

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, 1 DE JUNIO DE 2022





---

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

---

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. Proceso de Verificación de la Conformidad en el ISP .....</b>	<b>4</b>
1.1 Etapa de admisibilidad .....	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
<b>Anexo N°1 .....</b>	<b>7</b>
<b>Anexo N°2 .....</b>	<b>8</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>9</b>

## 1. PROCESO DE VERIFICACIÓN DE LA CONFORMIDAD EN EL ISP

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

### 1.1. Etapa de admisibilidad

La solicitud de admisibilidad para la verificación de conformidad de reactivos diagnóstico in vitro del virus SARS-CoV-2, corresponde al proceso a través del cual el Subdepartamento de Autorización y Registro de Dispositivos Médicos, 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 del Instituto de Salud Pública de Chile.

La solicitud de admisibilidad podrá ser solicitada por el fabricante legal domiciliado en Chile o por un representante autorizado o titular, calidad que deberá ser acreditada. Para realizar este trámite, la empresa solicitante debe completar el [Formulario ANDID/013](#) (versión vigente) y adjuntar todos los documentos que allí se indican. La descripción detallada de este trámite y de los documentos que los interesados tienen que presentar, se pueden encontrar en el [Instructivo](#) correspondiente.

### 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-PCR 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) Porcentaje de Acuerdo Positivo (PPA, por sus siglas en inglés) o Sensibilidad; (ii) Porcentaje de Acuerdo Negativo (NPA, por sus siglas en inglés) o Especificidad; (iii) Sensibilidad y Especificidad analítica, 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):

**PPA/Sensibilidad y NPA/Especificidad:** 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 Positivo. Se deben informar los resultados cualitativos obtenidos de un panel de muestras compuestas por; muestras positivas con cargas virales altas, medias y bajas, y muestras negativas para SARS-CoV-2. El desempeño declarado por el fabricante debe informarse en porcentaje (%).

**Límite de detección (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.

**Inclusividad (Sensibilidad analítica):** Documentar los resultados de un estudio de inclusión que demuestre las cepas de SAR-CoV-2 que pueden detectarse mediante el ensayo molecular propuesto.

**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 (estudios de interferencia y reactividad cruzada).

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

**PPA/Sensibilidad y NPA/Especificidad:** 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 Positivo. Se deben informar los resultados cualitativos obtenidos de un panel de muestras compuestas por; muestras positivas con cargas virales altas, medias y bajas, y muestras negativas para SARS-CoV-2. El desempeño declarado por el fabricante debe informarse en porcentaje (%).

**Sensibilidad analítica:** (Límite de detección): 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.

**Inclusividad (Sensibilidad analítica):** Documentar los resultados de un estudio de inclusión que demuestre las cepas de SAR-CoV-2 que pueden detectarse mediante el ensayo molecular propuesto.

**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 (estudios de interferencia y reactividad cruzada).

Nota: la metodología considera la RT-qPCR como prueba comparadora para evaluar los resultados obtenidos en la evaluación de desempeño del método candidato. Además, esta prueba comparativa se debe encontrar reportada 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.

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

**PPA/Sensibilidad y NPA/Especificidad:** 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 Positivo. Se deben informar los resultados cualitativos obtenidos de un panel de muestras compuestas por; muestras positivas con cargas virales altas, medias y bajas, y muestras negativas para SARS-CoV-2. El desempeño declarado por el fabricante debe informarse en porcentaje (%).

- **Límite de detección (Sensibilidad analítica):** Corresponde a la concentración más baja que da resultados positivos el 100% del tiempo y el LoD final es la concentración más baja a la que 19 de 20 réplicas son positivas. Los estudios de LoD determinan la concentración detectable más baja de SARS-CoV-2 a la que aproximadamente el 95% de todas las réplicas (verdaderas positivas) dan positivo.

- **Inclusividad (Sensibilidad analítica):** Corresponde al estudio de inclusión que demuestre las cepas de SAR-CoV-2 que pueden detectarse mediante el ensayo molecular propuesto.
- **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 (estudios de interferencia y reactividad cruzada).

Nota: la metodología considera la RT-qPCR como prueba comparadora para evaluar los resultados obtenidos en la evaluación de desempeño del método candidato. Además, esta prueba comparativa se debe encontrar reportada 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 IMDRF, 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.

