

ENGLISH - ESPAÑOL

Ref: RTB25CoV2C
RTB25CoV2CN



biotical SARS CoV-2 Ag Card

Rapid Test to detect
SARS CoV-2 Ag in card
format

Prueba rápida para la
detección de
SARS CoV-2 Ag en
formato de tarjeta.

biotical health

ready to test



ISO 13485 CERTIFIED
MEDICAL DEVICE
QUALITY MANAGEMENT SYSTEM





biotical SARS CoV-2 Ag Card

ENGLISH

WHAT IS BIOTICAL SARS COV-2 AG CARD?

The biotical SARS-CoV-2 Ag Card is a rapid immunochromatography test for the qualitative detection of the structural nucleoprotein antigen (N protein) of the SARS-CoV-2 coronavirus, from nasopharyngeal swab samples and nasal swabs samples from patients with suspected infection. by COVID-19.

Thanks to its easy handling and high sensitivity, the health professional or the layman in the field will be able to make a presumptive diagnosis of infection caused by the SARS-CoV-2 coronavirus.

WHAT IS SARS COV-2?

El virus SARS-CoV-2 es un nuevo tipo de coronavirus responsable de la enfermedad COVID19, descubierta por primera vez en el sudeste asiático en noviembre de 2019.

Los virus que pertenecen a la familia Coronaviridae contienen, entre otras, glicoproteína de pico (S), la cual es uno de los objetivos de la respuesta de las células T en el sistema inmunológico. La proteína S también promueve la unión de la envoltura del virus al receptor ACE2 y la entrada del virus en la célula diana. Los receptores ACE2 están presentes en las células de las arterias, venas, músculos lisos, intestino delgado, alvéolos de los pulmones, folículos pilosos, miofibroblastos cardíacos, piel, cerebro y riñón, por lo que el SARS-CoV-2 podría potencialmente infectar estos tejidos.

SARS-CoV-2 cursa con un cuadro muy amplio de síntomas entre los que destacan fiebre, fatiga, dolor de garganta, dolor de cabeza, disnea, diarrea, pérdida de gusto y olfato además de complicaciones circulatorias y orgánicas de diversos tipos. SARS-CoV-2 se considera un virus respiratorio potencialmente causante de cuadros de neumonía.

El virus tiene su vía de entrada en la cavidad nasofaríngea donde accede a las células epiteliales y muestra su mayor carga viral en los primeros días. Se propaga por gotas de saliva al hablar, toser o estornudar en distancias cortas y en menor medida por aerosoles. Otras vías de transmisión como contaminación por heces son posibles.

El SARS-CoV-2 ha demostrado un nivel alto de transmisión entre humanos debido a su periodo de incubación prologado (de dos a doce días), la capacidad de cursar de forma asintomática en ciertos individuos y de permanecer activo en superficies.

Por todo esto, un diagnóstico rápido y preciso significa reducir el riesgo de transmisión y el brote y garantizar la prescripción temprana de medicación antiviral para pacientes de alto riesgo.

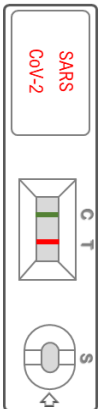
TABLE OF REFERENCES

In the following table will be able to find all the product references related to the acquired test.

REFERENCE	NAME	CONTENT
RTB25COV2C	biotical SARS CoV-2 Ag Card (+PC)	25 test with positive control, without negative control.
RTB25COV2CN	biotical SARS CoV-2 Ag Card (+PC +NC)	25 test with positive and negative control.

HOW DOES BIOTICAL SARS COV-2 Ag CARD WORK?

The card contains inside a test strip with a nitrocellulose membrane that has been previously pre-coated with:



- In **GREEN** line (C): with rabbit polyclonal antibodies against a specific protein.
- In **RED** line (T): with mouse monoclonal antibodies against SARS-CoV-2 N antigen.
- **Sample area (S)**: the pad where the sample is placed has been dispensed with a preparation of test line reagents (antibodies versus SARS-CoV-2 Ag) conjugated with red polystyrene latex and other preparation for the control line (specific binding protein) conjugated with green polystyrene latex has been dispensed, forming two coloured conjugate complex.

TEST LINE:

If the sample is positive: the antigens of the SARS-CoV-2 virus, from the patient's nasopharyngeal or nasal sample will react with the red conjugate complex (anti-SARS-CoV-2-red latex microspheres) and capillarity advance through the membrane. Anti-SARS-CoV-2 antibodies present in the test line membrane (T) will capture the coloured complex of the test resulting in the red line.

If the sample is negative: if the sample is negative and therefore does not contain viral antigens (or the antigen is present at a concentration below the detection limit), there is no reaction with the red coloured complex. Anti-SARS-CoV-2 antibodies present in the test line membrane (T) will not capture the red (unformed) coloured antigen-complex and the red line will not appear.

CONTROL LINE (C):

Regardless of whether the sample is positive or not, to verify that the test was successful (sufficient sample volume, appropriate flow, internal control of the reagents, etc.) the mixture will continue moving through the membrane towards the antibodies immobilized against the specific protein, located on the control line (C). These specific antiprotein antibodies present in the membrane will capture the control conjugate complex and the green control line will always appear.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiration date marked on its sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

GENERAL PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The test and samples should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provided in the kit are approved for use in the test that are supplied. Do not use any other commercial kit component if compatibility is not specified.

- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- Pale yellow or orange bands may appear in the test strip results window, at the positions where the coloured test and control lines should appear, before the test is performed. These bands are completely normal and correspond to the capture antibodies of the test. The existence of these bands does not alter the state of conservation and functionality of the kit.

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- Cassette or Test Card.
- Instructions for use.
- Monodose sample vials (with sample diluent).
- Sampling swabs.
- Lab rack.
- Positive Control.
- Negative Control (only RTB25COV2CN reference).

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container.
- Disposable gloves.
- Timer.
- Scissors.

The kit contains materials for the analysis of a maximum of 25 samples or controls.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION.

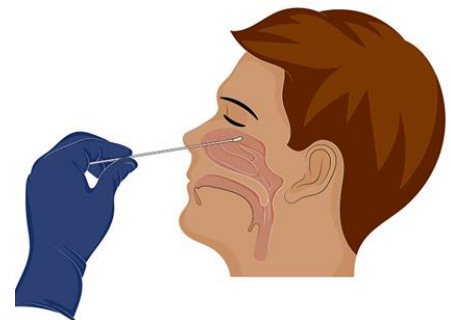
Samples should be process as soon as possible after collection. If this is not possible, the samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 8 hours prior to testing.

Select the type of sample to be used. This kit admits the use of nasopharyngeal and nasal samples. Although it has been shown that the nasopharyngeal sample is the one that contains a greater viral load, its extraction properly is much more complex and is only recommended for the scope of professional diagnosis, so it should always be a health professional who extracts it.

Specimen preparation (see illustration):

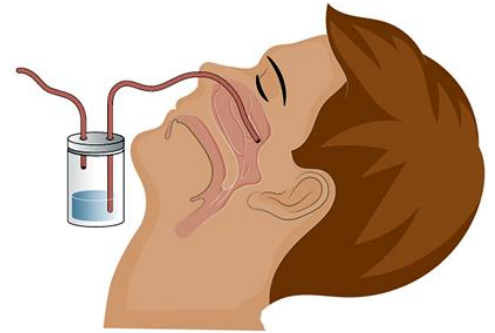
Nasal samples:

- Sound the nose before extraction to clean the nostrils.
- Carefully take out the sampling swab of its container.
- Insert the swab in vertical position by the nasal hole from 2 to 3 cm. Rotate the swab rubbing with the cotton part by the internal walls of the nasal cavity for at least 10 seconds to collect cells and snot.
- Remove the swab carefully and repeat the procedure with the other nasal orifice and the same swab.
- Remove the swab carefully. Do not let the cotton tip contact any surface you can contaminate. Perform the test with the extracted sample as soon as possible.



Nasopharyngeal samples (Recommended professional use):

- Carefully take out the sampling swab of its container.
- Introduce it by a nasal hole towards the nasopharynx, through the floor of the nasal cavity.
- Once contacted with the nasopharynx (the swab should be entered 3-5cm until touching the end of the nasal cavity), rotate the swab gently to capture both cells and snot.
- Repeat, if necessary, the procedure with the other nasal orifice.
- Process the swab as soon as possible, after the collection of the sample.



