia)

La evaluación de cada ítem es binaria (positivo/negativo) y el desempeño global se evaluó con base en la concordancia entre los resultados del laboratorio participante y el laboratorio de referencia

$$\text{Resultado laboratorio} = \frac{\text{Número de soluciones asignadas correctamente}}{5} \times 100$$

# Interpretación del indicador de desempeño

De acuerdo a la evaluación de desempeño a través “proporción de resultados correctos” se tiene:

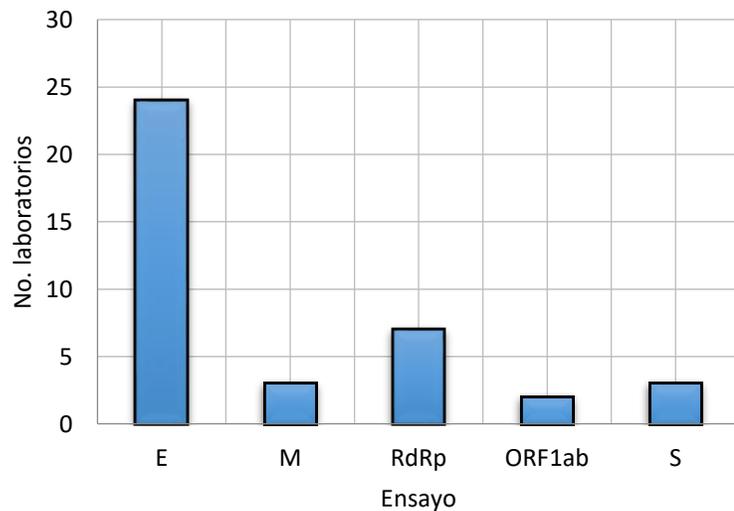
- Si la proporción de resultados correctos es  $\geq 80\%$ , el desempeño se considera “satisfactorio”.
- Si la proporción de resultados correctos es  $< 80\%$ , el desempeño se considera “No satisfactorio”.

# Resultados Generales

# Evaluación del desempeño

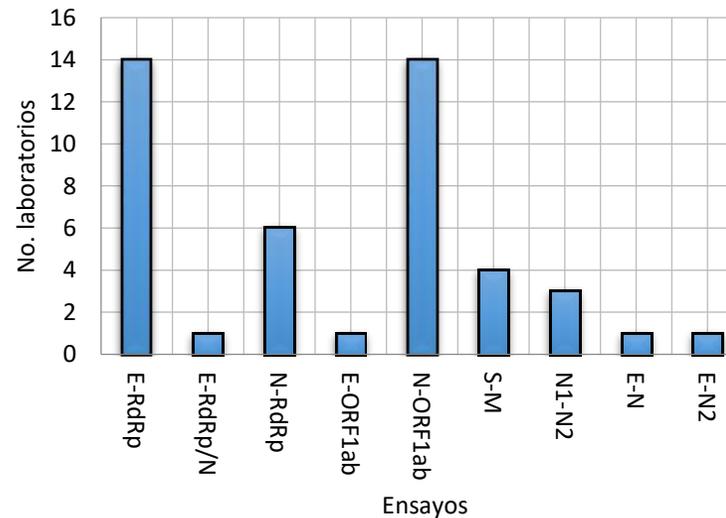
Dado que los laboratorios participantes reportaron resultados con diferente número de ensayos y dianas moleculares, la evaluación de desempeño se hizo por gen o ensayo para cada laboratorio.

