



## **Evaluación del kit de detección de SARS-CoV2 "Isopollo COVID-19 DETECTION kit" (Monitor, South Korea).**

En el presente informe se detallan los resultados del estudio de evaluación de sensibilidad y especificidad del kit "Isopollo COVID-19 detection kit" (Monitor, South Korea), utilizando como referencia o "gold standard" el protocolo del "Centre for Disease Control and Prevention" (CDC) de USA, utilizando el kit "2019-nCoV CDC EUA kit" (IDT, USA) (1,2).

Se seleccionaron para la evaluación un total de 128 muestras de RNA extraídos de hisopados nasofaríngeos que fueron previamente analizadas según el protocolo del CDC (1,2). Los valores de Ct para las sondas N1, N2 y RP incluidos en el kit "2019-nCoV CDC EUA" aparaceren detallados en el Anexo 1. A partir de los valores de Ct para N1 se procedió al cálculo de la carga viral (copias de RNA viral por uL) para las muestras positivas para SARS-CoV-2 (2).

**De las 128 muestras seleccionadas, 97 fueron SARS-CoV2 positivas y 31 SARS-CoV2 negativas según el protocolo del CDC (1,2). El límite de detección (LOD) del protocolo CDC es de 2 copias de RNA viral/uL para nuestras condiciones experimentales.**

Las 128 muestras fueron a continuación analizadas utilizando el kit "Isopollo COVID-19 detection kit" siguiendo las indicaciones del fabricante. Tan solo se ajustó el volumen final de reacción de 25 a 15uL para optimizar el número de reacciones disponibles por kit, si bien manteniendo la proporción de todos los componentes de la mezcla de reacción (ver Anexo 2). Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- **Las 31 muestras negativas para el protocolo de CDC también fueron negativas para el "protocolo Isopollo", indicativo de una especificidad para "Isopollo COVID-19 detection kit" de 100%** (sin embargo hacemos notar que el panel de muestras negativas incluídas en el estudio no incluye muestras confirmadas positivas para otros virus respiratorios, pues la ausencia de reactividad cruzada para "2019-nCoV CDC EUA kit" ya ha sido probada por el CDC). Ver Anexo 1.
- **De las 97 muestras positivas para el protocolo del CDC, 38 muestras resultaron negativas para el "protocolo Isopollo" (ver Anexo 1). Por tanto, para LOD = 2 copias/uL la sensibilidad obtenida fue de 60.8%.**

Sin embargo, como se observa en el Anexo 1, la distribución de "falsos negativos" para el "protocolo Isopollo" no es uniforme y se concentra en valores bajos de carga viral. En ese sentido, detallamos a continuación los valores de sensibilidad para valores mayores de LOD:

**- Para LOD = 250 copias/uL, del total de 61 muestras positivas para el protocolo CDC, 7 muestras fueron negativas para el "protocolo Isopollo", resultando una sensibilidad de 88.5%.**

**- Para LOD = 500 copias/uL, del total de 53 muestras positivas para el protocolo CDC, 3 muestras fueron negativas para el "protocolo Isopollo", resultando una sensibilidad de 94.3%.**

Adicionalmente, con objeto de determinar la potencial utilidad del "protocolo Isopollo" para el diagnóstico de SARS-CoV-2 en **población no hospitalizada** por sintomatología compatible con COVID-19, detallamos datos de distribución de carga viral para los **859 individuos diagnosticados como SARS-CoV2 positivos en nuestro laboratorio:**

**- Cargas virales menores a 250 copias/uL corresponden al 45.05% del total de individuos SARS-CoV2 positivos.**

**- Cargas virales menores a 500 copias/uL corresponden al 51.69% del total de individuos SARS-CoV2 positivos.**

**Por tanto, nuestros resultados indican que para un valor de LOD que garantice una sensibilidad del "protocolo Isopollo" mayor al 90%, potencialmente se detectarían menos del 50% de individuos infectados con SARS-CoV2.**

En Quito, a 30 de Junio de 2020.