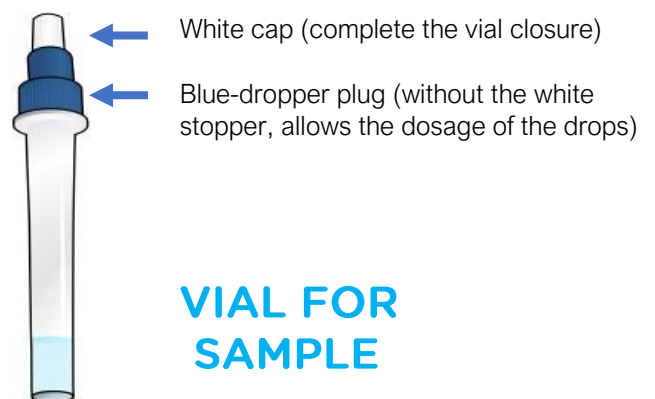
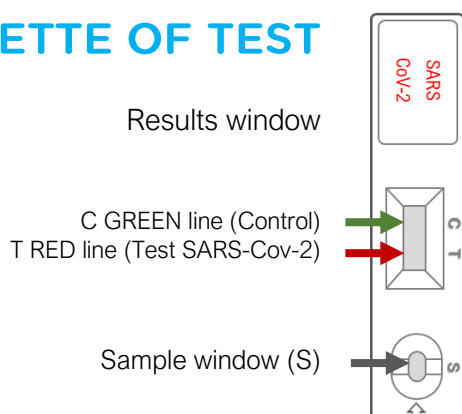
A correct sampling and conservation is essential for obtaining a correct result.

TEST PROCEDURE

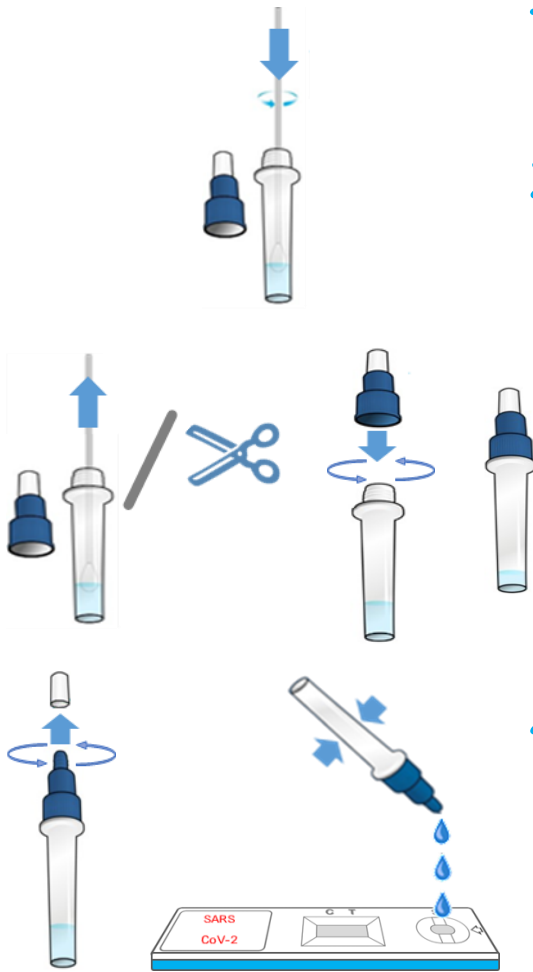
It is necessary to temper the components of the test (sample diluent and cassette with the reactive strip) at room temperature (15 to 30°C). It is recommended not to open the containers until the moment of performing the test.

**Familiarize yourself with the components of the test:
sample vial and cassette, before performing the test.**

CASSETTE OF TEST



VIAL FOR SAMPLE



1. Open the **pre-dosed vial with sample diluent**, and immediately introduce the swab with the corresponding sample, carefully not to contaminate any external surface with the sample.
2. Rotate the swab at the bottom of the sample diluent to allow it to be mixed, for **at least 30 seconds**. Better results will be obtained if the mixture is made vigorously, but extreme precautions to avoid splashing.
3. Once mixed, extract the swab trying to **squeeze the highest volume possible of liquid**, pressing it against the tube walls or cut it with scissors leaving the cottony end inside the vial.

Discard the swab and close the sample vial with blue and white plugs.

4. Remove the **white stopper** to release access to the dropper and remove the SARS-COV-2 Ag test from its aluminium envelope and dispense in the sample window (marked with the letter S), **3 drops** of the sample, pressing softly and continuously the side of the vial of samples.

Close the sample vial with white stopper.

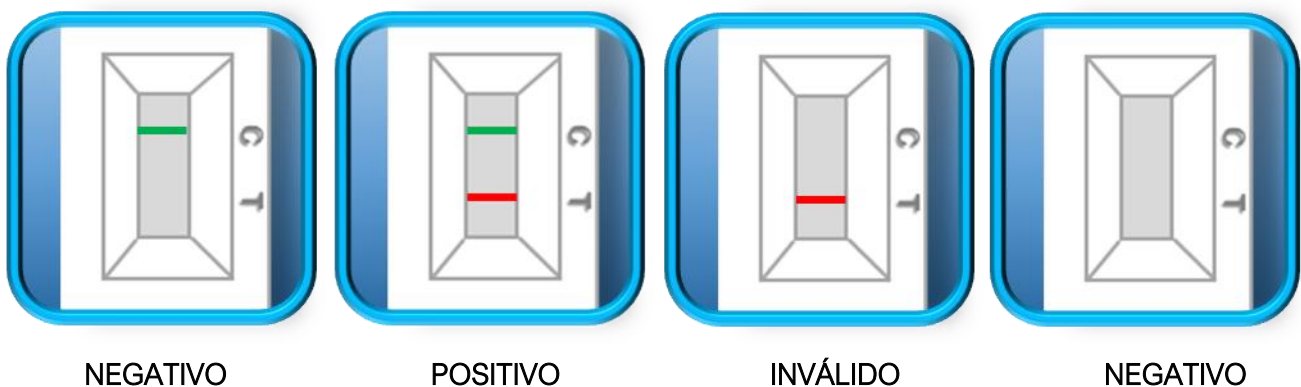


5. Wait **10-15 minutes to read the results**. The results will not be considered valid overcome this time.

NOTE: Sample diluent presents an inactivation capacity of the SARS Virus COV-2 of 99,68% and 99,98% after 1 and 10 minutes of contact, respectively. Even so, extreme precautions and treat the swab used and the diluent and vial for samples as if they contain biohazard species.

INTERPRETATION OF RESULTS

(Please refer to the illustration below)





	biotical Test	Interpretation of the results
1	C = GREEN LINE T = NO LINE	NEGATIVE FOR SARS CoV-2 Ag Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line). No presence of SARS COV-2 Ag is detected in the sample.
2	C = GREEN LINE T = RED LINE	POSITIVE FOR SARS CoV-2 Ag In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window. SARS COV-2 Ag presence is detected in the sample.
3-4	Any other result	INVALID Total absence of the control line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED) causes an invalid result. Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the result still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured bands in the test line (T) in the results windows will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window as an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

The following sections (**POSITIVE CONTROL** & **NEGATIVE CONTROL**) only apply if the corresponding positive and negative controls are available (sold separately or with kit reference **RTB25CoV2CN**).

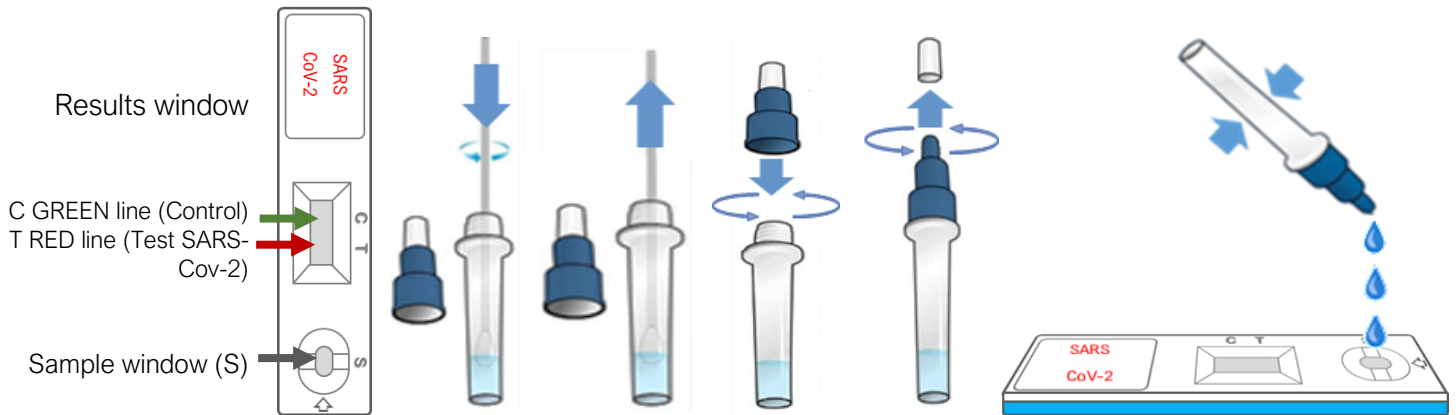
POSITIVE CONTROL: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotical SARS COV-2 Ag Positive Control is an external quality control for biotical SARS COV-2 Ag card. Use this control swab to check that the sample reagents and the test card are working properly.

biotical SARS COV-2 Ag Positive Control is manufactured with inactivated SARS CoV-2 nucleoprotein antigens dried in swab containing a preservative.

POSITIVE CONTROL: TESTING PROCEDURE

Allow tests and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.