### Laboratorios que reportaron un gen



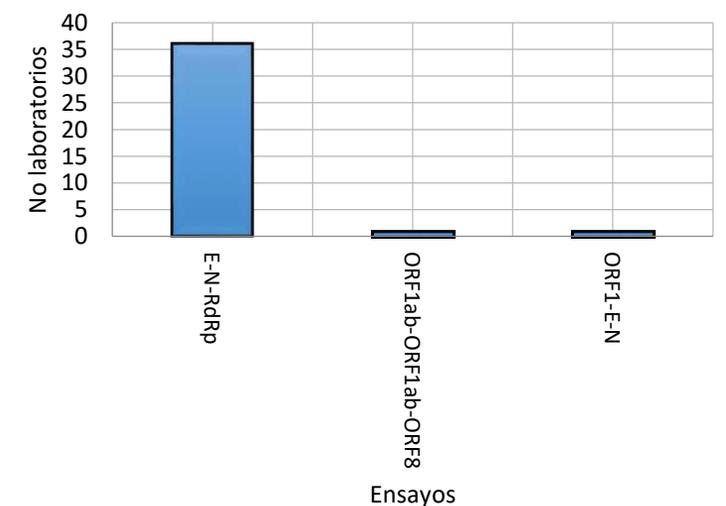
32%

### Laboratorios que reportaron dos genes



37%

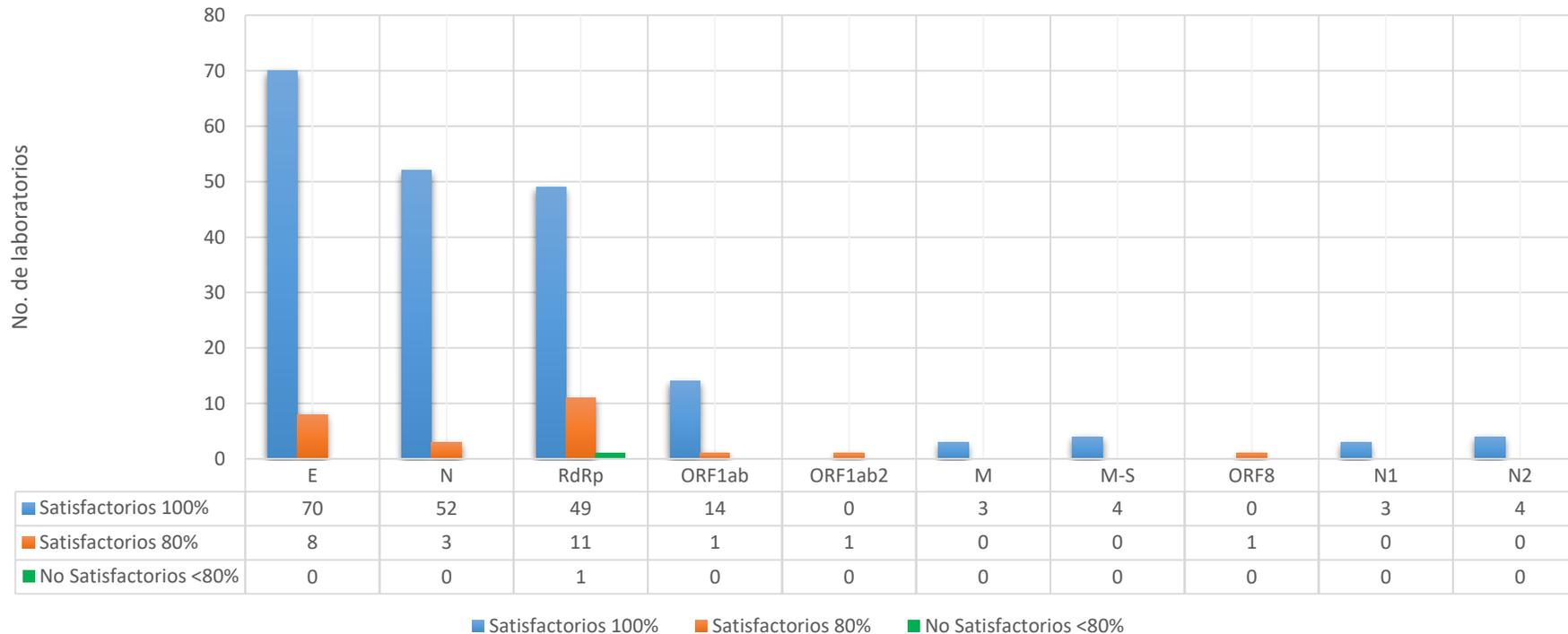
### Laboratorios que reportaron tres genes



