

## COVID-19 IgG/IgM Brzi test

Za detekciju antitela na COVID-19 u uzorcima humanog seruma, plazme ili pune krvi

Pakovanje: 40 testova u kitu

Kataloški broj: UNCOV-40

### **NAMENA:**

COVID-19 IgG/IgM brzi test (puna krv/serum/plazma) je brzi imunohromatografski test za kvalitativnu detekciju IgG i IgM antitela na COVID-19 u humanim uzorcima pune krvi, seruma ili plazme, i služi kao (pomoćno) sredstvo za dijagnozu primarne odnosno sekundarne infekcije uzrokovane virusom COVID-19.

### **SAŽETAK:**

COVID-19 (Bolest izazvana koronavirusom) je zarazna bolest čiji je uzročnik nedavno otkriven koronavirus. Ovaj novi virus i bolest su bili nepoznati sve do izbijanja zaraze u Vuhanu, Kina, decembra 2019.

Najčešći simptomi COVID-19 su temperatura, umor i suvi kašalj. Neki pacijenti mogu imati malaksalost i bolove, zapušen nos, curenje iz nosa, bol u grlu ili proliv. Ovi simptomi su obično blagi i počinju postepeno. Neki ljudi se zaraze ali ne razvijaju simptome i ne osećaju se loše. Većina ljudi (oko 80%) se oporavi bez potrebe za posebnim medicinskim tretmanom.

Otprilike jedna od šest osoba postaje ozbiljno bolesna i razvije probleme sa disanjem. Stariji ljudi i oni sa zdravstvenim problemima kao što su visok krvni pritisak, srčane bolesti i dijabetes su pod većim rizikom da razviju ozbiljne simptome. Stopa smrtnosti je oko 2%. Ljudi koji imaju temperaturu, kašalj i probleme sa disanjem treba da potraže stručnu medicinsku pomoć.

Čovek može da oboli od COVID-19 ukoliko je u kontaktu sa osobom koja je nosilac virusa. Bolest se može širiti od osobe do osobe preko malih kapljica iz nosa i usta kada osoba zaražena sa COVID-19 kašlje ili izdiše. Te kapljice dospevaju na predmete i površine oko zaraženih osoba, kao što su sapuni i peškiri koje koriste. Drugi ljudi se onda mogu zaraziti dodirivanjem tih površina ili predmeta i potonjim dodirivanjem svojih očiju, nosa ili usta. Ljudi se mogu zaraziti i ako ne dodiruju mesta ulaska virusa (oči, usta, nos), direktnim udisanjem kapljica koje je zaražena osoba iskašljala ili izdahnula. Period inkubacije za COVID-19 uglavnom traje od 1-14 dana.

COVID-19 IgG/IgM Brzi test (puna krv/serum/plazma) je brzi test koji koristi kombinaciju obojenih čestica obloženih COVID-19 antigenom za detekciju IgM i IgG antitela na COVID-19 u humanoj punoj krvi, serumu ili plazmi.

### **PRINCIP DETEKCIJE:**

Brzi test COVID-19 IgG/IgM (puna krv/serum/plazma) je kvalitativni imunološki test koji se zasniva na detekciji COVID-19 antitela (iz pune krvi, seruma ili plazme) na membrane testa. Ovaj test se sastoji od dve test linije, IgG linije i IgM linije. U liniji IgG, anti-humanim IgG antitelima je obložen testni region IgG linije.

Tokom testiranja, uzorak reaguje sa česticama obeleženim antigenom COVID-19 u kaseti za testiranje. Smeša zatim migrira na gore kroz membranu kapilarnim delovanjem i reaguje sa anti-humanim IgG antitelima u testnom regionu IgG linije. Ukoliko uzorak sadrži IgG antitela specifična za COVID-19, pojaviće se obojena linija u testnom regionu IgG linije. U liniji IgM, anti-humanim IgM antitelima je obložen testni region IgM linije. Tokom testiranja, uzorak reaguje sa anti-humanim IgM antitelima. Ukoliko su IgM antitela specifična za COVID-19 prisutna u uzorku ona reaguju sa anti-humanim IgM antitelima i česticama prekrivenim antigenom COVID-19 u testnoj kaseti. Ovaj kompleks vezuju anti-humana IgM antitela, formirajući obojenu liniju u testnom regionu IgM linije.