Miguel Angel García Bereguain, PhD.  
One Health Research Group.  
Universidad de Las Américas.  
Quito. Ecuador.  
+593996484127  
miguel.garcia.bereguain@udla.edu.ec

**Anexo 1. Tabla de valores de Ct y carga viral para las 128 muestras procesadas por protocolo CDC y protocolo Isopollo.**

n	ID	Viral load (c/uL)	C <sub>T</sub> N1	C <sub>T</sub> N2	C <sub>T</sub> RP	CDC Result	C <sub>T</sub> N	C <sub>T</sub> RdRP	Isopollo Result
1	2418	5,55E+07	15,06	16,61	27,5	Positivo	14.04	11.47	Positivo
2	2739	6,03E+06	13,33	14,45	30,34	Positivo	14.21	11.43	Positivo
3	2743	4,53E+06	13,82	16,64	34,31	Positivo	14.97	12.02	Positivo
4	2859	2,46E+06	12,79	14,57	26,15	Positivo	N/A	13.02	Positivo
5	2745	8,21E+05	16,79	18,13	24,04	Positivo	19.60	15.92	Positivo
6	2387	8,14E+05	19,73	21,06	25,35	Positivo	17.75	14.18	Positivo
7	3699	6,36E+05	20,49	21,75	23,08	Positivo	21.41	19.91	Positivo
8	2767	4,57E+05	17,8	19,07	26,8	Positivo	16.32	13.12	Positivo
9	2391	2,92E+05	21,13	22,32	23,6	Positivo	19.15	14.72	Positivo
10	2822	2,87E+05	18,61	19,59	26,31	Positivo	18.13	15.02	Positivo
11	3694	1,01E+05	22,72	24,17	26,26	Positivo	21.19	17.27	Positivo
12	3689	9,86E+04	22,75	24,02	23,14	Positivo	26.01	23.65	Positivo
13	3517	6,43E+04	21,54	23,01	25,47	Positivo	20.20	15.73	Positivo
14	2657	3,69E+04	21,12	23,05	26,59	Positivo	17.99	14.32	Positivo
15	4595	1,99E+04	24,58	25,74	24,54	Positivo	26.39	23.89	Positivo
16	3717	1,66E+04	22,93	23,82	27	Positivo	19.51	15.73	Positivo
17	2382	1,60E+04	25,08	26,75	23,67	Positivo	22.79	19.66	Positivo
18	2392	1,58E+04	25,1	26,9	27,33	Positivo	22.08	17.53	Positivo
19	2402	1,25E+04	25,26	26,96	25,81	Positivo	21.16	18.41	Positivo
20	3716	9,14E+03	24,16	25,07	28,38	Positivo	20.94	15.24	Positivo
21	3938	9,13E+03	24,63	25,57	27,21	Positivo	21.98	19.39	Positivo
22	2854	8,96E+03	23,94	25,26	28,02	Positivo	20.11	16.27	Positivo
23	2761	7,35E+03	24,97	26,16	23,79	Positivo	23.64	21.12	Positivo
24	2716	5,17E+03	25,03	27,17	24,86	Positivo	38.16	35.20	Positivo
25	4135	4,67E+03	25,55	26,79	23,33	Positivo	27.29	21.50	Positivo
26	3943	4,06E+03	26,1	27,58	26,55	Positivo	26.33	23.89	Positivo
27	2487	4,06E+03	25,51	27,81	26,05	Positivo	21.03	16.14	Positivo
28	2932	3,79E+03	26,12	27,33	23,32	Positivo	23.76	24.01	Positivo
29	3718	3,65E+03	26,06	27,17	26,25	Positivo	25.19	19.28	Positivo

