

Casetă de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă)

Prospect

UN TEST RAPID PENTRU DETECȚIA CALITATIVĂ A ANTIGENILOR NOULUI CORONAVIRUS ÎN MUCOASA NAZOFARINGIANĂ ȘI MUCOASA OROFARINGIANĂ. Exclusiv pentru utilizare profesională în scopul diagnosticării in vitro.

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Caseta de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă) este un test de diagnosticare in vitro pentru detectarea calitativă a antigenilor noului coronavirus în mucoasa nazofaringiană și mucoasa orofaringiană, utilizând metoda imunocromatografică rapidă. Identificarea se bazează pe anticorpii monoclonali specifici antigenului noului coronavirus. Acesta va furniza informații medicilor clinicieni în vederea prescrierii medicației corecte.

REZUMAT

Noile coronavirusuri aparțin genului β COVID-19 este o boală infecțioasă respiratorie acută. Oamenii sunt în general susceptibili. În prezent, pacienții infectați cu noul coronavirus reprezintă principala sursă de infecție; persoanele infectate asimptomatic pot fi, de asemenea, o sursă infecțioasă. Pe baza investigației epidemiologice actuale, perioada de incubație este cuprinsă între 1 zi și 14 zile, în cele mai multe cazuri între 3 zile și 7 zile. Principalele manifestări includ febră, oboselă și tuse seacă. Congestia nazală, secreții nazale, durere în gât, mialgie și diaree reprezintă simptome întâlnite în unele cazuri.

Sindromul respirator acut sever - coronavirus - 2 (SARS-Cov-2) este un virus încapsulat nesegmentat cu RNA de sens pozitiv. Este cauza infecției cu Coronavirus-0 (COVID-19) întâlnită la oameni, care este contagioasă. SARS-Cov-2 prezintă mai multe proteine structurale, inclusiv a spiculiilor (S), Invelișului (E), membranei (M) și nucleocapsidiei (N).

În prezent, există multe variante ale noului coronavirus (SARS-Cov-2), iar mutația N501Y și variantele sale aproximative au atras atenția, deoarece poziția mutației acestora este localizată în domeniul de legare a receptorului de glicoproteină al virusului, modificând astfel eficacitatea infecției cu virus. Analiza in silico a demonstrat că mutația N501Y nu a modificat structura proteinei primare și țărșare a domeniului RBD al proteinei spiculiilor. Astfel, antigenicitatea sa rămâne nemodificată.

PRINCIPIU

Dispozitivul de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (salivă) este un test membranar imunocromatografic, care utilizează anticorpii monoclonali foarte sensibili la noul coronavirus.

Banda de testare este compusă din următoarele trei părți, și anume dispozitivul de prelevare, caseta cu reactiv și membrană de reacție. Membrana cu reactiv conține aur coloidal conjugat cu anticorpii monoclonali împotriva noului coronavirus; membrana de reacție conține anticorpii secundari pentru noul coronavirus și anticorpii policlonali împotriva globulinei provenite de la șoarece, care sunt imobilizați în prealabil pe membrană. Atunci când proba este recepționată de către test, soluția conjugată din caseta cu reactiv se dizolvă și migrează împreună cu proba nazală. Atunci când noul coronavirus este prezent în proba nazală, se formează un complex între conjugatul anti-noul coronavirus, iar virusul va fi prins / detectat de către anticorpii monoclonali specifici anti-noul coronavirus pe regiunea T. Indiferent dacă proba conține sau nu virusul, soluția continuă să migreze pentru a întâlni un alt reactiv (un anticorp IgG provenit de la șoarece), care leagă conjugatele rămase, producând astfel o linie roșie pe regiunea C.

Testul rapid pentru antigenul noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă) poate detecta atât nucleoproteina SARS-Cov-2, precum și proteina spiculiilor din SARS-Cov-2. Prin tehnica ELISA, am stabilit că anticorpii pe care îl utilizăm se leagă de aminoacizii 511-531 ai proteinei spiculiilor din SARS-Cov-2.

Detectabilitatea variantelor genetice de SARS-Cov-2 a fost testată prin examinarea sensibilității la proteinele spiculiilor din SARS-Cov-2 recombinante (de la 319 la 541aa). În cadrul acestor teste, testul rapid al antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) a obținut aceleași valori când a detectat variantele B.1.1.7 (UK) și B.1.351 (SA) ca atunci când a detectat varianta standard.

REACTIVI

Membrana cu reactiv conține aur coloidal conjugat cu anticorpii monoclonali împotriva noului coronavirus; membrana de reacție conține anticorpii secundari pentru noul coronavirus și anticorpii policlonali împotriva globulinei provenite de la șoarece, care sunt imobilizați în prealabil pe membrană.

