

RELATÓRIO TÉCNICO

Avaliação da performance de teste rápido de antígeno para diagnóstico de COVID-19 em pacientes infectados com a variante Omicron

Matheus Filgueira Bezerra¹, Lilian Caroliny Amorim Silva¹, Rômulo Pessoa e Silva², Gisele Lino Soares³, Filipe Zimmer Dezordi¹, Tulio L. Campos¹, Cassia Docena¹, Maira Galdino da Rocha Pitta², Francisco de Assis da Silva Santos⁴, Michelly Pereira², Gabriel da Luz Wallau¹, Marcelo Henrique Santos Paiva^{1,4}.

1 - Instituto Aggeu Magalhães, Fiocruz, Recife, Brazil.

2 - Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica, Recife, Brazil

3 - Secretaria Municipal de Saúde, Caruaru, Brazil

4 - Centro Acadêmico do Agreste (CAA), Núcleo de Ciências da Vida, Caruaru, Brazil

Contato:

matheus.bezerra@fiocruz.br

marcelo.paiva@fiocruz.br

genomahcov@fiocruz.br

A equipe da vigilância genômica do SARS-CoV-2 do Instituto Aggeu Magalhães (Rede Genômica Fiocruz), em parceria com o Núcleo de Inovação Terapêutica da UFPE e a Secretaria Municipal de Saúde de Caruaru, desenvolveu um estudo em que avaliou a performance do teste rápido de antígeno TR DPP® COVID-19 AG Biomanguinhos (também disponível como DPP® SARS-CoV-2 Antigen – Chembio) frente a variante Omicron (BA.1 e sublinhagens). Este relatório técnico tem como objetivo reportar os achados do estudo, de forma que maiores detalhes podem ser encontrados na versão

preprint do trabalho científico completo [1], atualmente submetida à avaliação pelos pares em revista científica.

A maioria dos testes de antígeno hoje utilizados no diagnóstico da COVID-19 foram desenhados e validados de acordo com as linhagens iniciais de SARS-CoV-2 que predominavam o cenário epidemiológico da pandemia em 2020. Tendo em vista que a variante Ômicron acumula pelo menos quatro mutações no gene codificante do nucleocapsídeo (alvo utilizado pelos testes de captura de antígeno), nosso estudo visou re-acessar a sensibilidade e especificidade do teste frente essa variante, em um contexto de vida real.

Para que os resultados fossem representativos do contexto epidemiológico brasileiro, o desenho do estudo trouxe algumas características importantes, tais como: i) caráter prospectivo, onde os pacientes foram convidados a participar do estudo antes da realização do diagnóstico e o teste rápido foi avaliado no momento da coleta (amostras frescas), ii) não foram aplicados critérios de seleção de pacientes (por exemplo: tempo de início ou presença de sintomas, estudo “*Real-Life*”) e iii) afim de proporcionar uma alta confiabilidade na análise, o método de referência empregado para comparação consistiu na combinação de dois métodos de diagnóstico por RT-qPCR distintos (kit E/RP Biomanguinhos e protocolo CDC). Ademais, para confirmar a linhagem das amostras que testaram positivas no estudo, as mesmas foram submetidas ao sequenciamento do genoma por NGS, ou quando não possível o sequenciamento, foram avaliadas pelo protocolo de inferência por RT-qPCR multiplex. O fluxo de trabalho do estudo e as características demográficas dos pacientes avaliados estão demonstrados na **Figuras 1 e 2**. É importante mencionar ainda que por ter sido realizado em 2022, o presente estudo avalia o teste rápido em uma população com alta cobertura vacinal (o que pode influenciar na carga viral e na duração do período infectante), sendo mais representativo do cenário atual.