- Open the pre-dosed vial with sample diluent and **introduce the control swab**. Rotate the swab at the bottom of the sample diluent **for at least 30 seconds**.
- **Extract the swab**, trying to squeeze the highest volume possible of liquid, pressing it against the tube walls. Discard the swab and close the sample vial with blue and white plugs.
- Remove the white stopper to access the dropper and remove the test card from its aluminium envelope. Dispense in the sample window (marked with the letter S) **3 drops of the control** pressing softly and continuously the side of the vial. Close the white plug.
- **Wait 10 minutes to read the results**. The results will not be considered valid overcome this time.

POSITIVE CONTROL: INTERPRETATION OF RESULTS

	biotical Test	Interpretation of the results
1	<p>C = GREEN LINE T = RED LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL POSITIVE</p> <p>A GREEN line (C) and a RED line (T) appear across the results window during the test performance due to presence of the antigens in the positive control swab.</p>
2		<p>INVALID RESULT</p> <p>Total absence of the control line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or only appears the control line.</p> <p>Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new positive control swab.</p>

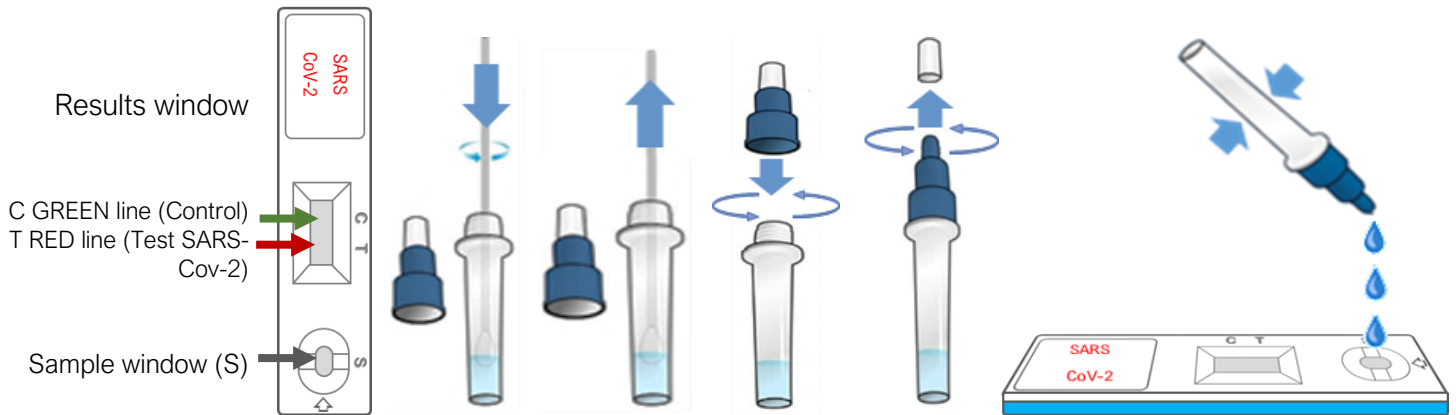
NEGATIVE CONTROL: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotical Negative Control is an external quality control for all immunochromatographic tests manufactured by biotical. Use this control swab to check that the extraction reagents and the test are working properly.

biotical Negative Control is manufactured with negative control buffer dried in swab containing a preservative.



NEGATIVE CONTROL: TESTING PROCEDURE

Allow tests and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.



- Open the pre-dosed vial with sample diluent and **introduce the control swab**. Rotate the swab at the bottom of the sample diluent **for at least 30 seconds**.
- **Extract the swab**, trying to squeeze the highest volume possible of liquid, pressing it against the tube walls. Discard the swab and close the sample vial with blue and white plugs.
- Remove the white stopper to access the dropper and remove the test card from its aluminium envelope. Dispense in the sample window (marked with the letter S) **3 drops of the control** pressing softly and continuously the side of the vial. Close the white plug.
- **Wait 10-15 minutes to read the results**. The results will not be considered valid overcome this time

NEGATIVE CONTROL: INTERPRETATION OF RESULTS

	biotical Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = NO LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL NEGATIVE</p> <p>Only the control line (C) appears across the results window during the test performance.</p>
2		<p>RESULT: INVALID FOR NEGATIVE CONTROL</p> <p>Total absence of the control line, and/or the card shows the test line. Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the main reasons for control line failure.</p> <p>Review the procedure and repeat the control with a new test and a new negative control swab.</p>

LIMITATIONS OF THIS TEST

- The test should be performed up to 2 hours after the containing bag has been opened.
- Only nasal and nasopharyngeal samples freshly collected or preserved in transport media VTM, UTM and saline buffer have been validated. The use of other samples (oropharyngeal swabs, saliva, sputum,

urine, etc.) or other storage buffers has not been determined. The validity of the results depends directly on a correct collection and conservation of the sample. The use of storage buffers or their inappropriate use can reduce the sensitivity of the test due to excessive dilutions of the original sample or incompatibilities with the selected sample buffer

- biotical SARS-CoV-2 Ag card will only indicate the presence of SARS-CoV-2 in the sample (qualitative detection) and should be used only for the detection of SARS-CoV-2 antigens in nasopharyngeal samples. This test cannot determine either the quantitative value or rate of increase in SARS-CoV-2 antigen concentration.
- If the test result is negative and clinical symptoms persist, additional tests with other clinical methods are recommended. A negative result does not at any time prevent the possibility of SARS-CoV-2 infection as it may be due to a very low antigen concentration.
- This test provides a presumptive diagnosis of SARS-CoV-2 infections. All results should be interpreted by a physician along with other clinical information and other available laboratory results.
- False negative and positive results may occur in symptomatic and asymptomatic patients, within the sensitivity and specificity values provided in this manual.
- As a confirmatory diagnostic test, it is recommended to perform a Real Time-PCR.
- Any positive or negative result of the biotical SARS CoV-2 Ag rapid test does not identify or rule out co-infections with other pathogens.
- For professional in vitro use only. Exceptionally, due to the increase in cases of COVID infection, the Spanish Agency for Medicines and Medical Devices (AEMPS) has issued express authorization for the commercialization and use for its use as a self-diagnosis of this test, through sale in pharmacies, with a certain duration (authorization 1001-21-AE).
- The supplied sterile swabs are for the sole and exclusive use of obtaining nasal or nasopharyngeal samples. They must not be reused. It is convenient not to touch the head of the swab with the hands or other surfaces to avoid contamination.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) RECOMMENDATIONS

The World Health Organization (WHO) has published on September 11, 2020 a guide aimed at improving the use and understanding of rapid tests for the detection of SARS CoV-2 antigen that can help organizations and countries interested in integrating this type of test into their diagnosis and surveillance system against SARS CoV-2, and especially its use in the identification of new outbreaks.

These recommendations include:

- To ensure the performance of the test, it must be carried out by qualified personnel, strictly following the instructions for use. The test should preferably be performed between days 5 and 7 from the onset of symptoms, this being the period with the highest viral load.
- Whenever possible, positive results must be confirmed by PCR techniques. A positive result has a high chance of being confirmed by these techniques, so it is advisable to isolate the patient while waiting for results.
- A negative result should not completely rule out SARS CoV-2 infection, so it is advisable to carry out confirmatory tests, especially in individuals who show symptoms. In special detection situations, such as the screening of new outbreaks and if the capacity for confirmation by PCR is insufficient, confirmatory tests should be prioritized over samples with a negative result.
- Antigen detection tests are especially important in cases: early detection of infections and identification of new outbreaks, monitoring of contagion trends, community transmission, analysis of contacts close to infections and risk personnel who may asymptotically carry the disease (It has been shown that the viral load of asymptomatic patients can be equivalent to that of symptomatic patients).
- SARS CoV-2 antigen detection tests work satisfactorily with samples with high viral load ($Ct \leq 25$ or $>10^6$ genome copies per mL). One way of evaluating the sensitivity for this class of tests is to check if the value of this is higher than 90% for samples with a Ct cycle threshold equal or lower than 28 or 30, since the virus concentration is expected to be abundant in this kind of samples.

You can consult the full text of the report published by the World Health Organization at the following address: <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity: Test detection limit

The detection limit of the SARS CoV-2 Ag biotical rapid test has been determined at 1.25x10² UFP/mL nCoV-2019 D614G(S) or 2ng/mL of recombinant viral protein.

Due to the peculiarities of the technique in the processes related to the manufacture of biological raw materials, it is impossible to establish an exact guaranteed detection limit, therefore a standard detection limit of 2ng/mL is determined and an acceptance range between 4 ng/mL and 0.5 ng/mL.

Clinical sensitivity and specificity for nasopharyngeal samples

Multi-center validation with nasopharyngeal samples was performed and comparing the results obtained by this test (immunochromatographic) with a PCR test (reference technique). Samples employed had a value of CT<28 (nasopharyngeal samples with high viral load, being the expected in the first phases in which symptoms of the disease appear, days 5-7 from the beginning of the disease).