Prema tome, ukoliko uzorak sadrži IgG antitela specifična za COVID-19 pojaviće se obojena linija u testnom regionu IgG linije. Ukoliko uzorak sadrži IgM antitela specifična za COVID-19 obojena linija će se pojaviti u testnom regionu IgM linije.

Ukoliko uzorak ne sadrži antitela specifična za COVID-19 obojene linije se neće pojaviti ni u jednoj od test regija što ukazuje na negativan rezultat.

U svrhu interne kontrole procedure, obojena linija treba uvek da se pojavi u regionu kontrolne linije ("C") kako bi ukazivala da je dodata odgovarajuća zapremina uzorka i da su membrane ovlažene.

### **REAGENSI**

Testne kasete sadrže partikule koloidnog zlata obložene antigenima i membrane obložene anti-humanim IgG i anti-humanim IgM antitelima.

### **MERE PREDOSTROŽNOSTI**

1. Upotrebljivo samo za profesionalnu in vitro dijagnostiku. Ne koristiti nakon isteka roka trajanja.
2. Ne jesti, ne piti i ne pušiti u prostoru gde se manipuliše sa uzorcima i testovima.
3. Pažljivo postupajte sa svim uzorcima kao da sadrže infektivne agense. Pridržavajte se utvrđenih mera predostrožnosti protiv mikrobiološke opasnosti tokom čitavog postupka i sledite standardne postupke za odlaganje uzoraka.
4. Tokom rada sa uzorcima nosite zaštitnu odeću – laboratorijski mantil, zaštitnu masku, rukavice za jednokratnu upotrebu i zaštitu za oči.
5. Iskorišćene kao i potencijalno kontaminirane testove i uzorke bi trebalo odlagati u skladu sa lokalnim propisima.
6. Vlažnost i temperatura mogu negativno uticati na rezultate.

### **SKLADIŠTENJE I STABILNOST**

Test se može čuvati na sobnoj temperaturi ili u frižideru (2-30 °C). Testne kasete su stabilne do dana isteka roka trajanja koji je utisnut na zapečaćenoj kesici. Testna kasete mora ostati u zapečaćenoj kesici sve do trenutka upotrebe. NE ZAMRZAVATI. Ne koristiti nakon isteka roka upotrebe.

### **UZIMANJE I PRIPREMA UZORAKA**

- COVID-19 IgG/IgM Brzi test (puna krv/serum/plazma) može se izvesti korišćenjem pune krvi, seruma ili plazme.

### UZORKOVANJE PUNE KRVI IZ PRSTA

- Operite ruku pacijenta sapunom i toplom vodom ili prebrišite tupferom natopljenim alkoholom. Potom sačekati da se osuši.
- Masirati ruku ne dodirujući mesto uboda, trljajući je odozgo prema vrhu prsta, srednjeg ili domalog. Ubosti prst sterilnom lancetom. Obrisati prvu kap krvi.
- Lagano protrljati ruku od zgloba preko dlana do prsta da bi se formirala zaobljena kap krvi na mestu uboda.
- Dodati uzorak pune krvi u kasetu za testiranje koristeći mikropipetu od 50µl. Kapaljka dobijena u testu ispusti oko 30µl u jednoj kapi.

### UZORKOVANJE SERUMA ILI PLAZME

- Izdvojiti serum ili plazmu iz krvi što je pre moguće kako bi se izbegla hemoliza. Koristiti samo čiste, prozirne uzorke koji nisu hemolizirani.
- Testiranje treba obaviti odmah po uzimanju uzorka. Ne ostavljati uzorke na sobnoj temperaturi duže vreme.