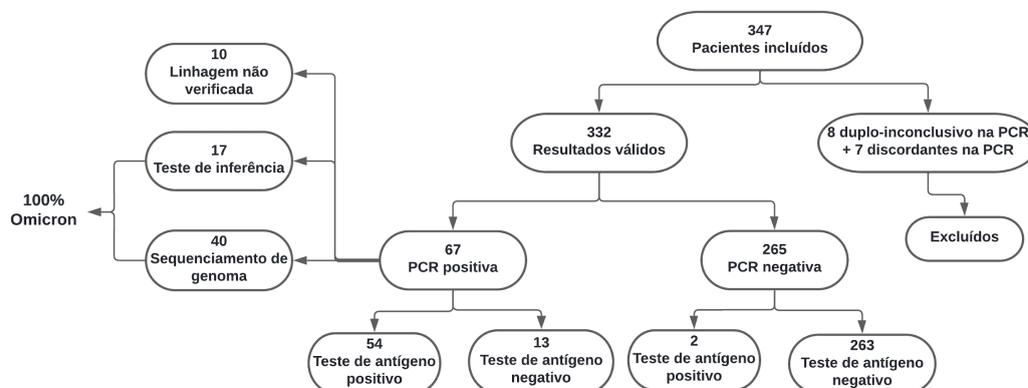


Figura 1. Desenho do estudo e fluxo de trabalho. O organograma apresenta a quantidade de amostras avaliadas e sua distribuição de acordo com critérios de inclusão e exclusão, resultados de exames diagnósticos e sequenciamento.

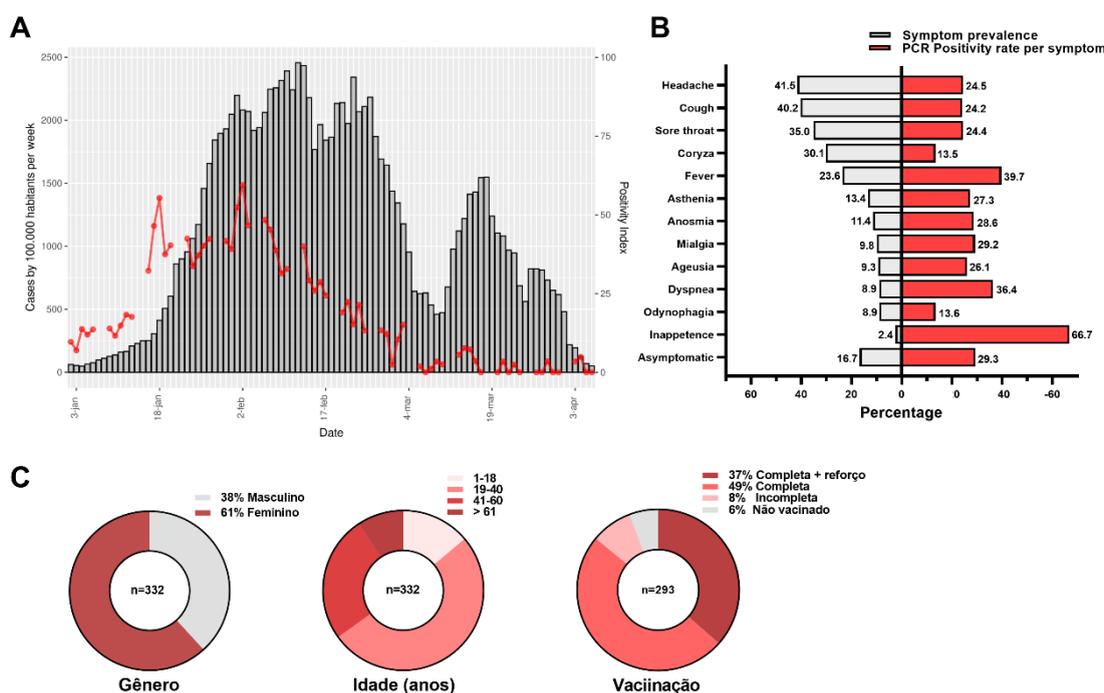


Figura 2. Caracterização epidemiológica, clínica e demográfica da coorte. (A) Incidência de COVID-19 na cidade de Caruaru durante o surto pela variante Omicron (eixo esquerdo, barras cinza) e índice de positividade dos testes realizados no centro de testagem da cidade (eixo direito, linha vermelha). (B) Em cinza, a prevalência de cada sintoma autorreferido pelos pacientes analisados no estudo e em vermelho, a porcentagem de testes de PCR positivos para cada sintoma relatado. (C) características demográficas dos pacientes incluídos no estudo.