31%

# Desempeño general

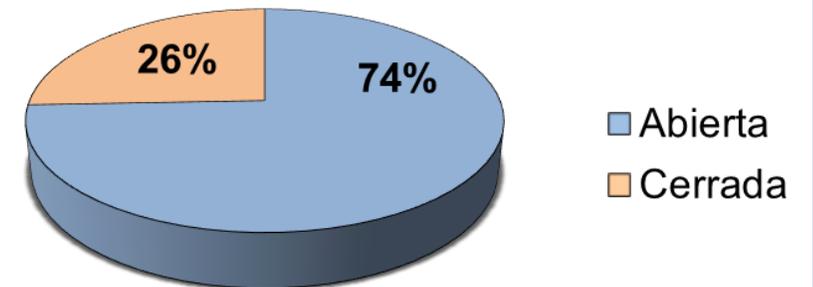
La evaluación se hizo para cada gen reportado por cada laboratorio participante, 119 laboratorios obtuvieron un desempeño satisfactorio para los distintos genes reportados, equivalente al 98.3 %, el 1.7% restante obtuvo un desempeño no satisfactorio para al menos uno de los genes reportados



# Evaluación de desempeño por tipo de plataforma

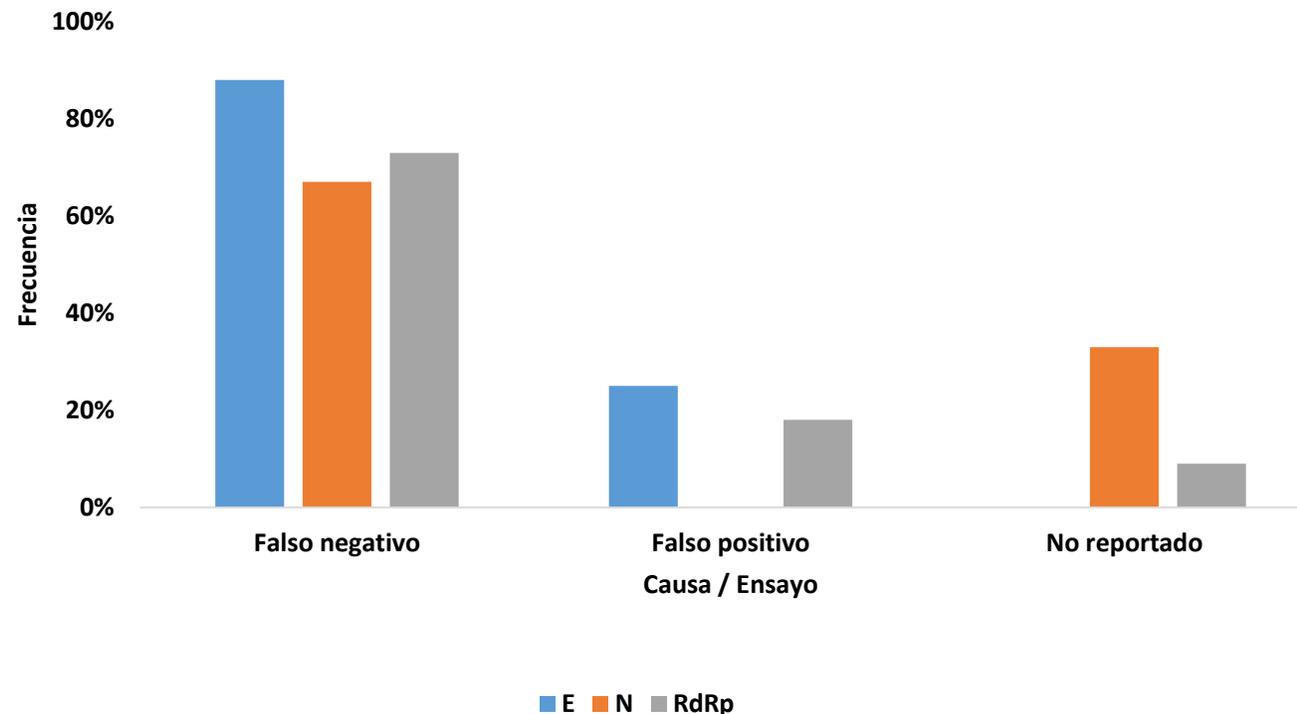
Gen	plataforma	Satisfactorio	No Satisfactorio	Total
E	Abierta	66	0	78
	Cerrada	12	0	
N	Abierta	47	0	55
	Cerrada	8	0	
RdRp	Abierta	47	1	61
	Cerrada	13	0	
ORF1ab	Abierta	11	0	15
	Cerrada	4	0	
ORF1ab2	Abierta	0	0	1
	Cerrada	1	0	
M	Abierta	0	0	3
	Cerrada	3	0	
M-S	Abierta	0	0	4
	Cerrada	4	0	
N1	Abierta	1	0	3
	Cerrada	2	0	
N2	Abierta	1	0	4
	Cerrada	3	0	