MASURI DE PRECAUȚIE

- Exclusiv pentru utilizare în scopul diagnosticării in vitro.
- Nu utilizați ulterior datei de expirare.
- Asigurați-vă că folia ce conține dispozitivul de testare nu este deteriorată înainte de deschidere pentru utilizare.
- Efectuați testul la temperatura camerei, între 15 și 30°C.
- Purați mânăși atunci când manipulați probele, evitați atingerea membranei cu reactiv și fanta pentru probă.
- Toate probele și accesoriile de utilizare trebuie considerate infecțioase și eliminate conform regulamentelor locale.
- Evitați utilizarea probelor cu sânge.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Depozitați dispozitivul de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă) la temperatura camerei sau refrigerată (2-30°C). A nu se congela. Toți reactivii sunt stabili până la datele de expirare marcate pe ambalaj și fiola tamponului de recoltare.

COLECTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

1. Colectarea probei:

Acesta este aplicabil diagnosticării noului coronavirus din probe de mucoasă nazofaringiană. Utilizarea probei proaspăt colectate pentru realizarea optimă a testului. Colectarea inadecvată a probei sau manipularea incorectă a probei poate determina un rezultat fals negativ.

Pentru mucoasa nazofaringiană, introduceți complet tamponul steril furnizat în acest kit în bazinul nazal și tamponați de mai multe ori pentru a colecta celulele epidemice ale mucoasei. Pentru mucoasa orofaringiană, introduceți complet tamponul steril furnizat în acest kit în faringele posterior, amigdale și alte zone inflamate. Evitați atingerea limbii, obrașilor și dinților cu tamponul.

Se recomandă colectarea probei din nazofaringe pentru rezultate mai concludente.

2. Pregătirea probei:

- 1) Scoateți un tub de extracție și un recipient cu tampon de extracție, adăugați întregul tampon de extracție în tubul de extracție.
- 2) Tamponare nazofaringiană și orofaringiană
Introduceți tamponul în tubul de extracție, care conține Tamponul de Extracție a Probei. Rotiți tamponul în interiorul tubului, utilizând o mișcare circulară pentru a roti latura tubului de extracție, astfel încât lichidul să fie resorbit din tampon; îndepărtați tamponul. Soluția extrasă va fi utilizată drept probă de testare.

MATERIALE

Materiale furnizate

- Mostră sterilizată din mucoasă
 - Tub de extracție
 - Dispozitiv de testare
 - Duză
 - Tampon de extracție probă
 - Suport tub*
- *Ambalajul cu 25 teste conține suportul pentru tub, pentru ambalajul cu 5 teste se utilizează cutia testului drept suport al tubului.

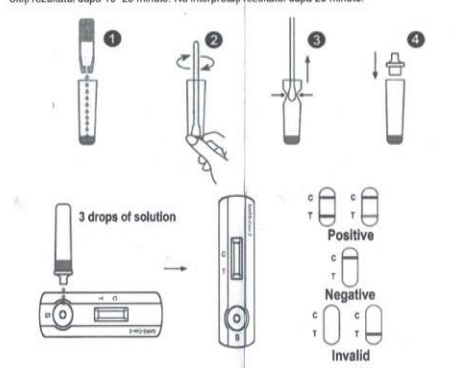
Materiale necesare, dar nefurnizate

- Cronometru

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Permiteți dispozitivul de testare, probei, tamponului de extracție să ajungă la temperatura camerei (15-30°C) anterior testării.

1. Îndepărtați dispozitivul de testare din folia sigilată și utilizați-l cât mai curând posibil. Puneți dispozitivul de testare pe o suprafață curată și plană. Cele mai bune rezultate vor fi obținute, dacă testul se realizează imediat după deschiderea foliei.
2. Desfaceți capacul tubului de colectare a probei.
3. Scoateți un tub de extracție și un recipient cu tampon de extracție. Îndepărtați capacul recipientului cu tampon de extracție, adăugați întregul tampon de extracție în tubul de extracție.
4. Puneți probe de mucoasă sterilă în tamponul de extracție a probei. Rotiți tamponul timp de aproximativ 10 secunde, în timp ce apăsați capul pe partea interioară a tubului pentru a elibera antigen în tampon.
5. Îndepărtați tamponul steni în timp ce stoarceți capul tamponului steril, apăsându-l de interiorul tamponului în timp ce îl îndepărtați, pentru a scoate cât mai mult lichid posibil din tampon. Eliminați tamponul steni în conformitate cu protocolul de eliminare a deșeurilor biologice.
6. Însurubați la loc și strângeți capacul pe tubul de colectare a probei, apoi agitați viguros tubul de colectare a probei pentru a amesteca proba și tamponul de extracție a probei. A se vedea ilustrația 4.
7. Adăugați 3 picături de soluție (aprox. 80 μ l) în recipientul cu proba, iar apoi porniți cronometrul. Citiți rezultatul după 10-20 minute. Nu interpretați rezultatul după 20 minute.



INTERPRETAREA REZULTATELOR

(Faceți referință la ilustrația de mai sus)

POZITIV: Apar două linii roșii. O linie roșie apare în regiunea de control (C) și o linie roșie apare în regiunea de testare (T). Nuanța culorii poate varia, dar trebuie considerat pozitiv chiar și atunci când apare o linie slab colorată.

