

DEPARTAMENTO AGENCIA NACIONAL DE DISPOSITIVOS MÉDICOS, INNOVACIÓN Y DESARROLLO (ANDID)

Protocolo VERIFICACIÓN DE LA CONFORMIDAD de kits de diagnóstico *in vitro* de detección del virus SARS-CoV-2

SANTIAGO, 29 DE OCTUBRE DE 2020



Protocolo VERIFICACIÓN DE LA CONFORMIDAD de kits de diagnóstico *in vitro* de detección del virus SARS-CoV-2

TABLA DE CONTENIDO

1. Proceso de Verificación de la Conformidad en el ISP	4
1.1 Etapa de admisibilidad	4
Documentación Técnica	4
1.2 Verificación de cumplimiento de la conformidad de los resultados de validación de los kits de diagnóstico <i>in vitro</i> del virus SARS-CoV-2	7
Procedimiento N°1: Verificación de conformidad de laboratorio para Kits de detección del virus SARS-CoV-2	9
Procedimiento N°2	9
Procedimiento N°3	9
Anexo N°1	10
Insumos Sección Biotecnología	10
Insumos y equipamiento de laboratorio requeridos	10
Anexo N°2	12
Cálculo de tamaño muestral	12
Plande muestreo	13
Referencias	14

1. PROCESO DE VERIFICACIÓN DE LA CONFORMIDAD EN EL ISP

El proceso de verificación de la conformidad consta de las siguientes etapas:

1.1. Etapa de admisibilidad:

La solicitud de admisibilidad de la verificación de conformidad de kits diagnóstico *in vitro* del virus SARS-CoV-2, corresponde al proceso a través del cual el Subdepartamento de Registro y Autorización, de ANDID, realiza una revisión y evaluación de la documentación técnica, es decir la evidencia documentada que demuestra el cumplimiento del reactivo comercial con los “Principios Esenciales de Seguridad y Desempeño”, previo a la verificación de conformidad que realizará el Laboratorio de Biotecnología.

La solicitud de admisibilidad de la verificación de conformidad de un kit diagnóstico *in vitro* del virus SARS-CoV-2, podrá ser solicitada por el fabricante legal domiciliado en Chile o por un representante autorizado o titular, calidad que deberá ser acreditada.

Para cumplir con lo establecido el solicitante deberá presentar la siguiente documentación al Subdepartamento de Registro y Autorización de ANDID, empleando el formulario oficial correspondiente:

Documentación Técnica:

Requisitos Generales

- a) Identificación de la persona natural o jurídica solicitante;
- b) Identificación del representante legal del establecimiento;
- c) Identificación del responsable técnico del establecimiento;
- d) Identificación del fabricante legal;
- e) Identificación de la(s) planta(s) de fabricación;
- f) Clase de riesgo del dispositivo médico;
- g) Convenios de fabricación y/o distribución nacional, si corresponde;
- h) Convenios de importación y distribución de dispositivo médicos fabricados en el extranjero, si corresponde;
- i) Certificado para propósitos de exportación debidamente legalizado, emitido por la autoridad sanitaria competente del país de origen, para productos importados;
- j) Certificado vigente de cumplimiento de un sistema de calidad en la fabricación, según Norma ISO 13485, Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) u otros;

Resumen Descriptivo

Se incluirá un resumen descriptivo por producto con la información que se indica a continuación:

- a) Denominación o nombre comercial del Producto;
- b) Formas de presentación del producto y la composición de cada uno de los componentes que constituye el conjunto del producto;

- c) Uso previsto, que incluya información sobre:
 - lo que se detecta o mide;
 - su función, como la monitorización, el control, el diagnóstico o que sirva de ayuda al diagnóstico, pronóstico, predicción, pruebas diagnósticas para selección terapéutica;
 - la afección, enfermedad (que pretende detectar, definir o diferenciar);
 - si está automatizada o no (en caso de dispositivos médicos de uso profesional o en laboratorio);
 - el tipo de medición de resultado: cualitativo, semicuantitativo o cuantitativo;
 - el tipo de muestras que necesita;
 - en su caso, especificar la población destinataria de las pruebas; (por ejemplo, adultos, excluye a donantes, etc.)
- d) Descripción del método de ensayo o los principios de funcionamiento del instrumento (cuando aplique)
- e) Método de evaluación del producto empleado por el fabricante nacional o extranjero y resultados que expresen, cuando corresponda, las características específicas de desempeño, tales como:
 - Sensibilidad
 - Especificidad
 - Estabilidad y condiciones de conservación