Tipo de plataforma

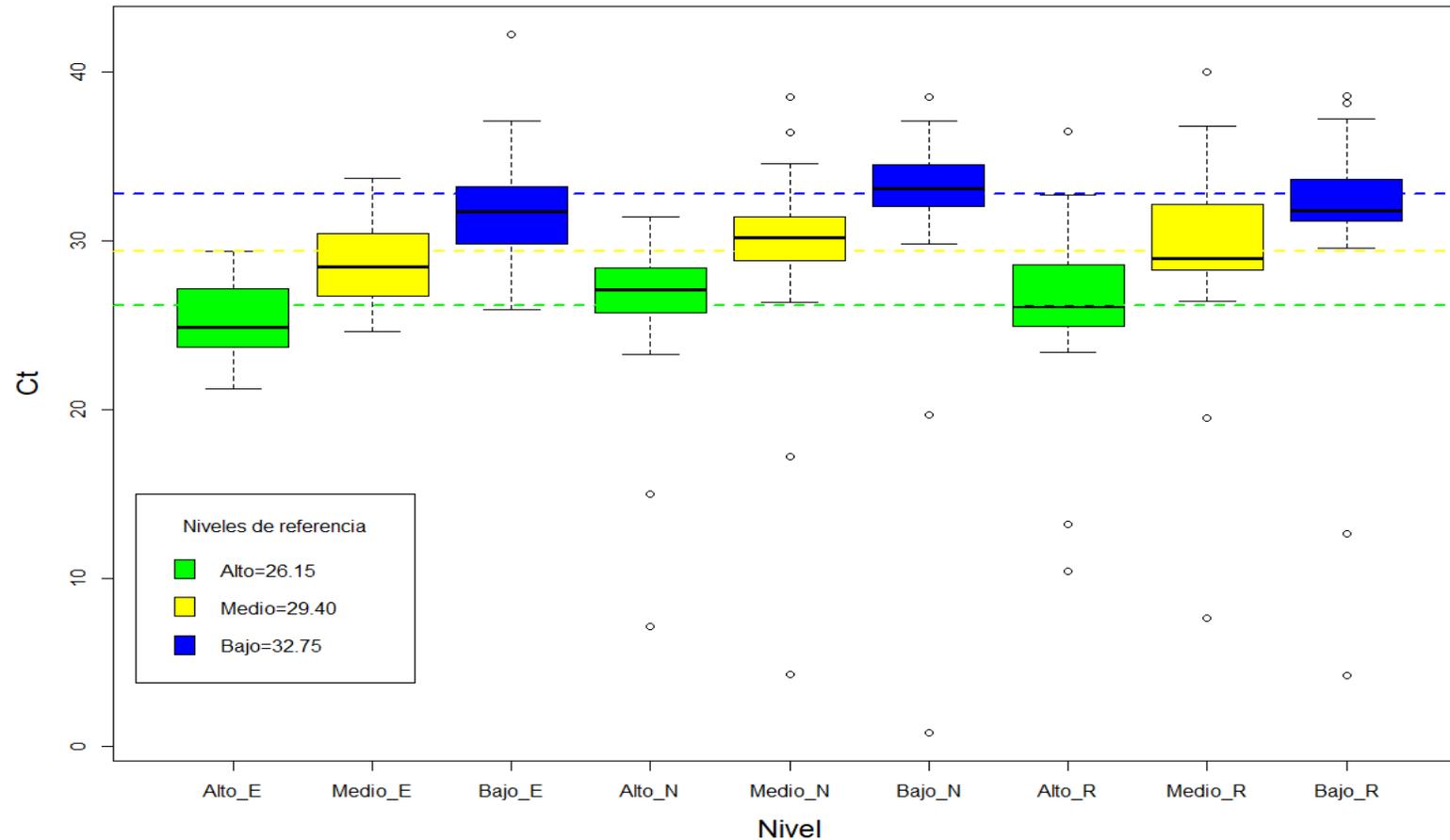


# Causas de error identificadas en el EA

- Reportar como negativa una muestra positiva (falso negativo)
- Reportar como positiva una muestra negativa (falso positivo)
- No reportar un resultado.



# Distribución de valores Ct para ensayos con genes E, N y RdRp



# Conclusiones del EA

- ✓ El presente EA buscaba evaluar la competencia de los laboratorios para detectar la presencia del virus SARS-CoV-2 por RT-qPCR, dada la naturaleza del IEA empleado, este proceso no cubre la etapa de extracción de ARN.
- ✓ Participaron un total de 121 laboratorios con plataformas abiertas y cerradas de medición, en particular para estas últimas, se evaluó la aptitud del IEA de manera que, independiente del proceso de extracción,

# Conclusiones del EA

- ✓ De manera general se observa como los laboratorios están empleando entre una y tres dianas para detectar el virus SARS-CoV-2, siendo la secuencia del gen E una de las más comunes, seguida por RdRp y N (35 %, 28 % y 25 % respectivamente).
- ✓ En cuanto a los resultados del EA, los laboratorios participantes se han destacado por su desempeño técnico frente a la detección de diferentes genes o secuencias genómicas del virus SARS-CoV-2. El 98.3% de los laboratorios obtuvo un desempeño satisfactorio, 81.8% con una correspondencia