

# ANTÍGENO SARS-CoV-2

## MÉTODO

Imunocromatografia (Ouro coloidal)

## FINALIDADE

Teste imunocromatográfico rápido para determinação qualitativa de antígeno SARS-CoV-2 em amostras humanas de swab de nasofaringe, swab de nasal anterior ou swab de orofaringe. Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

## SIGNIFICADO CLÍNICO

O coronavírus é um vírus de RNA envelopado que é amplamente distribuído em humanos, outros mamíferos, e pássaros. Os vírus receberam esse nome pela aparência sob um microscópio. Eles são esféricos e sua superfície é coberta com espículas em forma de "coroa". Existem sete tipos de família de vírus coronavírus, incluindo 229E (alfa coronavírus), NL63 (alfa coronavírus), OC43 (Beta coronavírus), HKU1 (Beta coronavírus), MERS CoV (Beta coronavírus que causa a Síndrome Respiratória do Oriente Médio ou MERS), SARS CoV (Beta coronavírus que causa síndrome respiratória aguda grave ou SARS) e SARS CoV 2. 229E, NL63, OC43 e coronavírus HKU1 são comuns em todo o mundo e as pessoas são infectadas com eles o tempo todo, mas os outros três são mais recentes e raros. A Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus (SARS CoV) e Síndrome Respiratória no Oriente Médio (MERS CoV) tem origem em doenças zoonóticas e às vezes causam doenças fatais. SARS CoV é o patógeno que causou surtos graves de síndrome respiratória aguda em Guangdong, China, em 2002 e 2003. MERS CoV é o patógeno que causou o surto da síndrome respiratória no Oriente Médio em 2012. SARS CoV 2 isolado do trato respiratório inferior de pacientes com pneumonia inexplicável em Wuhan é um novo tipo de coronavírus pertencente ao gênero  $\beta$ . Tem um envelope, as partículas são redondas ou ovais e o diâmetro é de 60 ~ 140 nm. Suas características genéticas são significativamente diferentes da SARS CoV e MERS CoV. Atualmente, demonstrou-se ter uma homologia de mais de 85% com coronavírus SARS de morcego (Bat-SL-CoVZC45). Quando isolados e cultivados *in vitro*, o SARS CoV 2 pode ser encontrado nas células epiteliais respiratórias humanas em cerca de 96 horas. Sintomas comuns incluem tosse severa, febre e dificuldades respiratórias. Em casos extremos, os pacientes exibem pneumonia, síndrome respiratória aguda grave, falência de órgãos e morte.

## FUNDAMENTO

O kit Antígeno SARS-CoV-2 é um ensaio imunocromatográfico (teste rápido) para a detecção qualitativa do antígeno SARS-CoV-2. Este kit, adota o princípio do método sanduíche de imunocromatografia de ouro coloidal e usa ouro coloidal como marcador para detectar qualitativamente os antígenos específicos de SARS-CoV-2 presentes em swab de orofaringe, swab da nasofaringe e swab nasal anterior. Quando a concentração do analito correspondente na amostra não for inferior ao limite de detecção, ele se combinará com o anticorpo marcado com ouro coloidal para formar um complexo. Sob o princípio da cromatografia, o complexo da reação avança ao longo da membrana de nitrocelulose para a área de teste (T), reagindo com o anticorpo pré-revestido na membrana de nitrocelulose para formar o complexo anticorpo-antígeno-anticorpo e uma linha de reação vermelha pode ser vista na área de teste. Isso significa que o resultado é positivo. Quando a amostra não contém o analito correspondente ou a concentração do analito é inferior ao limite de detecção, não há linha vermelha de reação na área de teste. Isso significa que o resultado é negativo. Uma linha de reação vermelha ficará visível na área de controle (C), independentemente de a amostra conter o analito correspondente, e a linha C também pode ser usada como padrão de controle interno.

## REAGENTES E MATERIAIS

**TEST- Cassete** – Conservar entre 2 e 30°C. Não congelar. Cada sachê contém:

A) 01 dispositivo plástico com 01 tira teste contendo: tira de teste consiste em membrana de nitrocelulose, almofada de amostra, almofada de colagem, papel absorvente.

- Membrana de nitrocelulose NC: Anticorpo anti-SARS-CoV-2 (1,0 mg/mL); Anticorpo IgY anti-frango de cabra (1,0 mg/mL).

- Almofada de colagem: Anticorpo anti-SARS-CoV-2 (20  $\mu$ g/mL); Anticorpo IgY anti-frango e Ouro coloidal (20  $\mu$ g/mL).