### ČUVANJE, TRANSPORT I PRIPREMA UZORAKA

- Uzorci seruma i plazme mogu se čuvati na temperaturi od 2-8°C do 3 dana. Za dugoročno skladištenje uzorke treba držati na temperaturi nižoj od -20°C. Punu krv dobijenu venepunkcijom treba čuvati na temperaturi od 2-8°C ako se testiranje vrši dva dana od uzimanja. Ne zamrzavati uzorke pune krvi. Puna krv uzeta sa vrha prsta treba se odmah testirati i ne može se čuvati.
- Izneti uzorke na sobnu temperaturu pre testiranja. Zamrznuti uzorci moraju se potpuno odmrznuti i dobro promućkati pre testiranja. Uzorci se ne smeju zamrzavati i odmrzavati više puta.
- Ako je potrebno da se uzorci šalju, oni bi trebalo da se pakuju u skladu sa državnim propisima za transport infektivnih agenasa.

## SADRŽAJ

### Sadržaj pakovanja

- Kasete za testiranje
- Uputstvo za upotrebu
- Bočica sa puferom

### Potrebna materijal koji nije obezbeđen

- Posude za prikupljanje uzoraka
- Centrifuga (samo ako se planira rad sa uzorcima plazme)
- Mikropipete
- Tajmer
- Lancete (za punu krv iz prsta)

## POSTUPAK ISPITIVANJA

\* Kasete za testiranje, uzorak, pufer i/ili kontrole moraju biti na sobnoj temperaturi (15-30 °C) pre testiranja

\* Pre otvaranja, izvadite kesicu i ostavite je na sobnoj temperaturi. Izvadite kasetu za testiranje iz zapečaćene kesice i iskoristite je u roku od jednog sata.

\* Postavite kasetu za testiranje na čistu i ravnu površinu.

### ZA UZORKE SERUMA ILI PLAZME:

\* Ako se koristi kapaljka: držite kapaljku vertikalno, uvucite uzorak i prebacite ga u otvor za uzorak na kaseti za testiranje (jedna kap/približno 20 µL), zatim dodajte 1 kap pufera (približno 50 µL) i pokrenite tajmer. Pazite da u uzorku ne ostanu mehurići vazduha.

\* Ako se koristi mikropipeta: pipetirajte 20 µL uzorka i prebacite ga u otvor za uzorak na kaseti za testiranje, zatim dodajte 1 kap pufera (otprilike 50 µL) i pokrenite tajmer.

### ZA UZORKE PUNE KRVI:

\* Ako se koristi kapaljka: držite kapaljku vertikalno, uvucite uzorak i prebacite ga u otvor za uzorak na kaseti za testiranje (dve kapi/približno 40 µL), zatim dodajte 1 kap pufera (približno 50 µL) i pokrenite tajmer. Pazite da u uzorku ne ostanu mehurići vazduha.

\* Ako se koristi mikropipeta: pipetirajte 40 µL uzorka i prebacite ga u otvor za uzorak na kaseti za testiranje, zatim dodajte 1 kap pufera (otprilike 50 µL) i pokrenite tajmer.

\* Sačekajte da se pojavi obojena linija ili linije. Rezultat testa treba očitati u roku od 10 minuta. Nemojte tumačiti rezultat ukoliko protekne više od 15 minuta.

## TUMAČENJE REZULTATA

### 1. POZITIVAN IgG i IgM: Pojavljuju se tri obojene linije

Jedna obojena linija treba da bude u području kontrolne linije (C), a dve obojene linije treba da se pojave u regionu IgG test linije i regionu IgM test linije. Intenzitet boja linija ne mora da bude isti. Rezultat je pozitivan na IgG i IgM antitela i ukazuje na sekundarnu infekciju virusom COVID-19.

### 2. POZITIVAN IgG: Pojavljuju se dve obojene linije

Jedna obojena linija treba da bude u regionu kontrolne linije (C), a druga obojena linija pojavljuje se u regionu IgG test linije. Rezultat je pozitivan na COVID-19 specifična IgG antitela i najverovatnije ukazuje na sekundarnu infekciju virusom COVID-19.