El Subdepartamento de Autorización y Registros de Dispositivos Médicos del Instituto de Salud Pública de Chile, verifica la completitud de los antecedentes ingresados y conforme a la revisión documental, aprueba la solicitud de admisibilidad, por medio de una “Resolución de Admisibilidad”. En consecuencia, la empresa solicitante, queda habilitada para continuar en el proceso “Verificación de la Conformidad de kit Diagnóstico de SARS-CoV-2”.

Una vez ingresado el requerimiento para Verificación de la conformidad a nivel de laboratorio para Dispositivos Médicos de Diagnóstico in vitro (DMDIV) de detección del virus SARS-CoV-2, el Laboratorio Biomédico Nacional y Referencia y la Sección de Biotecnología del Instituto de Salud Pública, realizarán los ensayos pertinentes para evaluación del desempeño del DMDIV.

## ANEXO 1: TAMAÑO DE MUESTRA PARA UNA VALIDACIÓN

El ISP recomienda que una validación cumpla con el tamaño muestral indicado por la normativa del CLSI (un mínimo de 50 muestras positivas detectadas conjuntamente por el método comparador y el test candidato, además 50 negativas detectadas por el método comparador) o la indicación de emergencia sanitaria publicada por la FDA (30 muestras positivas y 30 negativas detectadas por el método de comparador). En un esquema de tabla 2x2 esto sería:

**Tabla 1:**

Tabla 2x2 con el tamaño muestral mínimo según estándar CLSI.

		Test Referencia	
		Muestras Positivas (+)	Muestras Negativas (-)
Test candidato	Muestras Positivas (+)	<b>VP ≥ 50</b>	FP
	Muestras Negativas (-)	FN	VN
	Total	VP + FN	<b>FP + VN ≥ 50</b>

Abreviaciones: VP: Verdaderos Positivos; FN: Falsos Negativos; FP: Falsos Positivos; VN: Verdaderos Negativos

En el contexto de emergencia de salud pública, el ISP recomienda lo indicado por la FDA. En un esquema de tabla 2x2 esto sería:

**Tabla 2:**

Tabla 2x2 con el tamaño muestral mínimo según criterio FDA.

		Test Referencia	
		Muestras Positivas (+)	Muestras Negativas (-)
Test candidato	Muestras Positivas (+)	VP	FP
	Muestras Negativas (-)	FN	VN
	Total	<b>VP + FN ≥ 30</b>	<b>FP + VN ≥ 30</b>

Abreviaciones: VP: Verdaderos Positivos; FN: Falsos Negativos; FP: Falsos Positivos; VN: Verdaderos Negativos

## ANEXO 2: CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Considerando que la PPA/Sensibilidad o NPA/Especificidad de un test de diagnóstico es una proporción, se sugiere utilizar la siguiente fórmula para determinar el tamaño de muestra (1,2):

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

(Ecuación 1)

donde:

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

$\alpha$ : es la probabilidad que el intervalo de confianza no contenga al parámetro.

P: es la proporción (en este caso la PPA/Sensibilidad o NPA/Especificidad reportada)

d: es el error máximo admisible, valor que corresponde a un error de tolerancia para la estimación del parámetro. En este caso se considera un error de 0,05

### Requisitos para Verificación

El primer requisito para realizar una verificación, es que la validación de la metodología que se desee implementar debe cumplir con los **criterios de admisibilidad** (ver formulario en el siguiente link: <https://www.ispch.cl/prestacion/9100013/#>). El segundo requisito es que aquella validación cumpla con la cantidad mínima de muestras establecida por el CLSI (Tabla 1) o, en su defecto, que cumpla con el estándar mínimo de la FDA (Tabla 2).

Además, se ha establecido que:

1. Si la PPA/Sensibilidad reportada en la validación es mayor o igual al 98,8%, se ha establecido que, en una verificación, la muestra mínima sugerida es de 18 muestras positivas detectadas por el método comparativo.
2. Si la NPA/Especificidad reportada en la validación es mayor o igual al 98,8%, la muestra mínima sugerida es de 18 muestras negativas detectadas por el método comparativo.
3. Si la PPA/Sensibilidad reportada en la validación es menor a 98,8%, la cantidad total de muestras positivas detectadas por el método comparativo debe determinarse mediante la Ecuación 1.
4. Si la NPA/Especificidad reportada en la validación menor a 98,8%, la cantidad total de muestras negativas detectadas por el método comparativo debe determinarse mediante la Ecuación 1.

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).



## 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](http://www.ispch.cl/sites/default/files/Lista%20Test%20Ra%CC%81pidos%20Covid%20al%2026_04_2020.pdf)