No total 347 pacientes foram incluídos no estudo. No entanto, desses, 15 foram excluídos por apresentarem resultados divergentes nos dois protocolos de qPCR. Dos 332 pacientes remanescentes, 67 testaram positivo e 265 testaram negativo por PCR. Dos 67 pacientes que testaram positivo na PCR, 54 também testaram positivo no teste de antígeno (**sensibilidade geral = 80,6%**; IC95% = 69,11 - 89,24%) e 2 dos 265 pacientes PCR negativos foram falso-positivos na teste de antígeno (**especificidade: 99,2%**; IC95% = 97,3 – 99,1%) (**Tabela 1**). Além disso, valores preditivos positivos e negativos foram de 96,4% e 95,3% respectivamente, considerando a prevalência de 20,2% em nossa amostragem.

Tabela 1. Performance do teste rápido de antígeno

	Valor	95% IC
Sensibilidade geral	80.60%	69.11 - 89.24
E/RP Ct < 31	93.75%	82.80 - 98.69
Ct ≥ 31	47.4%	24.45 - 71.14
N1/CDC Ct < 31	90.2%	78.59 - 96.74
Ct ≥ 31	27.3%	6.02 - 60.97
Especificidade	99.25%	97.30 - 99.91
Prevalência da doença	20.20%	-
Valor preditivo positivo	96.43%	87.12 - 99.08
Valor preditivo negativo	95.28%	92.54 - 97.05
Acurácia	95.48%	92.65 - 97.45

O estudo evidenciou uma redução gradual na sensibilidade do teste em valores de Ct mais elevados (ou seja, amostras com menor carga viral). Utilizando um valor de Ct de 31 como ponto de corte, a sensibilidade do teste caiu de 93,7% para 47,4% considerando como referência na PCR o alvo N1 e de 90,2% para 27,3% considerando o alvo E. Corroborando esse achado, as médias de Ct (N1) para verdadeiros positivos e

falsos negativos foram 24,1 (IC95% = 23-25,1) e 31 (IC95% = 28,1-34), respectivamente, e para o alvo E foram de 28,2 (IC95% = 27,1 -29,3) e 34,1 (IC95% = 31,2-36,4), respectivamente (**Figura 3**). Das 67 positivas, foi possível caracterizar 40 amostras por NGS e outras 17 amostras pelo protocolo de inferência qPCR, somando 57 (85%) de amostras caracterizadas. Dessas, todas foram da linhagem Omicron BA.1 ou BA.1.1 (**Figura 4**).