The results were as follows:

		Reference Technique (qPCR Test)		
		+	-	Total
Biotical SARS CoV-2 Ag Card (nasopharyngeal samples)	+	93	1	94
	-	7	455	462
	Total	100	456	556

<i>Biotical SARS COV-2 Ag Card (nasopharyngeal samples) vs Reference Technique (qPCR)</i>	MEAN VALUE	95% CONFIDENCE INTERVAL
SENSITIVITY	93,0%	86,1 - 97,1%
SPECIFICITY	99,8%	98,8 - 100%
PPV	98,9%	94,2 - 100%
NPV	98,5%	96,9 - 99,4%
ACCURACY	98,6%	97,2 - 99,4%

Clinical sensitivity and specificity for nasal samples

A validation with nasal samples was carried out and comparing the results obtained by this test (immunochromatographic) with a PCR test (reference technique). In this case, the samples used has not been discriminated on according to its CT value (Samples have been included with CT greater than 30, with very low viral load, for which the use of this Test class has not been recommended).

The results were as follows:

		Reference Technique (qPCR Test)		
		+	-	Total
Biotical SARS CoV-2 Ag Card (nasal samples)	+	129	7	136
	-	27	827	854
	Total	156	834	990

Biotical SARS COV-2 Ag Card (nasal samples) vs Reference Technique (qPCR)	MEAN VALUE	95% CONFIDENCE INTERVAL
SENSITIVITY	82,7%	75,8 - 88,3%
SPECIFICITY	99,2%	98,3 - 99,7%
PPV	94,9%	89,7 - 97,9%
NPV	96,8%	95,4 - 97,9%
ACCURACY	96,6%	95,2 - 97,6%

If we only select the samples with CT<28, for which the use of this test class is recommended by the World Health Organization, the sensitivity obtained increases to 96,9% (IC: 91,2 – 99,4%) and the specificity to 99,2% (IC: 98,3 – 99,7%).

The results obtained both with nasal sample and nasopharyngeal sample, indicate a high sensitivity and specificity of the test, with very high general precision values.

HOOK EFFECT

Biotical SARS COV-2 AG rapid test showed no inhibitory effect at higher concentrations 100,000xLoD.

INTERFERING SUBSTANCES

No interference has been found in the results of the Biotical Rapid Test SARS COV Ag, with the following substances and concentrations.

INTERFERING SUBSTANCE	CONCENTRATION (mg/ML)	RESULT
Metronidazole	3,0	Negative
Ampicilin	3,0	Negative
Oseltamivir	3,0·10 ⁻²	Negative
Amantadine	0,3	Negative
Ribavirin	3,0	Negative
Codeine (Toseina)	0,2	Negative
Benzocaine (Angileptol)	3,0·10 ⁻²	Negative

INTERFERING SUBSTANCE	CONCENTRATION (mg/ML)	RESULT
Cloperastine (Flutox)	0,3	Negative
Carbocisteine (Iniston mucolítico)	3,0·10 ⁻²	Negative
Loratadine	0,3	Negative
Dexchlorpheniramine (Polaramine)	0,3	Negative
Loperamide hydrochloride (Fortasec)	0,15	Negative
Heparin (Hibor)	350,0 (IU/mL)	Negative
Almagato (Almax)	3,0	Negative

INTERFERING SUBSTANCE	CONCENTRATION (mg/ML)	RESULT
Fosfamyacin (Monurol)	$3,0 \cdot 10^{-3}$	Negative
Acetylcysteine (Fluimucil)	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negative
Dexketoprofen trometamol (Enantyum)	3,0	Negative
Hemoglobina humana	5,0 µg/mL	Negative
Calprotectina humana	5,0 µg/mL	Negative
Transferrina humana	0,5 µg/mL	Negative
Levofloacin	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negative
Ciprofoxacin	0,3	Negative
Rifampicin (Rifaldin)	0,3	Negative
Phenoxymethylpenicillin potasium	3,0	Negative
Ambroxol hydrochloride (Mucosan)	0,3	Negative
Ebastine (Ebastel)	3,0	Negative
Acetyl salicylic (Adiro)	0,3	Negative
Ibuprofen (espidifren)	0,3	Negative
Paracetamol (Dolocatil)	5,0	Negative
Metamizole (Nolotil)	5,0	Negative
Prednisone	0,3	Negative
Omeprazole	$2,0 \cdot 10^{-2}$	Negative
Macrogol 3350 (Movicol)	3,0	Negative
Lysine Carbocysteinate (Pectox)	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negative
Hydroxyzine dihydrochloride	0,3	Negative
Lorazepam	$3,0 \cdot 10^{-3}$	Negative
Amoxicillin	3,0	Negative
Mercaptopurine	0,3	Negative
Biotine	100,0 µg/mL	Negative
Human lactoferrin	5,0 µg/mL	Negative
Mucina	5,0	Negative
Human blood	50,0	Negative

CROSSED REACTIONS

An evaluation was carried out to determine possible cross-reactions of Biotical Sars-COV-2 AG; Cross reaction was not detected with organisms, pathogens or substances that could cause infections.

<i>Adenovirus</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Adenovirus</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella flexneri</i>
Human calprotectin	<i>Giardia</i>	<i>Norovirus</i> GI	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Norovirus</i> GII	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>Clostridium difficile</i> antigen GDH	Bovine hemoglobin	<i>Rotavirus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium difficile</i> toxin A	Pork hemoglobin	<i>Salmonella enteritidis</i>	Human transferrin
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	Human hemoglobin	<i>Salmonella paratyphi A</i>	Respiratory Syncytial Virus
Coronavirus strain 229E	<i>Influenza</i> type A	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
Coronavirus strain NL63	<i>Influenza</i> type B	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9
Coronavirus strain OC43	Human lactoferrin	<i>Shigella boydii</i>	

Five positive samples for HKU1 human Coronavirus were tested in an external evaluation carried out with the Biotical SARS-COV-2 AG Card and the results obtained were negative. This suggests that there is no crossed reaction with HKU1. In addition, the percentage of similarity of the HKU1 nucleocapside protein sequence with the protein sequence of the SARS-COV-2 nucleocapside is approximately 35%, which is considered a very low homology. This suggests that there is no crossed reaction with HKU1.

Three positive samples for Rhinovirus were tested in an external evaluation carried out with the Certest Sars-COV-2 test and the results obtained were negative. This suggests that there is no crossed reaction with rhinovirus.

Biotical Sars-COV-2 AG shows some crossed reaction with SARS and very low with MERS.

NEW VARIANTS DISCOVERED

Recently new strains of the SARS CoV-2 virus, as the variants appeared in the United Kingdom, Brazil or Japan have been discovered. These variants have mutations in the gene sequences encoding for the SPIKE protein (S), so they have variations in these proteins that generally affect their capacity for infection.

As a result of these variations, the diagnostic tests that focus their detection in this gene can see their sensitivity capacity altered compared to these strains. Biotical SARS CoV-2 Ag Card specifically detects antigenic regions of the nucleocapside protein (NP) so that their sensitivity should not be altered for the detection of these and other new variants of the virus with mutations in protein S.

In addition, analysis of sequence in silico has been carried out to verify that the mutated regions of CDA one of the most widespread variants is outside the Biotical Test SARS CoV-2 Ag detection region.

VARIANT	ORIGIN	MUTATIONS IN PROTEIN N (POSITIONS)	AFFECTS THE TARGET REGION OF THE TEST? (247-364)	CONCLUSION
ALPHA	United Kingdom (VUI 202012/01)	3 (D3L) 235 (S235F)	NO	There should not be incompatibilities of detection.
BETA	South Africa (501Y.V2)	205 (T205I)	NO	There should not be incompatibilities of detection.
GAMMA	Brazil (GR/501Y.V3 - B.1.1.28)	80 (P80R) 203 (R203K) 204 (G204R)	NO	There should not be incompatibilities of detection.
DELTA	India (VUI-21APR-01 - B.1.617.2)	63 (D63G) 203 (R203M) 377 (D377Y)	NO	There should not be incompatibilities of detection.
EPSILON	USA GH/452R.V1 (B.1.429)	205 (T205I)	NO	There should not be incompatibilities of detection.
OMICRON	South Africa GR/484A.V2 (B.1.1.529)	13 (P12L), 203 (R203K) 204 (G204R), and deletions in 31, 32 and 33 (Deletions E, R and S)	NO	There should not be incompatibilities of detection.

In all cases, the result was that none of the analysed variants should alter the correct functioning of the test

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS & REAGENTS



In vitro diagnostic device



Manufacturer



Consult instructions for use



Contains sufficient for <n> test



Keep dry



Sample diluent



Use by



Batch code



Temperature limitation



Catalogue number

biotical SARS CoV-2 Ag Card

ESPAÑOL

¿PARA QUÉ SE USA BIOTICAL SARS COV-2 AG CARD?

biotical SARS-CoV-2 Ag Card es una prueba rápida de inmunocromatografía para la detección cualitativa del antígeno nucleoproteico (proteína N) estructural del coronavirus SARS-CoV-2, a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos y muestras nasales de pacientes con sospecha de infección por COVID-19.