Rótulos:

El rótulo de los envases primario y secundario de los kits diagnósticos in vitro del virus SARS-CoV-2, debe contener como mínimo la siguiente información, en idioma castellano y/o a través de símbolos internacionalmente reconocidos:

- a) Denominación o nombre comercial del producto;
- b) Número de lote;
- c) Fecha de vencimiento;
- d) Componentes del dispositivo médico de diagnóstico "*in vitro*";
- e) Número de determinaciones posibles siguiendo la/s metodología/s propuestas en la información técnica del producto;
- f) Leyenda "Uso *in vitro*" o frase similar o simbología;
- g) Uso previsto del dispositivo;
- h) Precauciones, cuidados especiales e instrucciones sobre los riesgos derivados del uso del dispositivo y su desecho, identificados con los símbolos internacionales correspondientes o leyendas tales como "potencialmente infeccioso";
- i) Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del dispositivo de diagnóstico *in vitro*; incluyendo entre otras, los límites de temperatura y luz, conforme a cada caso;
- j) Nombre, dirección y país del fabricante legal;
- k) Nombre, dirección, datos de contacto del distribuidor en el país.

Instructivo de uso o inserto

Los instructivos de uso o insertos deben contener como mínimo la siguiente información, en idioma castellano:

- a) Denominación o nombre comercial del dispositivo médico;
- b) Uso previsto del dispositivo médico;
- c) Descripción detallada del procedimiento que debe seguirse al utilizar el dispositivo;
- d) Resultados que expresen las características específicas de desempeño;
- e) Principio del método;
- f) Criterios de desempeño y limitaciones;
- g) Preparación de los dispositivos de diagnóstico *in vitro*;
- h) Condiciones de almacenamiento y estabilidad del dispositivo médico;
- i) Tipo de espécimen o muestra;
- j) Procedimiento del método;
- k) Cálculo de resultados analíticos (en caso de dispositivos médicos de uso profesional o en laboratorio);
- l) Control de calidad interno;
- m) Intervalos de referencia (en caso de dispositivos médicos de uso profesional o en laboratorio);
- n) Descripción de las precauciones, de los cuidados especiales y aclaraciones sobre los riesgos con el uso del dispositivo de diagnóstico *in vitro* y su eliminación e incluyendo obligatoriamente la leyenda “solamente para uso diagnóstico *in vitro*”, frase similar o simbología detallando, cuando sea posible:
 - Condiciones que propician alteraciones de las características del dispositivo de diagnóstico *in vitro*;
 - Las precauciones y cuidados en cuanto a la manipulación del dispositivo. Además, debe indicarse que la eliminación del mismo queda sujeto a la reglamentación vigente;
 - Precauciones que deben adoptarse para el desecho del dispositivo de diagnóstico *in vitro*.
 - Las instrucciones de bioseguridad para protección del consumidor y, cuando se trate de productos derivados de sangre humana, alertar al usuario sobre la potencialidad de transmisión de enfermedades infecciosas, cuando fuera el caso;
- o) Descripción de los procedimientos de lectura de los resultados de la medición, informando, cuando corresponda:
 - Interpretación de los resultados.
- p) Informaciones sobre las limitaciones del proceso de medición, incluyendo orientaciones sobre la utilización de pruebas adicionales más específicas o sensibles, cuando los resultados así lo sugieran;
- q) Descripción de las características de desempeño del dispositivo, detallando:
 - La especificidad clínica o diagnóstica y metodológica;
 - La sensibilidad clínica o diagnóstica y metodológica;
 - Controles de ejecución (en caso de dispositivos médicos de uso profesional o en laboratorio);
 - Materiales de referencia nacionales o internacionales utilizados para su calibración (en caso de dispositivos médicos de uso profesional o en laboratorio);

Una vez completados los antecedentes reglamentarios que deben acompañarse y de obtener toda la información necesaria para realizar la Verificación de la Conformidad de kit Diagnóstico de virus SARS-CoV-2, el Subdepartamento de Registro y Autorización, solicitará fecha de evaluación a la Sección de Biotecnología, a través del Formulario interno de Solicitud de Evaluación de Reactivo de Diagnóstico *in vitro*.