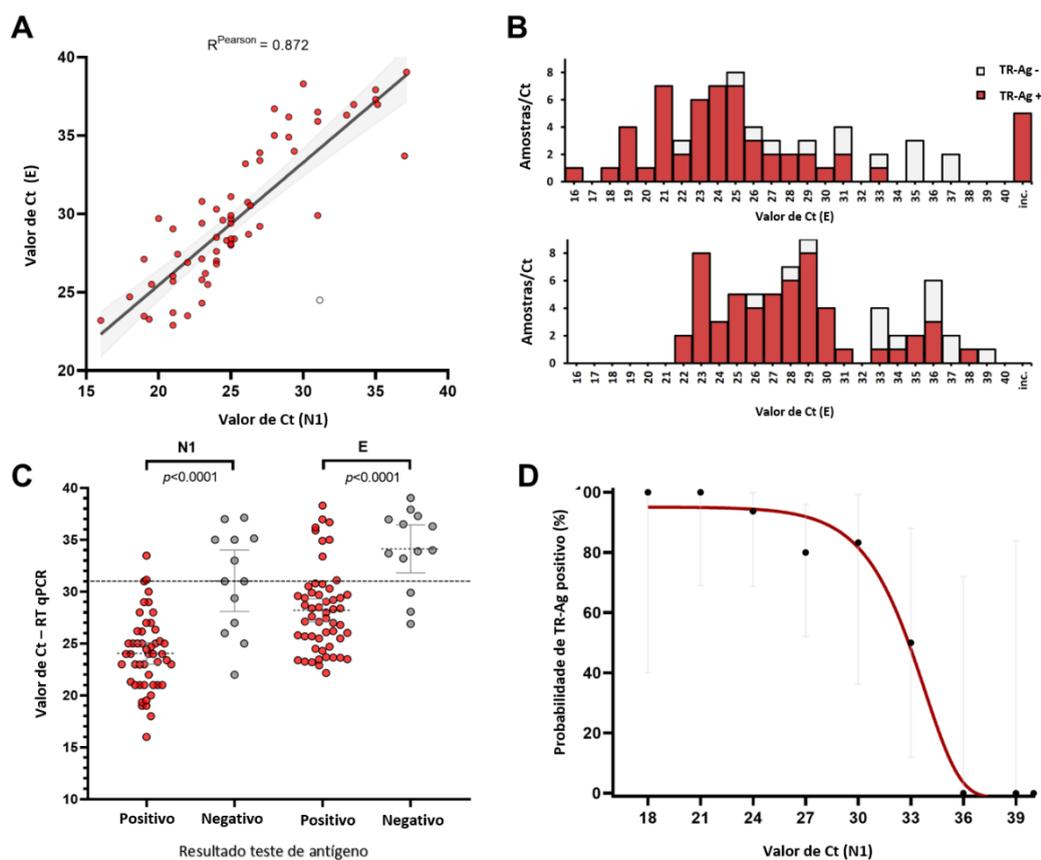


Figura 3. Comparação dos resultados da PCR e do teste rápido de antígeno. (A) correlação entre os valores de Ct dos dois métodos de PCR que foram usados de forma combinada como método de referência. (B) Distribuição dos valores de Ct e a proporção de amostras positivas no teste rápido. (C) Valores de Ct agrupados de acordo com o resultado do teste rápido: As amostras Ag-positivas apresentaram valores de Ct mais baixos (maior carga viral) do que as amostras Ag-negativas. (D) Probabilidade de teste Ag positivo de acordo com os valores de Ct (alvo N1) em grupos de 3 (por exemplo, 16-18, 19-21).