NEGATIV: O singură linie roșie apare în regiunea de control (C) și nicio linie nu apare în regiunea de testare (T). Rezultatul negativ indică faptul că nu există particule de noul

coronavirus în probă sau numărul particulelor virale este sub limita detectabilă.

INVALID: Nicio linie roșie nu apare în regiunea de control (C). Testul este invalid chiar dacă este o linie în regiunea de testare (T). Un volum insuficient al probei sau tehnici procedurale incorecte sunt motivele cele mai probabile pentru lipsa pozitivității liniei de control. Revizuiți procedura de testare și repetați testul, utilizând un nou dispozitiv de testare. În cazul în care problema persistă, întrerupeți imediat utilizarea kitului de testare și contactați distribuitorul local.

LIMITARI

- Caseta de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă) este un test de screening în fața cută pentru detectarea calitativă. Proba colectată poate conține o concentrație de antigen sub pragul de sensibilitate al reactivului, astfel că un rezultat negativ al testului nu exclude infecția cu noul coronavirus.
- Caseta de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă) detectează antigenul viabil și neviabil al noului coronavirus. Performanța testului depinde de încălcarea cu antigen a probei și nu poate fi corelată cu cultura celulară efectuată pe aceeași probă. Un test pozitiv nu exclude posibilitatea ca alți patogeni să fie prezenți. Astfel că rezultatele trebuie comparate cu toate celelalte informații clinice și de laborator disponibile pentru a obține un diagnostic corect.
- Un rezultat negativ al testului poate fi obținut, dacă nivelul de antigen extras dintr-o probă este sub nivelul de sensibilitate al testului sau dacă proba este de calitate precară.
- Efectuarea testului nu a fost stabilită pentru monitorizarea tratamentului antiviral al noului coronavirus.
- Rezultatele pozitive ale testului nu exclud infecții concomitente cu alți patogeni.
- Rezultatele negative ale testului nu sunt menite să includă o infecție cu alt timp de coronavirus, exceptând infecția cu SARS-Cov-2.
- Copiii tind să fie purtători ai virusului pentru o perioadă mai lungă de timp comparativ cu adulții, fapt ce poate rezulta în diferențe de sensibilitate între adulți și copii.
- Un rezultat negativ al testului poate fi obținut, dacă concentrația de antigen dintr-o probă este sub limita de detectare a testului sau dacă proba a fost colectată sau transportată necorespunzător, astfel, un rezultat negativ al testului nu elimină posibilitatea infecției cu SARS-Cov-2, fiind necesară confirmarea prin cultură virală sau PCR.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Evaluarea clinică

Evaluarea clinică s-a realizat pentru a compara rezultatele obținute cu dispozitivul de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă) și rezultatul testului PCR. Rezultatele sunt rezumate mai jos:

Tabel: Caseta de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă)

Metodă	Kit de testare cu acid nucleic nCoV 2019 (RT-PCR)		Total rezultate
	Rezultate Pozitiv	Negativ	
Caseta de testare rapidă a antigenului noului coronavirus (SARS-Cov-2) (mucoasă)	201	0	201
	Negativ	8	450
		200	450
		200	659

Sensibilitate clinică = 201/209=96,17 % (95% CI* 92,51% până la 98,17%)
Specificitate clinică = 450/450=99,9% (95% CI* 98,96% până la 100%)
Acuratețe: (201+450)/(201+0+8+450) *100%=98,79% (95% CI* 97,58% până la 99,43%)
*Interval de încredere

Limită de detectare (LOD)

Tulpină nCoV 2019 testată	Produce Ready Test
Concentrație slabă nCoV 2019	1 X 10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
Diluție	1/100 1/200 1/400 1/800 1/1600
Concentrație în diluție testată (TCID ₅₀ /mL)	1X10 ⁶ 5X10 ⁵ 2,5X10 ⁵ 1,25X10 ⁵ 6,25X10 ⁴
Interval de retragere a 20 dubluri aproape de valoarea critică	100(20/20) 100(20/20) 100(20/20) 95(19/20) 10(2/20)
Limită de detectare (LOD) per tulpină a virusului	1,25 X 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL

Reacție încrucișată

Rezultatele testului sunt sub valoarea concentrației corespunzătoare a substanțelor din tabelul de mai jos, fapt ce nu are niciun efect asupra rezultatelor negativ și pozitiv al testului și nu există nicio reacție încrucișată.

Virus/Bacterie/Parazit	Tulpină	Concentrație
Coronavirus-MERS	N/A	72 μ g/mL
	Tip 1	1,5 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
	Tip 3	7,5 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
	Tip 5	4,5 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
	Tip 7	1 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
Adenovirus	Tip 8	1 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
	Tip 11	2,5 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
	Tip 18	2,5 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
	Tip 23	6 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
	Tip 55	1,5 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
Influenza A	H1N1 Denver	3 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
	H1N1 WSN33	2 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
	H1N1 A/Mat/302/54	1,5 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
	H1N1 Noua Caledonie	7,6 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL
	H3N2 A/Hong Kong/B/68	4,6 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /mL