30	<b>2253</b>	2,73E+03	26,43	28,18	26,35	Positivo	24.47	18.95	Positivo
31	<b>2694</b>	2,57E+03	26,42	28,55	23,26	Positivo	30.50	23.40	Positivo
32	<b>4160</b>	2,32E+03	28,27	29,42	24,84	Positivo	24.52	27.31	Positivo
33	<b>2746</b>	2,03E+03	27,2	28,97	23,03	Positivo	28.43	23.43	Positivo
34	<b>2480</b>	1,83E+03	27,05	28,9	25,44	Positivo	23.91	22.57	Positivo
35	<b>2765</b>	1,42E+03	27,82	29,16	27,34	Positivo	26.23	22.27	Positivo
36	<b>2871</b>	1,35E+03	27,9	29,97	22,29	Positivo	N/A	N/A	Negativo
37	<b>2483</b>	1,26E+03	27,63	29,47	25,61	Positivo	32.66	N/A	Positivo
38	<b>2659</b>	1,25E+03	27,84	30,99	22,84	Positivo	30.38	26.68	Positivo
39	<b>2659</b>	1,25E+03	27,84	30,99	22,84	Positivo	31.13	24.22	Positivo
40	<b>3687</b>	1,17E+03	28,13	30,07	25,01	Positivo	29.43	N/A	Positivo
41	<b>2863</b>	1,13E+03	28,05	29,83	27,49	Positivo	26.43	32.62	Positivo
42	<b>2863</b>	1,13E+03	28,05	29,83	27,49	Positivo	27.10	23.52	Positivo
43	<b>2247</b>	1,09E+03	27,87	29,72	22,7	Positivo	35.49	33.56	Positivo
44	<b>2744</b>	9,78E+02	28,47	29,94	24,05	Positivo	28.60	25.67	Positivo
45	<b>2706</b>	9,55E+02	28,38	30,39	24,27	Positivo	24.46	21.47	Positivo
46	<b>2741</b>	9,36E+02	28,54	30,1	26,32	Positivo	24.30	22.04	Positivo
47	<b>4119</b>	8,20E+02	29,15	29,94	23,4	Positivo	N/A	N/A	Negativo
48	<b>2763</b>	6,79E+02	29,1	30,07	23,95	Positivo	32.09	26.73	Positivo
49	<b>2841</b>	6,35E+02	28,7	30,54	25,88	Positivo	26.71	20.46	Positivo
50	<b>4142</b>	6,12E+02	29,76	31,05	23,7	Positivo	N/A	N/A	Negativo
51	<b>4152</b>	5,85E+02	29,85	31,06	24,28	Positivo	38.35	N/A	Positivo
52	<b>278</b>	5,44E+02	29,07	31,57	24,01	Positivo	N/A	32.72	Positivo
53	<b>4147</b>	5,13E+02	30,12	31,54	26,25	Positivo	36.26	N/A	Positivo
54	<b>2378</b>	4,90E+02	29,83	31,48	26,09	Positivo	31.94	29.40	Positivo
55	<b>2469</b>	4,64E+02	29,18	30,48	25,65	Positivo	N/A	N/A	Negativo
56	<b>2413</b>	4,03E+02	29,43	32,39	31,37	Positivo	N/A	N/A	Negativo
57	<b>2722</b>	3,48E+02	30,39	32,94	22,99	Positivo	29.25	N/A	Positivo
58	<b>2724</b>	3,40E+02	30,43	32,74	26,43	Positivo	26.53	27.09	Positivo
59	<b>4171</b>	3,15E+02	31,68	33,15	26,23	Positivo	39.08	N/A	Positivo
60	<b>3695</b>	2,60E+02	29,96	32,35	24,03	Positivo	N/A	N/A	Negativo
61	<b>4110</b>	2,57E+02	31,56	34,13	26,31	Positivo	N/A	N/A	Negativo
62	<b>4120</b>	2,42E+02	31,68	32,92	24,57	Positivo	N/A	38.19	Positivo
63	<b>2650</b>	1,86E+02	31,51	33,94	26,76	Positivo	N/A	N/A	Negativo
64	<b>4141</b>	1,47E+02	32,71	34,31	25,17	Positivo	N/A	N/A	Negativo
65	<b>4574</b>	1,31E+02	33,18	34,34	28,44	Positivo	37.91	N/A	Positivo
66	<b>4190</b>	1,31E+02	33,19	34,6	26,08	Positivo	N/A	N/A	Negativo
67	<b>2709</b>	9,83E+01	32,86	34,04	23,03	Positivo	N/A	N/A	Negativo
68	<b>2873</b>	9,66E+01	32,48	33,92	23,31	Positivo	N/A	N/A	Negativo
69	<b>2717</b>	9,52E+01	32,96	37,71	25,12	Positivo	N/A	N/A	Negativo
70	<b>4134</b>	9,15E+01	33,69	36,25	26,81	Positivo	N/A	N/A	Negativo
71	<b>2666</b>	9,11E+01	33,05	36,02	27,52	Positivo	N/A	N/A	Negativo
72	<b>2867</b>	8,95E+01	33,08	36,53	24,87	Positivo	N/A	N/A	Negativo