B) 01 sachê de sílica

**DIL- Diluente** – Conservar entre 2 e 30°C. Não congelar. Contém: Tampão Fosfato (10mM pH 7,4); TritonX-100 0,5% (v/v).

## Acessórios:

**TUBE** – Tubo de Extração

**SIF** – Sifão conta-gotas

**SWAB** – Swab (Estérel)

**Obs.:** Os acessórios são fornecidos conforme apresentação comercial do kit. Os acessórios de coleta que não estiverem presentes no kit devido à apresentação comercial comprada, podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

## Materiais necessários não fornecidos no kit:

Relógio, temporizador ou cronômetro, e lixo para descarte. Esses materiais podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

## PRECAUÇÕES

1. Somente para uso de diagnóstico *in vitro* profissional.

2. Leia atentamente as instruções de uso antes de utilizar o kit.

3. Não use kits ou componentes após sua data de validade ou com embalagens danificadas.

4. O armazenamento deve ser entre 2 e 30°C, conforme indicado no rótulo do produto. O kit não pode ser congelado, exposto ao sol ou a altas temperaturas. O kit deve ser protegido da umidade.

5. Reagentes de kits com números de lotes diferentes não devem ser misturados.

6. O Dispositivo de Teste deve ser mantido dentro da embalagem de alumínio até a utilização do teste.

7. Evite o fluxo de ar vertical durante a realização do teste. Isso pode afetar o resultado.

8. Os cassetes são descartáveis e devem ser tratados como resíduo de risco biológico após o uso. Não podem ser reutilizados.

9. Os cassetes não contêm substâncias contaminantes, mas por segurança devem ser tratados como amostras biológicas. Portanto, ao manuseá-los, as normas de biossegurança devem ser respeitadas.

10. O descarte dos reagentes e do material biológico deve ser realizado de acordo com as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental.

11. Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

O kit deve ser armazenado entre 2 e 30°C, protegido da luz solar e da umidade. Não pode ser congelado. A estabilidade (validade) está descrita no rótulo do produto.

## ESTABILIDADE DE TRANSPORTE

O transporte deve ser realizado em temperaturas entre 2 e 30°C, conforme condições de conservação do produto. Evitar umidade. Não congelar.

## TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

## AMOSTRA

**Tipo de Amostra:** swab de nasofaringe, swab de orofaringe ou swab nasal anterior.

Após a coleta da amostra, a solução de extração fornecida no kit deve ser usada para o processamento da amostra o mais rápido possível. Se a amostra não puder ser tratada imediatamente, a amostra deve ser armazenada em local seco, esterilizado e em tubo de plástico estritamente selado, que pode ser armazenado por 48 horas a 2 - 8°C ou a < -17°C por não mais de 6 meses. Não congele e descongele a amostra por mais de 5 vezes.

## Coleta de amostra:

**a. Swab de orofaringe:** Incline levemente a cabeça do paciente e solicite que ele abra a boca para expor as tonsilas palatinas. Friccione o swab na parede posterior da faringe e nas tonsilas palatinas em ambos os lados, com força moderada para frente e para trás, por pelo menos 3 - 5 vezes. Evite tocar o swab na língua, dentes ou gengiva.

**b. Swab de nasofaringe:** Limpe a cavidade nasal com antecedência, após o swab nasal passar pela narina, da passagem nasal inferior até a parede posterior da nasofaringe, role o swab na mucosa nasofaríngea e mantenha-o por 10 a 15 segundos antes de retirá-lo;

**c. Swab nasal anterior:** Incline levemente a cabeça do paciente e insira o swab em uma das narinas. A ponta do swab deve ser inserida até 2,5 a 4 cm da borda da narina até que uma resistência seja encontrada. Role o swab 5 vezes ao longo da mucosa dentro da narina para garantir que tanto o muco quanto as células sejam coletadas. Usando o mesmo swab, repita esse processo na outra narina para garantir que uma quantidade de amostra adequada seja coletada de ambas as cavidades nasais.

## PROCEDIMENTO DO TESTE

Antes de iniciar o teste, a amostra e os reagentes do kit devem estar em temperatura ambiente (15 - 30°C).