### 3. POZITIVAN IgM: Pojavljuju se dve obojene linije

Jedna obojena linija treba da bude u regionu kontrolne linije (C), a druga obojena linija pojavljuje se u regionu IgM test linije. Rezultat je pozitivan na COVID-19 specifična IgM antitela i indikativan je za primarnu COVID-19 infekciju.

NAPOMENA: Intenzitet boje u regionima IgG i/ili IgM varira u zavisnosti od koncentracije antitela virusa COVID-19 u uzorku. Zato se bilo koja nijansa boje u regionima IgG i/ili IgM test linije treba smatrati pozitivnim rezultatom.

**4. NEGATIVAN:** Jedna obojena linija treba da bude vidljiva u području kontrolne linije (C). Ne postoji obojena linija u regionima IgG i IgM test linija.

**5. NEVAŽEĆI REZULTAT:** Kontrolna linija se ne pojavljuje.

Nedovoljna količina pufera ili nepravilna proceduralna tehnika su najverovatniji razlozi za odsustvo obojenosti kontrolne linije. Prekontrolišite celu proceduru i ponovite test sa novom kasetom za testiranje. Ako se problem opet pojavi, odmah prekinite sa upotrebom test kita i obratite se lokalnom distributeru.

## PERFORMANSE

1. Pozitivna referenca stope usaglašenosti proizvoda: Pozitivna referenca stope usaglašenosti proizvoda treba da bude 5/5.
2. Negativna referenca stope usaglašenosti proizvoda: Negativna referenca stope usaglašenosti proizvoda treba da bude 10/10.
3. Minimalna granica detekcije: Minimalna granica detekcije referentnog proizvoda S1 treba da bude negativna, a S2 i S3 treba da bude pozitivna.
4. Ponovljivost (preciznost merenja pod skupom uslova ponovljivosti merenja): Dva referentna proizvoda su testirana na ponovljivost. Svaki test se ponavlja 10 puta i treba da bude pozitivan.
5. Analiza specifičnosti:
  - 5.1 Unakrsna reakcija:

Ovaj test ne pokazuje unakrsnu reaktivnost sa uzorcima koji su pozitivni na antitela virusa parainfluence, Influenza A virusa, Influenza B virusa, antitela na hlamidiju pneumonije, mikoplazmu pneumonije, adenovirusa, respiratornog sincicijalnog virusa (RSV), površinska antitela hepatitis B virusa, hepatitis C virusa, antitela na Treponemu pallidum, virus humane imunodeficijencije, Epstein Barr (EB) virusa, virusa morbila, citomegalovirusa, enterovirusa 71, Mumps virusa (zauške), varičela zoster virusa.
  - 5.2 Interferencija:

Koncentracija bilirubina  $\leq 250 \mu\text{mol/L}$ , nivo hemoglobina  $\leq 9 \text{ g/L}$ , nivo triglicerida  $\leq 15 \text{ mmol/L}$ , nivo reumatoidnog faktora  $\leq 80 \text{ IU/mL}$ , titar antinuklearnih antitela (ANA)  $\leq 1:240$ , nivo anti-mitohondrijalnih antitela (AMA)  $\leq 80 \text{ U/mL}$  i nivo mišjeg IgG  $\leq 1000 \mu\text{g/mL}$  nemaju uticaj na rezultate testa.