Gracias a su fácil manejo y alta sensibilidad, el profesional de la salud o el profano en la materia podrá realizar un diagnóstico presuntivo de infección causada por el coronavirus SARS-CoV-2.

¿QUÉ ES EL VIRUS SARS-CoV-2?

El virus SARS-CoV-2 es un nuevo tipo de coronavirus responsable de la enfermedad COVID19, descubierta por primera vez en el sudeste asiático en noviembre de 2019.

Los virus que pertenecen a la familia Coronaviridae contienen, entre otras, glicoproteína de pico (S), la cual es uno de los objetivos de la respuesta de las células T en el sistema inmunológico. La proteína S también promueve la unión de la envoltura del virus al receptor ACE2 y la entrada del virus en la célula diana. Los receptores ACE2 están presentes en las células de las arterias, venas, músculos lisos, intestino delgado, alvéolos de los pulmones, folículos pilosos, miofibroblastos cardíacos, piel, cerebro y riñón, por lo que el SARS-CoV-2 podría potencialmente infectar estos tejidos.

SARS-CoV-2 cursa con un cuadro muy amplio de síntomas entre los que destacan fiebre, fatiga, dolor de garganta, dolor de cabeza, disnea, diarrea, pérdida de gusto y olfato además de complicaciones circulatorias y orgánicas de diversos tipos. SARS-CoV-2 se considera un virus respiratorio potencialmente causante de cuadros de neumonía.

El virus tiene su vía de entrada en la cavidad nasofaríngea donde accede a las células epiteliales y muestra su mayor carga viral en los primeros días. Se propaga por gotas de saliva al hablar, toser o estornudar en distancias cortas y en menor medida por aerosoles. Otras vías de transmisión como contaminación por heces son posibles.

El SARS-CoV-2 ha demostrado un nivel alto de transmisión entre humanos debido a su periodo de incubación prolongado (de dos a doce días), la capacidad de cursar de forma asintomática en ciertos individuos y de permanecer activo en superficies.

Por todo esto, un diagnóstico rápido y preciso significa reducir el riesgo de transmisión y el brote y garantizar la prescripción temprana de medicación antiviral para pacientes de alto riesgo.

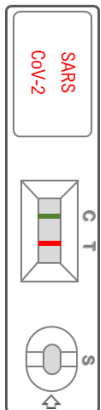
TABLA DE REFERENCIAS

En la siguiente tabla puede encontrar todas las referencias de productos relacionados con el test adquirido.

REFERENCIA	NOMBRE	CONTENIDO
RTB25COV2C	biotical SARS COV-2 Ag Card (+PC)	25 Test con control positivo, sin control negativo.
RTB25COV2CN	biotical SARS COV-2 Ag Card (+PC +NC)	25 Test con control positivo y negativo.

¿CÓMO FUNCIONA BIOTICAL SARS COV-2 AG CARD?

El casete (card) posee en su interior una tira reactiva con una membrana de nitrocelulosa que ha sido fijada previamente:



- **En la línea VERDE (C):** con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica.
- **En la línea ROJA (T):** con anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos de la Nucleoproteína del virus SARS-CoV-2.
- **En la zona de la muestra (S):** se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos frente a SARS-CoV-2) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

LÍNEA DE TEST (T):

Si la muestra es positiva: los antígenos del virus SARS-CoV-2, de la muestra nasofaríngea o nasal del paciente reaccionarán con el complejo conjugado coloreado rojo (anti-SARS-CoV-2-microesferas rojas de látex) y avanzan por capilaridad a través de la membrana. Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 presentes en la membrana de la línea del test (T) capturarán el complejo coloreado del test dando lugar a la línea roja.

Si la muestra es negativa: si la muestra es negativa y por lo tanto no contiene antígenos virales (o el antígeno está presente en una concentración inferior al límite de detección), no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 presentes en la membrana de la línea del test (T), no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

LÍNEA DE CONTROL (C):

Independientemente de que la muestra sea positiva o negativa, para verificar que la prueba se ha realizado correctamente (volumen de muestra suficiente, flujo apropiado, control interno de los reactivos, etc.) la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica, localizados en la línea de control (C). Estos anticuerpos antiproteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES GENERALES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.

- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los test y las muestras deben desecharse en un contenedor de residuos sanitarios adecuado después de su uso.
- Los reactivos contienen conservantes. Evite cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consulte la ficha de datos de seguridad, disponible bajo petición.
- Los componentes incluidos en el kit están aprobados para su uso en la prueba que se suministran. No utilice ningún otro componente de kit comercial si no se especifica la compatibilidad.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa protectora, use guantes de eliminación, gafas y máscara. No coma, bebe ni fume en el área de trabajo.
- Es posible que aparezcan bandas color amarillo o naranja pálido en la ventana de resultados de las tiras de test, en las posiciones donde deberán aparecer las bandas coloreadas de test y control, antes de que se realice la prueba. Estas bandas son completamente normales y corresponde a los anticuerpos de captura de la prueba. La existencia de estas bandas no altera el estado de conservación y funcionalidad del kit.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Casete o tarjeta (Card) de test.
- Instrucciones de uso.
- Viales monodosis para muestras (con diluyente de muestra).
- Hisopos para toma de muestras.
- Gradilla de laboratorio.
- Control positivo.
- Control negativo (solo en la referencia RTB25COV2CN).

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras.
- Guantes desechables.
- Cronómetro.
- Tijeras.

El kit contiene materiales para el análisis de hasta 25 muestras o controles.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN.

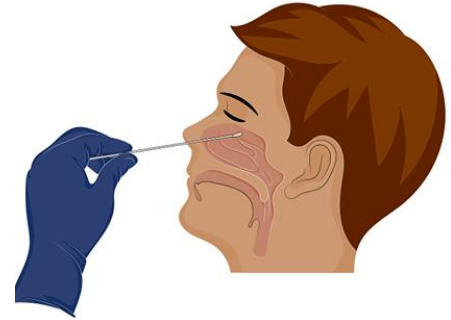
Las muestras deben ser procesadas lo más pronto posible tras su recolección. Si esto no fuera posible las muestras pueden ser almacenadas en el frigorífico (2-8°C) durante 8 horas antes de realizar la prueba.

Seleccionar el tipo de muestra a utilizar. Este kit admite el uso de muestras de hisopos nasofaríngeos y de muestras nasales. Aunque se ha demostrado que es la muestra nasofaríngea es la que contiene una mayor carga viral, su extracción de forma adecuada resulta mucho más compleja y solo se recomienda para el ámbito del diagnóstico profesional, por lo que debe ser siempre un profesional sanitario quien la extraiga.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

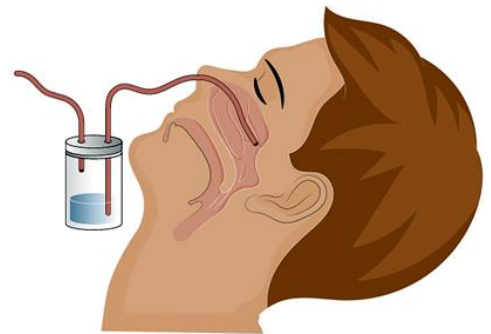
Muestras nasales:

- Sonar la nariz antes de la extracción para limpiar las fosas nasales.
- Sacar con cuidado el hisopo de toma de muestras de su envase.
- Introducir el hisopo en posición vertical por el orificio nasal de 2 a 3 cm. Rotar el hisopo frotando con la parte algodónada por las paredes internas de la cavidad nasal durante al menos 10 segundos para recolectar células y mocos.
- Retirar el hisopo con cuidado y repetir el procedimiento con el otro orificio nasal y el mismo hisopo.
- Retirar el hisopo con cuidado. No dejar que la punta algodónada contacte con ninguna superficie que pueda contaminar. Realizar el test con la muestra extraída tan pronto como sea posible.



Muestras nasofaríngeas (RECOMENDADO USO PROFESIONAL):

- Sacar con cuidado el hisopo de toma de muestras de su envase.
- Introducirlo por un orificio nasal hacia la nasofaringe, a través del suelo de la cavidad nasal.
- Una vez contactado con la nasofaringe (el hisopo debe introducirse 3-5cm hasta tocar el final de la cavidad nasal), rotar el hisopo suavemente para capturar tanto células como mocos.
- Repetir, si es necesario, el procedimiento con el otro orificio nasal.
- Procesar el hisopo tan pronto como sea posible, tras la recolección de la muestra.