73	<b>2872</b>	8,16E+01	32,78	34,55	21,02	Positivo	N/A	N/A	Negativo
74	<b>2710</b>	7,95E+01	33,32	35,61	28,34	Positivo	28.07	22.44	Positivo
75	<b>276</b>	7,94E+01	31,4	35,32	24,12	Positivo	N/A	N/A	Negativo
76	<b>4174</b>	7,19E+01	34,21	35,69	27,94	Positivo	N/A	N/A	Negativo
77	<b>4137</b>	7,17E+01	34,2	35,77	24,25	Positivo	N/A	N/A	Negativo
78	<b>4136</b>	6,92E+01	34,27	38,86	27,88	Positivo	N/A	N/A	Negativo
79	<b>4581</b>	6,25E+01	34,45	36,29	27,44	Positivo	N/A	N/A	Negativo
80	<b>4129</b>	5,84E+01	34,62	37,99	23,73	Positivo	N/A	N/A	Negativo
81	<b>2864</b>	5,78E+01	33,95	35,35	29,09	Positivo	N/A	N/A	Negativo
82	<b>2388</b>	5,11E+01	32,9	34,32	29,54	Positivo	N/A	N/A	Negativo
83	<b>4151</b>	5,00E+01	34,94	38,55	26,22	Positivo	N/A	37.73	Positivo
84	<b>4175</b>	4,78E+01	34,91	39,4	28,56	Positivo	N/A	N/A	Negativo
85	<b>4122</b>	4,77E+01	35,04	36,41	27,39	Positivo	N/A	N/A	Negativo
86	<b>4145</b>	4,42E+01	35,2	35,91	22,69	Positivo	N/A	N/A	Negativo
87	<b>2381</b>	3,90E+01	33,27	36,18	26,26	Positivo	32.66	24.88	Positivo
88	<b>3500</b>	3,58E+01	33,16	37,64	25,48	Positivo	N/A	N/A	Negativo
89	<b>4128</b>	3,07E+01	35,96	37,37	26,43	Positivo	N/A	N/A	Negativo
90	<b>4131</b>	2,77E+01	36,17	38,01	26,35	Positivo	N/A	N/A	Negativo
91	<b>4165</b>	1,86E+01	36,52	38,58	29,74	Positivo	N/A	N/A	Negativo
92	<b>4118</b>	1,72E+01	37,15	39,67	26,08	Positivo	N/A	N/A	Negativo
93	<b>4176</b>	1,32E+01	37,11	37,57	27,9	Positivo	N/A	N/A	Negativo
94	<b>4169</b>	1,19E+01	37,29	38,37	26,56	Positivo	N/A	N/A	Negativo
95	<b>2372</b>	5,19E+00	36,02	38,87	27,46	Positivo	N/A	N/A	Negativo
96	<b>2396</b>	3,52E+00	35,19	39,76	24,31	Positivo	N/A	N/A	Negativo
97	<b>2651</b>	2,89E+00	37,51	36,45	26,66	Positivo	N/A	N/A	Negativo
98	<b>4177</b>	0	N/A	N/A	26,91	Negativo	N/A	N/A	Negativo
99	<b>4178</b>	0	N/A	N/A	25,88	Negativo	N/A	N/A	Negativo
100	<b>4179</b>	0	N/A	N/A	23,49	Negativo	N/A	N/A	Negativo
101	<b>4180</b>	0	N/A	N/A	25,87	Negativo	N/A	N/A	Negativo
102	<b>4181</b>	0	N/A	N/A	26,07	Negativo	N/A	N/A	Negativo
103	<b>4182</b>	0	N/A	N/A	27,59	Negativo	N/A	N/A	Negativo
104	<b>4183</b>	0	N/A	N/A	26,63	Negativo	N/A	N/A	Negativo
105	<b>4184</b>	0	N/A	N/A	23,01	Negativo	N/A	N/A	Negativo
106	<b>4185</b>	0	N/A	N/A	27,31	Negativo	N/A	N/A	Negativo
107	<b>4191</b>	0	N/A	N/A	29,2	Negativo	N/A	N/A	Negativo
108	<b>4192</b>	0	N/A	N/A	26,95	Negativo	N/A	N/A	Negativo
109	<b>4193</b>	0	N/A	N/A	23,52	Negativo	N/A	N/A	Negativo
110	<b>4194</b>	0	N/A	N/A	26,26	Negativo	N/A	N/A	Negativo
111	<b>4195</b>	0	N/A	N/A	26,46	Negativo	N/A	N/A	Negativo
112	<b>4196</b>	0	N/A	N/A	26,95	Negativo	N/A	N/A	Negativo
113	<b>4197</b>	0	N/A	N/A	22,94	Negativo	N/A	N/A	Negativo
114	<b>4198</b>	0	N/A	N/A	27,32	Negativo	N/A	N/A	Negativo
115	<b>4199</b>	0	N/A	N/A	27,01	Negativo	N/A	N/A	Negativo