1.2. Verificación de cumplimiento de la conformidad de los resultados de validación de los kits de diagnóstico *in vitro* del virus SARS-CoV-2.

El Instituto de Salud Pública de Chile (ISPCH), a través del Departamento Agencia Nacional de Dispositivos Médicos, Innovación y Desarrollo (ANDID), verificará la conformidad de los resultados de validación de los kits de diagnóstico *in vitro*, cuyo uso previsto sea la detección directa del virus SARS-CoV-2 a través de su material genético y proteínas virales (antígenos, RT-qPCR y RT LAMP). La validación previamente realizada por el fabricante deberá contar con información documentada y sustentada con análisis de datos e imágenes que soporten sus resultados de la caracterización de los parámetros analíticos de la validación de cada kit. La validación realizada por el fabricante o representante de ventas debe informar con los siguientes parámetros de (i) Sensibilidad Diagnóstica; (ii) Especificidad Diagnóstica; (iii) Sensibilidad y Especificidad analítica (no obligatorio), tal como se describe a continuación para cada Kit según su fundamento.

I. Kits de detección del virus SARS-CoV-2 basados en la amplificación de ácidos nucleicos:

a) Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con transcripción reversa (RT-qPCR):

- **Sensibilidad y Especificidad Diagnóstica:** corresponde a la evidencia objetiva sobre el desempeño del kit respecto de su capacidad en la detección del virus SARS-CoV-2 en muestras de hisopado nasofaríngeo de pacientes COVID-19 (+). Se deben informar los resultados cualitativos obtenidos de un panel de muestras compuestas por; verdaderos positivos con cargas virales altas, medias y bajas, y verdaderos negativos para SARS-CoV-2. La sensibilidad y especificidad deben informarse en porcentaje (%).
- **Sensibilidad analítica:** Corresponde al número de copias de ARN genómico viral más bajo que resulta detectable por el ensayo. Además, se deberá informar los valores de la construcción de la curva estándar, factor de dilución y réplicas utilizadas en cada punto.
- **Especificidad analítica:** Corresponde a la evidencia objetiva sobre el desempeño del kit respecto del uso previsto para detección del virus SARS-CoV-2 a través de ensayos de Selectividad (Inclusividad y Exclusividad). Se deben informar los resultados y evidencia acerca de la detección del virus SARS-CoV-2 utilizando la mayor cantidad de variantes del virus con las cuales se disponga (Inclusividad). Informar resultados y evidencia acerca de la no detección de otros virus respiratorios y/o patógenos humanos, no limitándose únicamente a patógenos virales e incluyendo además ARN humano como templado (exclusividad).

b) Amplificación isotérmica medida por bucle con transcripción reversa (RT-LAMP):

- **Sensibilidad y Especificidad Diagnóstica:** Corresponde a la evidencia objetiva sobre el desempeño del kit respecto de su capacidad en la detección del virus SARS-CoV-2 en muestras de hisopado nasofaríngeo de pacientes COVID-19 (+). Se deben informar los resultados cualitativos obtenidos de un panel de muestras compuestas por; verdaderos positivos con cargas virales altas, medias y bajas, y verdaderos negativos para SARS-CoV-2. La sensibilidad y especificidad deben informarse en porcentaje (%).

- **Sensibilidad analítica:** Corresponde al número de copias de ARN genómico viral más bajo que resulta detectable por el ensayo. Además, se deberá informar los valores de la construcción de la curva estándar, factor de dilución y réplicas utilizadas en cada punto
- **Especificidad analítica:** Corresponde a la evidencia objetiva sobre el desempeño del kit respecto del uso previsto para detección del virus SARS-CoV-2 a través de ensayos de Selectividad (Inclusividad y Exclusividad). Se deben informar los resultados y evidencia acerca de la detección del virus SARS-CoV-2 utilizando la mayor cantidad de variantes del virus con las cuales se disponga (Inclusividad). Informar resultados y evidencia acerca de la no detección de otros virus respiratorios y/o patógenos humanos, no limitándose únicamente a patógenos virales e incluyendo además ARN humano como templado (exclusividad).