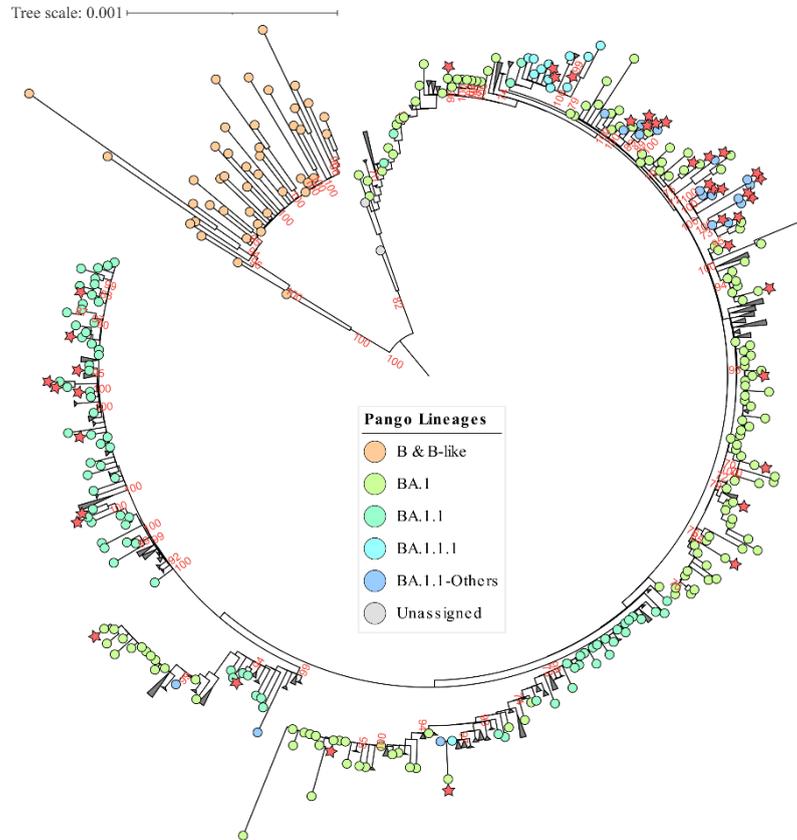


Figura 4: Árvore filogenética de máxima verossimilhança focada na linhagem Omicron. Suporte de ramificação representado por *ultrafast bootstrap*. Os genomas do presente estudo estão marcados com estrelas vermelhas.

A sensibilidade e especificidade geral do teste (80,6 e 99,2%, respectivamente) ficaram dentro da faixa recomendada pela Organização Mundial da Saúde e Comissão Europeia [2, 3]. A queda na sensibilidade do teste rápido em relação à PCR em amostras com baixa carga viral já vem sendo amplamente descrita em testes de antígeno de forma geral, independentemente da variante viral em questão. É importante ressaltar que a sensibilidade geral observada no presente estudo foi ligeiramente inferior à relatada na bula do produto (sensibilidade: 90,3 e especificidade: 98,8%) [4]. No entanto, essa divergência na sensibilidade do teste muito provavelmente se deve às diferenças no desenho do estudo, que avaliam grupos de pacientes com perfis distintos, sob a óptica de carga viral e de epidemiologia. A validação descrita pelo fabricante incluiu apenas indivíduos sintomáticos com até nove dias do início dos sintomas e 79% das amostras

positivas apresentaram valor de Ct inferior a 25 (carga viral alta), enquanto em nosso estudo apenas 48% dos casos positivos estavam dentro deste grupo. No entanto, ao analisar de forma equiparada, amostras com valor de Ct < 25, foi observada no presente estudo uma sensibilidade do teste semelhante à relatada pelo fabricante (96,6% no estudo e 98% na bula).

Em suma, os dados obtidos aqui apoiam a manutenção da sensibilidade do teste rápido de antígeno para a linhagem BA.1 e BA.1.1 Omicron e ressaltam a confiabilidade do teste para diagnóstico de COVID-19 em cenários epidemiológicos de alta transmissão. Entretanto, devido ao rápido surgimento de novas variantes, outros estudos serão necessários para avaliar a performance do teste frente às linhagens BA.4 e BA.5, mais recentemente identificadas.

Referências

1. Real-life evaluation of a rapid antigen test (DPP® SARS-CoV-2 Antigen) for COVID-19 diagnosis of primary healthcare patients, in the context of the Omicron-dominant wave in Brazil. Bezerra MF, Silva LCA, Pessoa-e-Silva R, Soares GL, Dezordi FZ, et al. *Preprint*, MedRxiv 2022.08.02.22278277; doi: <https://doi.org/10.1101/2022.08.02.22278277>
2. World Health Organization. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection: interim guidance, 6 October 2021. Accessed March 20, 2022. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/345948>
3. European Commission Directorate-General For Health And Food Safety. EU Common list of COVID-19 rapid antigen tests and a list of mutually recognised COVID-19 laboratory based antigenic assays. Version updated on 10 June 2022. Accessed on June 30, 2022. https://health.ec.europa.eu/health-security-and-infectious-diseases/crisis-management/covid-19-diagnostic-tests_en
4. Bio.fiocruz.br. DPP® COVID-19 AG. Available at: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/produtos/reativos/testes-rapidos/dpp-covid19-ag>