### Método 1



1. Retire o cassete (TEST) da embalagem de alumínio, coloque sobre uma superfície limpa e nivelada, e identifique.

2. Adicione 400  $\mu$ L do Diluente (DIL) verticalmente no Tubo de Extração (TUBE).

3. Coloque o Swab (SWAB), utilizado previamente para a coleta de amostra, dentro do Tubo de Extração. Segure firmemente o Tubo de Extração e pressione a cabeça do Swab contra a parede do tubo, enquanto gira o Swab por cerca de 10 vezes para liberar o antígeno na solução de diluente presente no Tubo de Extração.

4. Remova o Swab, apertando o Tubo de Extração contra a cabeça do Swab para remover o máximo de líquido possível do Swab. Descarte o Swab de acordo com os regulamentos de descarte de resíduos de risco biológico.

5. Coloque a tampa de bico no Tubo de Extração e dispense 2 gotas (cerca de 70  $\mu$ L) da solução no poço de amostra do Cassete (TEST).

6. Aguarde 15-20 minutos para interpretação dos resultados. Não interpretar o resultado após 20 minutos.

### Método 2



1. Perfure a tampa do tubo do DIL (solução de extração) com o lado perfurante do conta-gotas.

2. Insira o Swab com a amostra no tubo de solução de extração (DIL). Gire o Swab de 3 a 5 vezes. Certifique-se de que o tubo esteja em pé e que o Swab atinja o fundo do tubo de extração.

4. Deixe o Swab na solução de extração durante 1 minuto e em seguida, retire o Swab e descarte.

5. Remova o plástico inferior do sifão conta-gotas (SIF), insira o lado capilar no tubo de solução de extração (DIL).

6. Retire o cassete de teste da embalagem de alumínio, coloque-o na horizontal e coloque as informações da amostra.

7. Coloque 2 gotas (cerca de 70  $\mu$ L) da solução de extração tratada (DIL) no poço de amostra do cassete de teste (TEST).

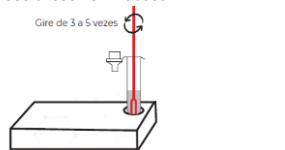
8. Aguardar 15-20 minutos para interpretação dos resultados. Não interpretar o resultado após 20 minutos.

### Método 3:

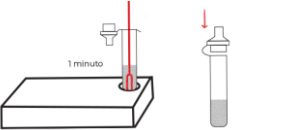
1. Retire o lacre da tampa do tubo com diluente. Após aberto, coloque o tubo com diluente no suporte da caixa com cuidado para não derramar o líquido.



2. Faça a coleta da amostra utilizando o swab conforme indicado no item Amostra.
3. Insira o Swab (ponta do cotonete) com a amostra no tubo com diluente -. Gire o Swab de 3 a 5 vezes para diluir bem a amostra. Certifique-se de que o tubo esteja em pé e que o Swab atinja o fundo do tubo com diluente. Obs.: Gire mais vezes se a amostra estiver viscosa.

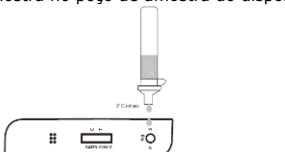


4. Deixe o Swab dentro do tubo com diluente durante 1 minuto e, em seguida, retire o Swab e o descarte. Feche o tubo com a tampa conta-gotas.



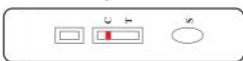
5. Abra a embalagem de alumínio, retire o dispositivo de teste e coloque-o na horizontal sobre uma superfície lisa.

6. Segure o frasco com o diluente verticalmente. Pingue 2 gotas do diluente com a amostra no poço de amostra do dispositivo de teste, indicado com a letra S.

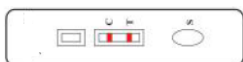


7. Aguarde 15-20 minutos para interpretação dos resultados. Não interpretar o resultado após 20 minutos.

#### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



**Negativo / Não Reagente**  
Aparece somente a linha Controle (C).



**Positivo / Reagente**  
Aparece a linha Controle (C) e a linha Teste (T). A intensidade da linha de teste pode ser menor que a da linha de controle, o que ainda significa resultado positivo.



**Inálido**  
Caso a linha de controle (C) não esteja visível, pode ter ocorrido falha no teste, volume de amostra insuficiente ou o procedimento não foi seguido corretamente. É necessário que o teste seja feito novamente em um novo dispositivo.



#### Observações:

1. A intensidade da cor vermelha na região da linha de teste (T) poderá variar dependendo da carga viral presente na amostra. Portanto, qualquer tom de vermelho na região de teste (T) deve ser considerado positivo.
2. A linha na região controle pode aparecer antes dos 15 minutos de incubação do teste, mas isso não significa que resultados não reagentes podem ser interpretados antes do tempo.

#### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. O kit Antígeno SARS-CoV-2 é um teste qualitativo e deve ser usado somente para uso diagnóstico in vitro.
2. Este kit é apenas para teste de amostras coletadas com swab de orofaringe, swab de nasofaringe ou swab nasal anterior.
3. A precisão do teste depende do processo de coleta da amostra. Coleta de amostra inadequada, armazenamento inadequado de amostra ou tempos de congelamento e descongelamento repetidos em demasia afetarão os resultados do teste.
4. Os resultados do teste deste kit são apenas para referência clínica e não devem ser usados como a única base para diagnóstico clínico e tratamento. O manejo clínico dos pacientes deve ser considerado de forma abrangente em conjunto com seus sintomas / sinais, histórico médico, outros testes laboratoriais e respostas ao tratamento.
5. Devido às limitações metodológicas dos reagentes de detecção de antígeno, sua sensibilidade analítica é geralmente menor do que a dos kits de ácido nucléico. Portanto, os pesquisadores devem prestar mais atenção aos resultados negativos e precisam combinar outros resultados de teste para fazer um julgamento abrangente. Recomenda-se o uso de detecção de ácido nucléico ou método de identificação de cultura de vírus para revisar resultados negativos duvidosos.
6. Análise da possibilidade de resultados falsos negativos:
  - a. Coleta, transporte e processamento de amostras não razoáveis e baixos títulos de vírus na amostra podem levar a resultados falsos negativos.
  - b. As mutações de genes virais podem levar a alterações nos determinantes antigênicos, resultando em resultados falsos negativos, que são mais prováveis de ocorrer quando são usados reagentes de anticorpos monoclonais.
  - c. O tipo de amostra ideal e o tempo de amostragem ideal (título de pico do vírus) após a infecção não foram totalmente verificados. Portanto, coletar amostras de vários locais no mesmo paciente pode evitar falsos negativos.

#### CONTROLE DE QUALIDADE

Um controle de procedimento está incluído no teste. Uma linha vermelha que aparece na região de controle é considerada como um controle interno de procedimento. Confirma o volume suficiente da amostra e a execução correta do teste. Outros tipos de controles não são fornecidos com este kit. No entanto, recomenda-se que controles positivos e negativos sejam testados como uma boa prática de laboratório para confirmar o procedimento de teste e verificar o desempenho adequado do teste. Cada Laboratório Clínico deve estabelecer e possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam seguidos.

#### CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

##### Limite de detecção

O limite de detecção do Antígeno SARS-CoV-2 foi determinado como 70 TCID<sub>50</sub>/mL.

##### Efeito prozona

Este reagente não tem efeito prozona em alta concentração de antígenos.

##### Interferências

As seguintes substâncias, naturalmente presentes em amostras respiratórias ou que podem ser introduzidas artificialmente na cavidade nasal ou nasofaringe, foram avaliadas com as concentrações listadas abaixo e não afetaram o desempenho do teste.

Substância/Classificação	Descrição/Ingrediente ativo	Concentração teste
Mucina	Mucina purificada	2,5% (w/v)
Sangue	Sangue (humano)	2% (v/v)
Spray nasal	Oximetazolina	15% (v/v)
	Fenilefrina	0,5 mg/mL
	Cloreto de sódio (conservantes)	0,9% (w/v)
Corticosteróides nasais	Dexametasona	10 µg/mL
	Mimastu de Cloro	100 µg/mL
	Flunisolida	1 mg/mL
	Acetonido de triancinolona	100 µg/mL
	Budesonida	200 µg/mL
	Mometasona	500 µg/mL
Medicamento antialérgicos	Fluticasona	500 µg/mL
	Cloridrato de histamina	15% (v/v)
Droga antiviral	α-Interferon	400 IU/mL
	Ostamivir	52,7 µg/mL
	Zanamivir	600 ng/mL
	Ribavirin	1 mg/mL
	Peramivir	100 µg/mL
	Lopinavir	100 µg/mL
	Ritonavir	100 µg/mL
	Abidor	100 µg/mL
	Antibióticos	Levofloxacino
Ceftriaxona		100 µg/mL
Azitromicina		10 mg/mL
Meropenem		112 µg/mL
Drogas antibacterianas sistêmicas	Tobramicina	4 µg/mL