Nota: la metodología considerada como prueba de referencia (Gold standard) para la comparación de los resultados es la RT-qPCR.

II. Kits de detección inmunocromatográfico del virus SARS-CoV-2 basados en la detección de proteínas virales (antígenos):

- **Sensibilidad y Especificidad Diagnóstica:** corresponde a la evidencia objetiva sobre el desempeño del kit respecto de su capacidad en la detección del virus SARS-CoV-2 en muestras de hisopado nasofaríngeo de pacientes COVID-19 (+). Se deben informar los resultados cualitativos obtenidos de un panel de muestras compuestas por; verdaderos positivos con cargas virales altas, medias y bajas, y verdaderos negativos para SARS-CoV-2. La sensibilidad y especificidad deben informarse en porcentaje (%).
- **Especificidad analítica:** corresponde a la evidencia objetiva sobre el desempeño del kit respecto del uso previsto para detección del virus SARS-CoV-2 a través de ensayos de Selectividad (Inclusividad y Exclusividad). Se deben informar los resultados y evidencia acerca de la detección del virus SARS-CoV-2 utilizando la mayor cantidad de variantes del virus con las cuales se disponga (Inclusividad). Informar resultados y evidencia acerca de la no detección de otros virus respiratorios y/o patógenos humanos, no limitándose únicamente a patógenos virales e incluyendo además ARN humano como templado (exclusividad).

Nota: la metodología considerada como prueba de referencia (Gold standard) para la comparación de los resultados es la RT-qPCR.

Procedimiento N°1:

Verificación de conformidad de laboratorio para Kits de detección del virus SARS-CoV-2

Una vez ingresado el requerimiento para la verificación de conformidad de un kit de detección in vitro del virus SARS-CoV-2, referente a los tests RT-qPCR y RT LAMP, realizará los ensayos pertinentes para determinar la Sensibilidad y Especificidad Diagnóstica, la Sección de Biotecnología, perteneciente al ANDID del ISP. Respecto a los **test de antígenos**, serán realizados por el **Subdepartamento de Enfermedades Virales** perteneciente al **Departamento Laboratorio Biomédico Nacional**.

El tamaño muestral estimado está sujeto a los criterios establecidos en el Anexo N°3. Independiente del tamaño muestral final a utilizar, se requerirá del cliente que envíe material para realizar un mínimo de 300 determinaciones.

Procedimiento N°2:

Una vez que se efectúe la verificación de la conformidad del test (RT-qPCR y RT LAMP), se enviará el informe correspondiente al Subdepartamento de Registro y Autorización de ANDID, desde el laboratorio correspondiente.

Procedimiento N°3:

El Subdepartamento de Registro y Autorización, elaborará el Certificado de la Verificación de la Conformidad, adjuntando el Informe de verificación de la conformidad del test, para ser entregado al usuario.

ANEXO N°1

Insumos Sección Biotecnología:

Para la Verificación de conformidad de laboratorio para Kits de detección del virus SARS-CoV-2, las muestras deben ser proporcionadas por el Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

Insumos de laboratorio y equipamiento para realizar esta actividad:

Vitrina a 4°C (aprox. 340 L) exclusivo para muestras de respaldos de hisopado nasofaríngeo de pacientes COVID 19 (+).

- Congelador (aprox. 220 L) para mantener ácidos nucleicos provenientes de muestras de hisopados nasofaríngeos de pacientes COVID 19 (+).
- Congelador (aprox. 220 L) exclusivo para la mantención de reactivos de biología molecular para el desarrollo de esta prestación de servicios.