Histamin hidrohlorid, alfa-interferon, zanamivir, ribavirin, oseltamivir, peramivir, lopinavir, ritonavir, abidol, levofloksacin, azitromicin, Ceftriakson, meropenem i tobramicin nemaju uticaj na rezultate testa.
6. Efekat prozone (hook effect): U rasponu titra klinički pozitivnih uzoraka antitela na novi koronavirus rezultati testa ne pokazuju efekat prozone (lažno negativan rezultat).
7. Na rezultate ovog testa ne utiču oštećena IgM antitela specifična za ovaj koronavirus.
8. Proučavani su minimalni detekcioni limit i ponovljivost 12 uzoraka seruma klinički pozitivnih na 2019-nCoV (novi koronavirus) i rezultati su ispunili zahteve.
9. Klinički značaj: In vitro dijagnostički reagensi koji se koriste u testu poređeni su sa kliničkim dijagnostičkim kriterijumima za pneumoniju izazvanu novim koronavirusom kako bi se verifikovao značaj ovog testa u praksi. Pacijenti koji su učestvovali u ispitivanju su bili novootkriveni slučajevi suspekti na infekciju novim koronavirusom. Ukupno je bilo 615 slučajeva, uključujući 403 potvrđena i 212 isključena slučaja. Usporedna studija je izvršena poređenjem in vitro dijagnostičkih reagenasa i kliničkih dijagnostičkih kriterijuma za pneumoniju izazvanu novim koronavirusom. Rezultati ispitivanja pokazuju da test ima kliničku osetljivost od 98.511% (95% CI: 96.788%, 99.452%) i specifičnost od 88.208% (95% CI: 83.086%, 92.221%). Pored toga, kod 203 ispitanika je izvršeno usporedno testiranje homolognih uzoraka seruma/plazme i uzoraka pune krvi (od kojih je 125 bilo pozitivno, a 78 negativno). Rezultati pokazuju da je stopa konzistentnosti između rezultata testa na uzorcima seruma/plazme i pune

krvi 96,85% (95% CI: 95,87% do 97,60%). Nakon preliminarnе procene potvrđeno je da test može da zadovolji hitne potrebe u praksi u uslovima epidemije.

### **KONTROLA KVALITETA**

Interna kontrola procedure je uključena u test. Obojena linija koja se pojavljuje u području kontrolne linije (C) je validna interna kontrola procedure koja potvrđuje adekvatno vlaženje membrane. Uz ovaj kit se ne ispotučuju kontrolni standardi ali se preporučuje da se pozitivne i negativne kontrole testiraju shodno principima dobre laboratorijske prakse za potvrdu procedure ispitivanja i proveru pravilnog izvođenja testa.

### **OGRANIČENJA**

1. Brzi test COVID-19 (puna krv/serum/plazma) namenjen je samo in vitro dijagnostičkoj upotrebi. Test se koristi za otkrivanje antitela na virus COVID-19 samo u uzorcima seruma, plazme ili pune krvi. Kvantitativna vrednost kao i brzina porasta koncentracije antitela na COVID-19 ne mogu se odrediti ovim kvalitativnim testom.
2. Brzi test COVID-19 (puna krv/serum/plazma) samo ukazuje na prisustvo antitela na virus COVID-19 u uzorku i ne sme se koristiti kao jedini kriterijum za dijagnozu COVID-19.
3. Na samom početku pojave povišene telesne temperature koncentracije anti-COVID-19 IgM antitela mogu biti ispod minimalnog nivoa za detekciju.
4. Kontinuirano prisustvo ili odsustvo antitela ne može se koristiti za potvrdu uspeha ili neuspeha terapije.
5. Rezultate imunosuprimiranih pacijenata treba tumačiti sa oprezom.
6. Kao i kod drugih dijagnostičkih testova rezultati se moraju tumačiti u korelaciji sa ostalim kliničkim nalazima koji su dostupni nadležnom lekaru.
7. Ako je rezultat testa negativan a klinički simptomi perzistiraju, preporučuje se dodatno testiranje upotrebom drugih kliničkih metoda. Negativan rezultat ne isključuje mogućnost infekcije virusom COVID-19.

### **OČEKIVANE VREDNOSTI**

Primarnu infekciju virusom COVID-19 karakteriše prisustvo IgM antitela koja se mogu otkriti u roku od 3-7 dana nakon početka infekcije.

Sekundarnu infekciju virusom COVID-19 karakteriše povišenje IgG antitela specifičnih za ovaj koronavirus. U većini slučajeva to je praćeno povišenim nivoom IgM antitela.