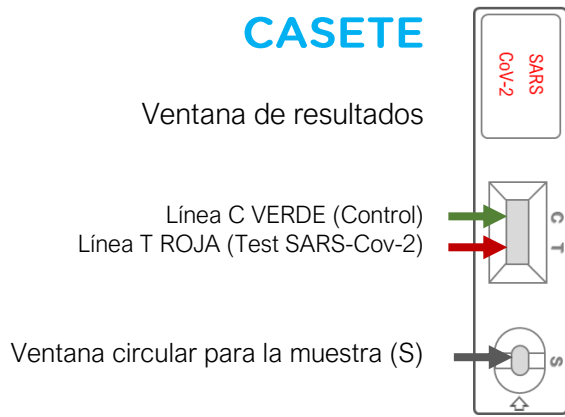
Una correcta toma y conservación de muestras es imprescindible para la obtención de un resultado correcto

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Es necesario templar los componentes de la prueba (diluyente de muestra y casete con la tira reactiva) a temperatura ambiente (15 a 30°C). Se recomienda no abrir los envases hasta el momento de realizar la prueba.

**Familiarícese con los componentes de la prueba:
vial de muestra y casete, antes de realizar la prueba.**

CASETE



Ventana de resultados

Línea C VERDE (Control)
Línea T ROJA (Test SARS-Cov-2)

Ventana circular para la muestra (S)



Tapa blanca (completa el cierre del vial)

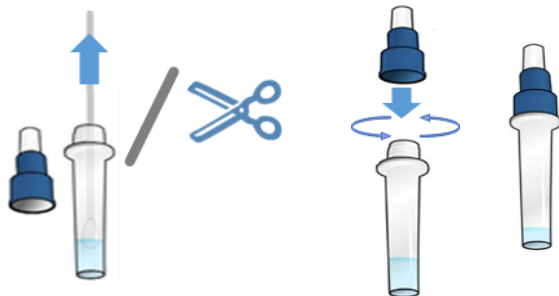
Tapón cuentagotas azul (sin el tapón blanco, permite la dosificación de las gotas)

VIAL PARA MUESTRA



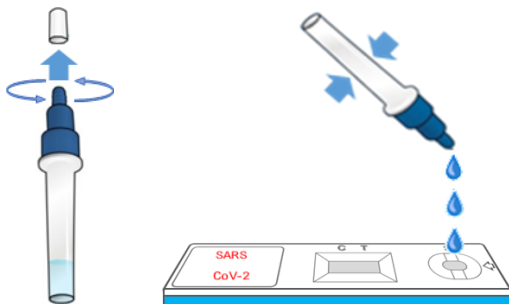
1. Abrir el vial predosificado con diluyente de muestra e inmediatamente introducir el hisopo con la muestra correspondiente, con cuidado de no contaminar ninguna superficie externa con la muestra.

2. Girar el hisopo en el fondo del vial para favorecer la mezcla de la muestra, **al menos durante 30 segundos**. Se obtendrán mejores resultados en la prueba si la mezcla se realiza de forma vigorosa, pero extreme las precauciones para evitar salpicaduras.



3. Una vez mezclados, extraiga el hisopo, **intentando recuperar el máximo volumen de líquido posible**, presionando las paredes internas del vial o corte el hisopo dejando el extremo algodónoso en el interior del vial.

Deseche el hisopo y cierre el vial de muestra con los tapones azul y blanco.



4. Retire el **tapón blanco** para permitir el acceso al cuentagotas, y extraiga el casete de test SARS CoV2 Ag de su envoltorio de aluminio. Dispense en la ventana para muestras (marcada con la letra S) **3 gotas de la muestra**, presionando de forma suave y continuada las paredes del vial de muestra.

Cierre el vial de muestra con el tapón blanco.

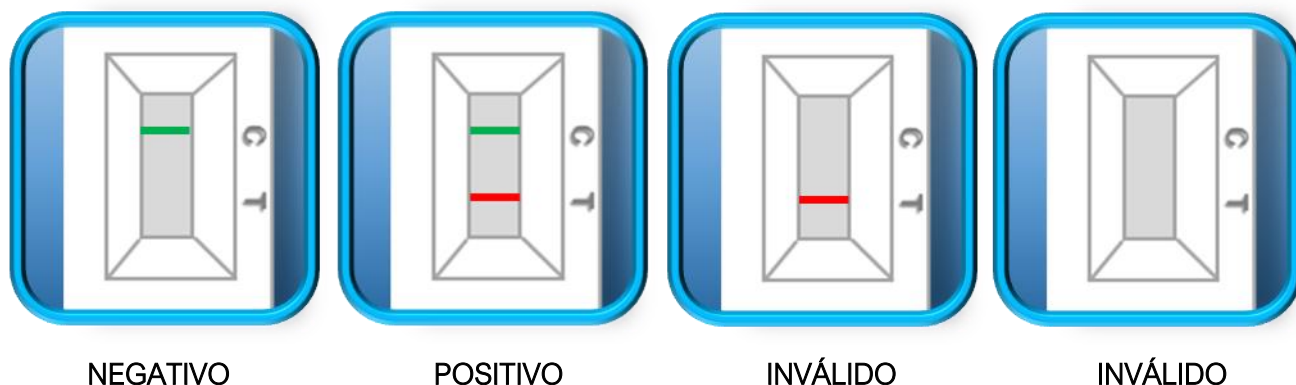


5. Espere **10-15 minutos para leer los resultados**. Los resultados no serán considerados válidos pasado este tiempo.

NOTA: El diluyente de muestra presenta una capacidad de inactivación del virus SARS COV-2 del 99,68% y 99,98% tras 1 y 10 minutos de contacto, respectivamente. Aun así, extremar las precauciones y tratar el hisopo utilizado, diluyente y vial para las muestras como si contuvieran especies de riesgo biológico.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA	NEGATIVO PARA SARS COV-2 Ag Solo aparece la línea VERDE en la ventana de resultados en el sitio marcado con la letra C (línea de control). No se detecta presencia de SARS COV-2 Ag en la muestra.
2	C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA	POSITIVO PARA SARS COV-2 Ag Además de la línea de control VERDE , también aparece una línea ROJA en el sitio marcado con la letra T (línea de test) en la ventana Resultados. Se detecta presencia de SARS COV-2 Ag en la muestra.
3-4	Cualquier otro resultado	RESULTADO NO VÁLIDO La ausencia total de la línea de control (VERDE) sin importar si aparece o no la línea de test (ROJA) causa un resultado no válido. Un volumen insuficiente de la muestra, técnicas de procedimiento incorrectas o el deterioro de los reactivos son las razones principales por las que aparece este resultado. Revise el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo test. Si el resultado persiste, póngase en contacto con su distribuidor local.

NOTAS SOBRE LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La intensidad de la línea de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígeno presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígeno pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El test incluye un control interno de procedimiento. La línea verde que aparece en la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

Las siguientes secciones (**CONTROL POSITIVO & CONTROL NEGATIVO**) solo se aplica si los controles positivo o negativo correspondiente disponibles (vendidos por separado o con kits con referencia **RTB25CoV2CN**).

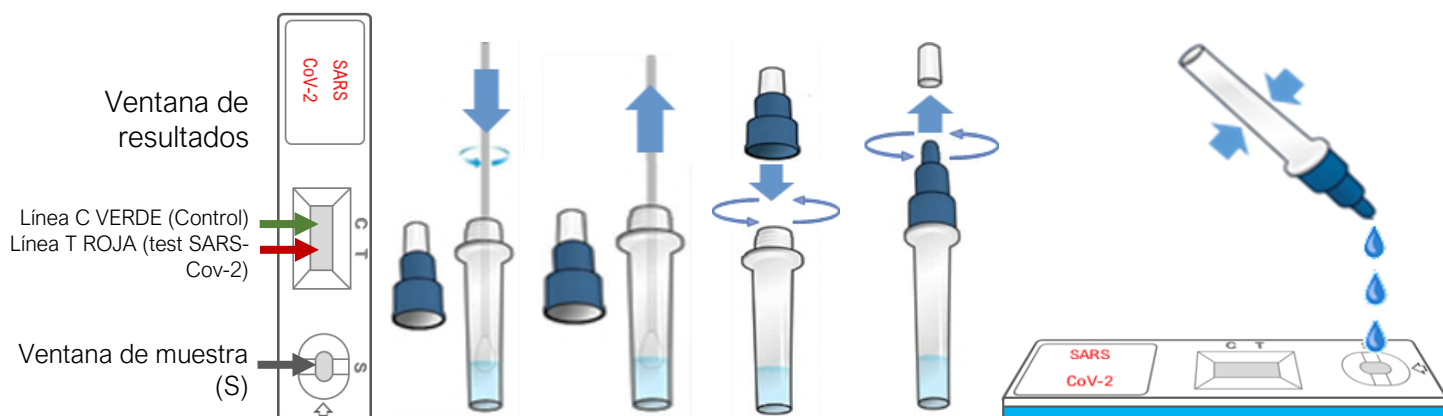
CONTROL POSITIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical SARS COV-2 Ag Positive Control es control de calidad externo para biotical SARS COV-2 Ag Card. Este hisopo control se debe usar para evaluar que los reactivos y el funcionamiento del test son adecuados.

biotical SARS COV-2 Ag Positive Control está fabricado a partir de antígenos de nucleoproteína inactivados de SARS COV-2, secados en hisopo, contiene conservante.