##### Reação cruzada

A reatividade cruzada e a potencial interferência no kit Antígeno SARS-CoV-2 foram avaliadas testando 24 microrganismos comensais e patogênicos que podem estar presentes na cavidade nasal. Cada um dos agentes causais foi testado em triplicata na ausência ou presença de SARSCoV-2s inativados por calor. Nenhuma reatividade cruzada ou interferência foi observada com os seguintes patógenos quando testados na concentração apresentada na tabela abaixo:

Patógeno	Concentração teste	Patógeno	Concentração teste
Vírus do sarampo	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	Vírus Influenza A H1N1	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Vírus da caxumba	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	Vírus Influenza A H3N2	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Adenovírus	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	Vírus gripe aviária H7N9	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0 x 10 <sup>5</sup> U/mL	Vírus gripe aviária H5N1	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Parainfluenza 2	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	Vírus Epstein Barr	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Metapneumovírus	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	Enterovírus CA16	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Coronavírus H. OC43	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	Rinovírus	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Coronavírus H. NL63	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,0 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL
Coronavírus H. 229E	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Strept. pneumoniae</i>	1,0 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL
Influenza B Yamagata	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Bacillus pertussis</i>	1,0 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL
Influenza B Victoria	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	MERS-CoV	1,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Vírus sincicial respiratório tipo A	1,0 x 10 <sup>5</sup> CFU/mL	Vírus sincicial respiratório tipo B	1,0 x 10 <sup>5</sup> CFU/mL

##### Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit de detecção de ácido nucléico SARS-CoV-2 (método de PCR por fluorescência) foi usado como o ensaio de RT-PCR de referência. Um total de 908 amostras foram incluídas neste estudo. Os seguintes resultados foram obtidos:

Antígeno SARS-CoV-2	Kit de detecção de ácido nucléico SARS-CoV-2 (método de PCR por fluorescência)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	368	2	370
Negativo	8	530	538
Total	376	532	908

**Sensibilidade:** 97,87%, IC 95%: (95,85% - 99,08%)

**Especificidade:** 99,62%, IC 95%: (98,65% - 99,95%)

**Exatidão:** 98,90%, IC 95%: (97,98% - 99,47%)

##### Precisão

. CV de Precisão intra-ensaio (Repetibilidade): Calculados os resultados a partir das tabelas acima, CV de repetibilidade em 20 dias: taxa de detecção positiva = 100%, taxa de detecção negativa = 100%;

. CV de Precisão inter-ensaio (Reprodutibilidade): Calculados os resultados a partir das tabelas acima, CV de reprodutibilidade entre 3 lotes: taxa de detecção positiva = 100%, taxa de detecção negativa = 100%;

##### APRESENTAÇÃO DO KIT

Reagente	Volume/Quantidade	Nº de Testes
TEST	20 x 1 unid	20
DIL	2 x 7 mL	
TUBE	20 x 1 unid	
TEST	20 x 1 unid	20
DIL	2 x 7 mL	
TUBE	20 x 1 unid	
SWAB	20 x 1 unid	
TEST	20 x 1 unid	20
DIL	20 x 0,4 mL	
SIF	20 x 1 unid	
TEST	20 x 1 unid	20
DIL	20 x 0,4 mL	
SIF	20 x 1 unid	

SWAB	20 x 1 unid	
TEST	20 x 1 unid	
DIL	20 x 0,4 mL	20
SWAB	20 x 1 unid	

#### REFERÊNCIAS

- 1- Notice of the General Office of the National Health Commission on Printing and Distributing the Pneumonia Diagnosis and Treatment Plan for Novel Coronavirus Infection (Trial Version 7).
- 2- General Office of the National Health Commission.
- 3- Office of the State Administration of Traditional Chinese Medicine.
- 4- Medical Letter from the National Health Office [2020] No. 66.
- 5- In Vitro Diagnóstica - Dados de arquivos.

#### DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS












Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.  
 Telefone: (31) 3067-6400 E-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

**Fabricante:** In Vitro Diagnóstica Ltda, Rua Cromita 278, Distrito Industrial, Itabira/MG.  
 CEP: 35903-053.

**Regularizado por:** In Vitro Diagnóstica Ltda, Rua Cromita 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463  
 ANVISA: 10303460517 Classe de risco: III

#### SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

	Atenção, ler a instrução de uso		Contém produto estéril
	Somente para diagnóstico de uso in vitro		Cuidado
	Armazenar entre 2-30°C		Não reutilizar
	Testes por kit		Catálogo
	Validade		Fabricante
	Número de lote		