del 100 % frente a los resultados del laboratorio de referencia del EA, mientras que el restante 16.5 % de los laboratorios con desempeño satisfactorio presentó un error en la asignación de una de las muestras del panel asignado

# Conclusiones del EA

- ✓ La causa más frecuente de esta situación (70 % aproximadamente dependiendo el gen) fue la no detección de una de las muestras positivas (falso negativo) asociado al nivel de menor concentración, seguido por la detección de una muestra negativa (falso positivo, 20 % aproximadamente) y finalmente por aquellos casos en los que no se reportó ningún resultado.

# Agradecimientos

## Instituto Nacional de Salud

Esther Cristina Barros Liñan

Sergio Yebrail Gomez Rangel

Lissethe Carolina Pardo Herrera

## Laboratorio Costarricense de Metrología

Gabriel Molina Castro

## National Institute of Standards and Technologies

Peter Vallone

Megan Cleveland

## Instituto Nacional de Metrología

Andrés Felipe León Torres

Sergio Luis Dávila Gonzales

María Mercedes Arias Cortes

Claudia Patricia Tere Peña

Diego Alejandro Ahumada Forigua

John Emerson Leguizamón Guerrero

Katherin Holguin Agudelo

Antonio García Tarquino

Nicolás Vanoy Villamil

Gustavo Gómez Escobar

Luis Felipe Santos Becerra

## Programa Global de Calidad y Normas

Javier Francisco Fernandez Rodriguez

¡Gracias!