CONTROL POSITIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Permita que las pruebas y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de la prueba. No abra los componentes hasta la realización del ensayo.



- Abra el vial predosificado con diluyente de muestra e **introduzca el hisopo de control**. Gire el hisopo en el fondo del vial durante **al menos 30 segundos**.
- **Extraiga el hisopo**, tratando de escurrir el máximo líquido posible, presionándolo contra las paredes del vial. Descarte el hisopo y cierre el vial con los tapones azul y blanco.
- **Retire el tapón blanco** para acceder al cuantagotas. Extraiga la tarjeta de test de su envase de aluminio. Dispense en la ventana para muestras (marcada con la letra S) **3 gotas del control**, presionando de forma suave y continuada las paredes del vial. Cierre el vial con el tapón blanco.
- **Espere 10 minutos para leer los resultados**. Los resultados no se considerarán como válidos trascurrido este tiempo.

CONTROL POSITIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	<p>C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL POSITIVO</p> <p>Una línea VERDE (C) y una línea ROJA (T) aparecen en la ventana Resultados debido a la presencia de los antígenos en el hisopo de control positivo.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>Ausencia total de la línea de control (VERDE), importar si aparece o no la línea de test (ROJA), o bien aparece únicamente la línea de control.</p> <p>Procedimientos incorrectos o deterioro de los reactivos son las razones principales por las que puede no aparecer la línea de control. Revise el procedimiento y repita el control con una nueva tarjeta de test y un nuevo hisopo de control positivo.</p>

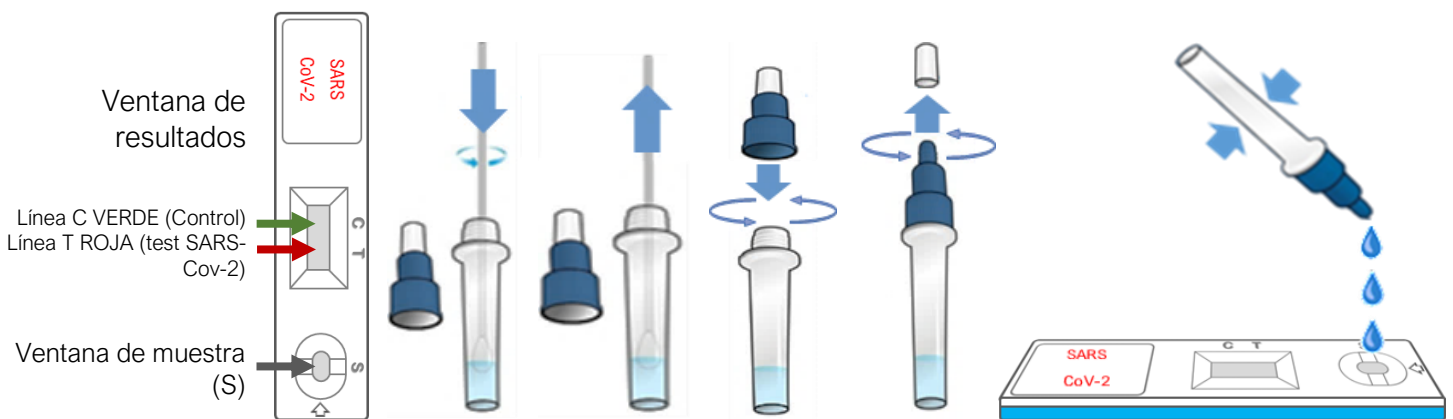
CONTROL NEGATIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical Negative Control es un control de calidad externo para todas las pruebas inmunocromatográficas fabricadas por biotical. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos de extracción y la prueba funcionen correctamente.

biotical Negative Control está fabricado con tampón de control negativo secado en hisopo, contiene un conservante.

CONTROL NEGATIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Permita que las pruebas y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de la prueba. No abra los componentes hasta la realización del ensayo.



- Abra el vial predosificado con diluyente de muestra e **introduzca el hisopo de control**. Gire el hisopo en el fondo del vial durante **al menos 30 segundos**.
- **Extraiga el hisopo**, tratando de escurrir el máximo líquido posible, presionándolo contra las paredes del vial. Descarte el hisopo y cierre el vial con los tapones azul y blanco.
- **Retire el tapón blanco** para acceder al cuantagotas. Extraiga la tarjeta de test de su envase de aluminio. Dispense en la ventana para muestras (marcada con la letra S) **3 gotas del control**, presionando de forma suave y continuada las paredes del vial. Cierre el vial con el tapón blanco.
- **Espere 10-15 minutos para leer los resultados**. Los resultados no se considerarán como válidos trascurrido este tiempo.

CONTROL NEGATIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	<p>C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL NEGATIVO</p> <p>Solo aparece la línea de control (C) en la ventana de resultados durante la prueba.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>La ausencia total de la línea de control, y/o aparición de la línea de test. Técnicas de procedimiento incorrectas o deterioro de los reactivos son las razones principales de que no aparezca la línea de control.</p> <p>Revise el procedimiento y repita el control con una nueva prueba y un nuevo hisopo de control negativo.</p>

LIMITACIONES DEL PRESENTE TEST

- El test debe ser realizado como máximo hasta 2 horas después de haber abierto la bolsa que lo contiene.
- Solo se pueden analizar muestras nasofaríngeas y nasales recién extraídas o conservadas en medios de transporte UTM, VTM o solución salina. El uso de otras muestras (hisopos orofaríngeos, saliva, esputos, orina, etc) u otros tampones de transporte no ha sido determinado. La validez de los resultados depende directamente de una correcta toma y conservación de la muestra. El uso de tampones de transporte o su utilización inadecuada pueden reducir la sensibilidad del test debido a la excesiva dilución de la muestra original o a incompatibilidades con el medio seleccionado.
- biotical SARS-CoV-2 Ag Card solo indicará la presencia de SARS-CoV-2 en la muestra (detección cualitativa) y debe usarse solamente para la detección de antígenos de SARS-CoV-2 en muestras nasofaríngeas. Esta prueba no puede determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos de SARS-CoV-2.
- Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomiendan pruebas adicionales con otros métodos clínicos. Un resultado negativo no impide en ningún momento posibilidad de infección por SARS-CoV-2 ya que puede deberse a una concentración de antígeno muy baja.
- Esta prueba proporciona un diagnóstico presuntivo de infecciones por SARS-CoV-2. Todos los resultados deben ser interpretados por un médico junto con otra información clínica y otros resultados de laboratorio disponibles.
- Es posible que se produzcan resultados de falsos negativos y positivos en pacientes sintomáticos y asintomáticos, dentro de los valores de sensibilidad y especificidad suministrados en el presente manual.
- Como prueba confirmatoria diagnóstica se recomienda la realización de una Real Time-PCR.
- Cualquier resultado positivo o negativo del test rápido biotical SARS CoV-2 Ag no identifica o descarta coinfecciones con otros patógenos.
- Sólo para uso profesional in vitro. De forma excepcional, debido al aumento de casos de infección por COVID, la Agencia Española del Medicamento y Producto Sanitario (AEMPS) ha emitido autorización expresa para la comercialización y utilización para su uso como autodiagnóstico del presente test, a través de la venta en farmacias y con una duración determinada (autorización 1001-21-AE).
- Los hisopos estériles suministrados son de uso único y exclusivo para la obtención de muestras nasales o nasofaríngeas. No deben reutilizarse. Es conveniente no tocar la cabeza del hisopo con las manos u otras superficies para evitar contaminaciones.

RECOMENDACIONES DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS)

La Organización Mundial de la salud (OMS) ha publicado con fecha 11 de Septiembre de 2020 una guía destinada a mejorar el uso y entendimiento de las pruebas test rápidos de detección de antígeno de SARS CoV-2 que pueda servir de ayuda a organizaciones y países interesados en integrar este tipo de pruebas en su sistema de diagnóstico y vigilancia contra el SARS CoV-2, y en especial su empleo en la identificación de nuevos brotes.

Estas recomendaciones, incluyen:

- Para asegurar el rendimiento de la prueba, es necesario que se realice por personal cualificado, siguiendo de manera estricta las instrucciones de uso. La prueba ha de realizarse preferiblemente entre los días 5 y 7 desde la aparición de los síntomas, siendo este el periodo de mayor carga vírica.
- Siempre que sea posible, los resultados positivos han de confirmarse mediante técnicas de PCR. Un resultado positivo posee altas posibilidades de ser confirmado mediante estas técnicas, por lo que se aconseja un aislamiento del paciente a la espera de resultados.