Fungibles:

- Puntas con/sin filtro 10/200/1000
- Strips 0.2 ml para PCR
- Placas de 96 pocillos para PCR
- Tapas para placa 96 PCR
- Tapas para strips de PCR
- Tubos cónicos 0,5 ml
- Tubos cónicos de 0,2 ml
- Puntas para pipeta repetidora

Insumos y equipamiento de laboratorio requeridos:

Específicamente, **para cada prestación de servicio** en forma independiente, se requieren los siguientes insumos y equipamiento de laboratorio:

I. Kits de detección del virus SARS-CoV-2 basados en la amplificación de ácidos nucleicos

a) Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con transcripción reversa (RT-qPCR)

- Purificador de ácidos nucleicos.
- Termociclador en tiempo real dedicado exclusivo a la verificación de kits de detección por RT-qPCR.
- Nanodrop (cuantificador de ácidos nucleicos).
- Muestras (panel de muestras originales positivas y negativas de pacientes SARS-CoV-2).
- Tamaño muestral estimado (ver Procedimiento N°2):
- Juego de micropipetas P2-P10-P100-P200-P1000.
- Cabina de PCR.

b) Amplificación isotérmica medida por bucle con transcripción reversa (RT-LAMP)

- Nanodrop (cuantificador de ácidos nucleicos).
- Purificador de ácidos nucleicos.
- Muestras (panel de muestras originales positivas y negativas de pacientes SARS-CoV-2).
- Tamaño muestral estimado (ver Procedimiento N°2):
- Juego de micropipetas P2-P10-P100-P200-P1000.
- Cabina de PCR.
- Baño termo regulado húmedo con agitación.

c) Kits de detección inmunocromatográfico del virus SARS-CoV-2 basados en la detección de proteínas virales (antígenos)

- Requerimientos según subdepartamento de Enfermedades Virales, perteneciente al Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
- Tamaño muestral estimado (ver Procedimiento N°2).
- Gabinete de bioseguridad clase IIA (test antígeno) exclusivo para manejo de muestras COVID-19 (+).

Capacidad de análisis para la verificación de conformidad de laboratorio para Kits de detección del virus SARS-CoV-2:

I. Kits de detección del virus SARS-CoV-2 basados en la amplificación de ácidos nucleicos

a) Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con transcripción reversa (RT-qPCR): 30 días hábiles en la realización de la verificación de laboratorio de 1 kit.

b) Amplificación isotérmica medida por bucle con transcripción reversa (RT-LAMP): 30 días hábiles en la realización de la verificación de laboratorio de 1 kit.

II. Kits de detección inmunocromatográfico del virus SARS-CoV-2 basados en la detección de proteínas virales (antígenos): 20 días hábiles.

III. Kit de Detección por ELISA: 20 días hábiles.

Los tiempos están considerados una vez realizada la verificación documental desde el subdepartamento de Registro de ANDID y de la recepción del kit en el ISP, junto con la disponibilidad de implementos (materiales y reactivos) y el panel de muestras positivas y negativas.

ANEXO N°2

Cálculo de tamaño muestral:

Considerando que la sensibilidad (Se) o especificidad (Sp) de un test de diagnóstico es una proporción, se utilizó la siguiente fórmula para determinar el tamaño de muestra (1,2):

$$n = \frac{z_{\alpha/2}^2 * P * (1 - P)}{d^2}$$

donde:

Z: es el percentil de la función de distribución de la Gaussiana (Normal (0,1)).

α : es la probabilidad que el intervalo de confianza no contenga al parámetro.

P: es la proporción (en este caso la sensibilidad (Se) o especificidad (Sp) predeterminada)

d: es el error máximo admisible, valor que corresponde a un error de tolerancia para la estimación del parámetro.

Se ha establecido que:

1. La cantidad total de muestras positivas y negativas detectadas por el Gold standard debe determinarse mediante la Ecuación 1.
2. Existen casos donde la sensibilidad y/o especificidad reportada por el fabricante puede ser de un 100%. En estos casos, el resultado de la Ecuación 1 será igual a 0. Dado la posibilidad de que esto puede ocurrir, se incluye un criterio para la cantidad mínima de muestras que deben evaluarse. Se consideró la sugerencia del "User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline" del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para establecer un tamaño mínimo de muestras positivas detectadas conjuntamente por el método de referencia y el test candidato (n=50 verdaderos positivos*), y un tamaño mínimo de muestras negativas detectadas por el método de referencia (n=50 muestras negativas detectadas por Gold standard) (3).
3. En caso que la cantidad de muestras positivas y/o negativas estimadas mediante la Ecuación 1 (utilizando la sensibilidad y especificidad indicada en el instructivo del fabricante) es inferior a 50, se debe verificar que la cantidad de muestras indicada en el instructivo del fabricante cumpla con la sugerencia mínima establecida por el CLSI (50 VP y 50 negativas por Gold standard). Si cumple, se considerará la muestra establecida por la Ecuación 1. Si no cumple, entonces se considerará un tamaño de muestra según lo establecido por CLSI. Esto también aplica en caso que el instructivo del fabricante no reporte la cantidad de muestras sobre lo cual basó la estimación de sensibilidad y especificidad.

* verdaderos positivos: muestras detectadas positivas simultáneamente por método "gold standard" y candidato.

Se utilizará la fórmula de tamaño muestral para la estimación de una proporción con una confianza del 95% y un error máximo admisible correspondiente a un 5%, para aquellos kits de detección SARS-CoV-2 que se encuentran reportados en los sitios web oficiales de autoridades reguladoras de alta vigilancia sanitaria en dispositivos médicos, como son algunas de las agencias que forman parte del Foro Internacional de Reguladores de Dispositivos Médicos (IMDRF, por sus siglas en inglés), como la FDA de Estados Unidos, TGA de Australia, HSA de Singapur, ANVISA de Brasil, HEALTH CANADA de Canadá, PMDA de Japón y MFDS de Corea del Sur, información publicada por ISP en su página web actualizada al 26 de abril de 2020. Cabe señalar que la aprobación otorgada por las autoridades reguladoras corresponde a una autorización de uso de emergencia de estos test (4).

Plan de muestreo:

Existen diferentes fases en un plan de muestreo. La Fase I corresponde a una fase exploratoria donde el objetivo es obtener una primera aproximación de la capacidad diagnóstica de una nueva tecnología. La Fase II corresponde a una fase de “desafío”, que corresponde a la determinación de la existencia en las diferencias de la precisión del test para diferentes subpoblaciones de pacientes. La Fase III corresponde a un estudio de campo (prospectivo), en el cual se toman un tamaño de muestras representativas de la población objetivo, tomando en consideración la prevalencia de SARS-CoV-2 (2).

Para la verificación de conformidad de un kit de detección de SARS-CoV-2, se utilizará un plan de muestreo correspondiente a la Fase I para evaluar la precisión del diagnóstico de un test. La Fase I corresponde a una fase exploratoria, donde el objetivo es obtener una primera aproximación de la capacidad de diagnóstico de una nueva tecnología. En este caso, se propone comparar casos confirmados positivos con casos control (2).

La fase exploratoria de este protocolo corresponde a un plan de muestreo retrospectivo para cada paciente, lo que significa que la verdadera condición del paciente es conocida cuando es seleccionado para el estudio (2).

Si se requiere considerar un plan de muestreo para Fase II o III, se debe tener en consideración el diseño de otra metodología.

Por lo tanto, el departamento ANDID, recomienda los criterios anteriores para la verificación de la conformidad de tests rápidos de detección de SARS-CoV-2, evaluando su desempeño, en función de un plan de muestreo en Fase I previo a la comercialización y utilización del producto en el territorio nacional, bajo la aplicación de las indicaciones redactadas en este protocolo.

REFERENCIAS:

1. Banoo S, Bell D, Bossuyt P, Herring A, Mabey D, Poole F, et al. TDR Diagnostics Evaluation Expert Panel: Evaluation of diagnostic tests for infectious diseases: general principles. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2010;8(12 Suppl):S17-29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21548184>
2. Zhou X, McClish DK, Obuchowski NA. *Statistical methods in diagnostic medicine*. 2nd ed. Hoboken, N.J: Wiley; 2011. 545 p. (Wiley series in probability and statistics).
3. EPI2-A2. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Vol. 28, No. 3.
4. http://www.ispch.cl/sites/default/files/Lista%20Test%20Ra%CC%81pidos%20Covid%20al%2026_04_2020.pdf