116	<b>4573</b>	0	N/A	N/A	27,56	Negativo	N/A	N/A	Negativo
117	<b>4575</b>	0	N/A	N/A	29,97	Negativo	N/A	N/A	Negativo
118	<b>4576</b>	0	N/A	N/A	28,22	Negativo	N/A	N/A	Negativo
119	<b>4577</b>	0	N/A	N/A	26,3	Negativo	N/A	N/A	Negativo
120	<b>4578</b>	0	N/A	N/A	24,69	Negativo	N/A	N/A	Negativo
121	<b>4579</b>	0	N/A	N/A	27,76	Negativo	N/A	N/A	Negativo
122	<b>4586</b>	0	N/A	N/A	29,18	Negativo	N/A	N/A	Negativo
123	<b>4587</b>	0	N/A	N/A	26,26	Negativo	N/A	N/A	Negativo
124	<b>4588</b>	0	N/A	N/A	29,12	Negativo	N/A	N/A	Negativo
125	<b>4589</b>	0	N/A	N/A	27,26	Negativo	N/A	N/A	Negativo
126	<b>4592</b>	0	N/A	N/A	28,62	Negativo	N/A	N/A	Negativo
127	<b>4593</b>	0	N/A	N/A	26,78	Negativo	N/A	N/A	Negativo
128	<b>3701</b>	0	N/A	N/A	26,28	Negativo	N/A	N/A	Negativo

#### Anexo 2. Mezcla de reacción ajustada a 15uL para protocolo Isopollo.

Componente	Stock	Unidad	Ci	Conc. Final	Vol x 1 (µL)
<b>Agua MQ</b>	1		1	1	<b>0,7</b>
<b>Reaction Buffer</b>	2	X	2	1	<b>7,5</b>
<b>Detection Primer</b>	12,5	uM	12,5	1	<b>1,2</b>
<b>Enzyme Mix</b>	25	X	25	1	<b>0,6</b>
<b>Template</b>					<b>5,0</b>
			<b>Volumen final Mix</b>		10
			<b>Volumen final de reacción</b>		<b>15</b>

## Referencias.

1. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Center for Diseases Control and Prevention, USA.  
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
2. Byron Freire-Paspuel, Patricio Vega-Mariño, Alberto Velez, Paulina Castillo, Marilyn Cruz, Miguel Angel Garcia-Bereguiain. Evaluation of nCoV-QS (MiCo BioMed) for RT-qPCR Detection of SARS-CoV-2 From Nasopharyngeal Samples Using CDC FDA EUA qPCR Kit as a Gold Standard: An Example of the Need of Validation Studies. *J Clin Virol.* 2020 May 22;128:104454. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104454.