- Un resultado negativo no debe descartar completamente la infección por SARS CoV-2, por lo que conviene la realización de pruebas confirmatorias, especialmente en individuos que muestren la sintomatología. En situaciones especiales de detección, como en el rastreo de nuevos brotes y si la capacidad de confirmación por PCR es insuficiente, se deben priorizar las pruebas confirmatorias a las muestras con resultado negativo.
- Las pruebas de detección de antígeno tienen especial importancia en los casos: detección temprana de contagios e identificación de nuevos brotes, monitorización de tendencias de contagio, transmisiones comunitarias, análisis de contactos cercanos a infecciones y personal de riesgo que puedan cursar la enfermedad de forma asintomática (se ha demostrado que la carga viral de pacientes asintomáticos puede ser equivalente a la de pacientes sintomáticos).
- Los test de detección de antígenos de SARS CoV-2 funcionan de manera satisfactoria con muestras de carga viral alta ($Ct \leq 25$ o $>10^6$ copias de genoma por mL). Una forma de evaluación de la sensibilidad para esta clase de pruebas es comprobar si el valor de esta es superior al 90% para muestras con un umbral de ciclo Ct igual o inferior a 28 o 30, ya que se espera que la concentración del virus sea abundante en este tipo de muestras

Puede consultar el texto completo del informe publicado por la Organización Mundial de la Salud, en la siguiente dirección:

<https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica: Límite de detección del test

El límite de detección de biotical SARS CoV-2 Ag Card se ha determinado en 1.25×10^2 UFP/mL nCoV-2019 D614G(S) o 2ng/mL de proteína viral recombinante.

Debido a las peculiaridades de la técnica en los procesos relacionados con la fabricación de materias primas biológicas, es imposible establecer un límite de detección garantizado exacto, por lo que se establece un límite de detección estándar de 2ng/mL y se determina un rango de aceptación entre 4 ng/mL y 0.5 ng/mL.

Sensibilidad y especificidad clínicas para muestras nasofaríngeas

Se ha realizado una validación multicentro con muestras nasofaríngea y comparando los resultados obtenidos por este test (inmunocromatográfico) con un test PCR (técnica de referencia). Las muestras empleadas tenían un valor de $Ct < 28$ (muestras nasofaríngeas con carga viral alta, siendo esta la esperada en las primeras fases en las que aparecen síntomas de la enfermedad, días 5-7 desde el inicio de la enfermedad).

Los resultados fueron los siguientes:

		Técnica de referencia (qPCR Test)		
		+	-	Total
Biotical SARS CoV-2 Ag Card (muestras nasofaríngeas)	+	93	1	94
	-	7	455	462
	Total	100	456	556

<i>Biotical SARS COV-2 Ag Card (muestras nasofaríngeas) vs Técnica de referencia (qPCR)</i>	VALOR MEDIO	95% INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	93,0%	86,1 - 97,1%
ESPECIFICIDAD	99,8%	98,8 - 100%
VPP	98,9%	94,2 - 100%
VPN	98,5%	96,9 - 99,4%
PRECISIÓN	98,6%	97,2 - 99,4%

Sensibilidad y especificidad clínicas para muestras nasales

Se ha realizado una validación con muestras nasales y comparando los resultados obtenidos por este test (inmuno cromatográfico) con un test PCR (técnica de referencia). En este caso, no se ha discriminado las muestras empleadas según su valor de Ct (se han incluido muestras con Ct mayores a 30, con carga viral muy baja, para las que no se recomienda el uso de esta clase de test).

Los resultados fueron los siguientes:

		Técnica de referencia (qPCR Test)		
		+	-	Total
Biotical SARS CoV-2 Ag Card (muestras nasales)	+	129	7	136
	-	27	827	854
	Total	156	834	990

<i>Biotical SARS COV-2 Ag Card (muestras nasales) vs Técnica de referencia (qPCR)</i>	VALOR MEDIO	95% INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	82,7%	75,8 - 88,3%
ESPECIFICIDAD	99,2%	98,3 - 99,7%
VPP	94,9%	89,7 - 97,9%
VPN	96,8%	95,4 - 97,9%
PRECISIÓN	96,6%	95,2 - 97,6%

Si seleccionamos únicamente las muestras con Ct < 28, para las cuales está recomendado el uso de esta clase de test por la Organización Mundial de la Salud, la sensibilidad obtenida aumenta a 96.9% (IC: 91.2 - 99.4%) y la especificidad a 99,2% (IC: 98,3 – 99,7%).

Los resultados obtenidos tanto con muestra nasal como nasofaríngea, indican una alta sensibilidad y especificidad del test, con valores de precisión generales muy altos.

EFECTO HOOK

Biotical SARS COV-2 Ac Card no mostró ningún efecto inhibitor del resultado a concentraciones de hasta 100,000xLoD.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

No se han encontrado interferencias en los resultados del biotical SARS COV2 Ag Card, con las siguientes sustancias y concentraciones.

SUSTANCIA INTERFERENTE	CONCENTRACIÓN (mg/ML)	RESULTADO	SUSTANCIA INTERFERENTE	CONCENTRACIÓN (mg/ML)	RESULTADO
Metronidazole	3,0	Negativo	Ciprofoxacin	0,3	Negativo
Ampicilin	3,0	Negativo	Rifampicin (Rifaldin)	0,3	Negativo
Oseltamivir	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negativo	Phenoxyethylpenicillin potassium	3,0	Negativo
Amantadine	0,3	Negativo	Ambroxol hydrochloride (Mucosan)	0,3	Negativo
Ribavirin	3,0	Negativo	Ebastine (Ebastel)	3,0	Negativo
Codeine (Toseina)	0,2	Negativo	Acetyl salicylic (Adiro)	0,3	Negativo
Benzocaine (Angileptol)	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negativo	Ibuprofen (espidifren)	0,3	Negativo
Cloperastine (Flutox)	0,3	Negativo	Paracetamol (Dolocatil)	5,0	Negativo
Carbocisteine (Iniston mucolítico)	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negativo	Metamizole (Nolotil)	5,0	Negativo
Loratadine	0,3	Negativo	Prednisone	0,3	Negativo
Dexchlorpheniramine (Polaramine)	0,3	Negativo	Omeprazole	$2,0 \cdot 10^{-2}$	Negativo
Loperamide hydrochloride (Fortasec)	0,15	Negativo	Macrogol 3350 (Movicol)	3,0	Negativo
Heparin (Hibor)	350,0 (IU/mL)	Negativo	Lysine Carbocysteinate (Pectox)	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negativo
Almagato (Almax)	3,0	Negativo	Hydroxyzine dihydrochloride	0,3	Negativo
Fosfamyacin (Monurol)	$3,0 \cdot 10^{-3}$	Negativo	Lorazepam	$3,0 \cdot 10^{-3}$	Negativo
Acetylcysteine (Fluimucil)	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negativo	Amoxicillin	3,0	Negativo
Dexketoprofen trometamol (Enantyum)	3,0	Negativo	Mercaptopurine	0,3	Negativo
Hemoglobina humana	5,0 µg/mL	Negativo	Biotine	100,0 µg/mL	Negativo
Calprotectina humana	5,0 µg/mL	Negativo	Human lactoferrin	5,0 µg/mL	Negativo
Transferrina humana	0,5 µg/mL	Negativo	Mucina	5,0	Negativo
Levofloacin	$3,0 \cdot 10^{-2}$	Negativo	Human blood	50,0	Negativo

REACTIVIDAD CRUZADA

Se llevó a cabo una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de biotical SARS-CoV-2 Ag; no se detectó reacción cruzada con organismos, patógenos o sustancias que podrían causar infecciones.

<i>Adenovirus</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella flexneri</i>
Calprotectina humana	<i>Giardia</i>	<i>Norovirus G1</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Norovirus GII</i>	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>Clostridium difficile</i> antigen GDH	Hemoglobina bovina	<i>Rotavirus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium difficile</i> toxin A	Hemoglobina porcina	<i>Salmonella enteritidis</i>	Transferrina humana
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	Hemoglobina humana	<i>Salmonella paratyphi</i> A	Virus Respiratorio Sincitial
<i>Coronavirus strain</i> 229E	<i>Influenza</i> tipo A	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
<i>Coronavirus strain</i> NL63	<i>Influenza</i> tipo B	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9
<i>Coronavirus strain</i> OC43	Lactoferrina humana	<i>Shigella boydii</i>	

Cinco muestras positivas para Coronavirus humano HKU1 fueron probadas en una evaluación externa realizada con el test biotical SARS-CoV-2 Ag card y los resultados obtenidos fueron negativos. Esto sugiere

que no hay reacción cruzada con HKU1. Además, el porcentaje de similitud de la secuencia de la proteína de la nucleocápside de HKU1 con la secuencia de la proteína de la nucleocápside del SARS-CoV-2 es de aproximadamente el 35%, lo que se considera una homología muy baja. Esto sugiere que no hay reacción cruzada con HKU1.

Tres muestras positivas para Rinovirus fueron probadas en una evaluación externa realizada con el test CerTest SARS-CoV-2 y los resultados obtenidos fueron negativos. Esto sugiere que no hay reacción cruzada con Rinovirus.

biotical SARS-CoV-2 Ag Card muestra algo de reacción cruzada con SARS y muy baja con MERS.

NUEVAS VARIANTES DESCUBIERTAS

Recientemente se han descubierto nuevas cepas del virus SARS CoV-2, como las variantes aparecidas en Reino Unido, Brasil o Japón. Estas variantes poseen mutaciones en las secuencias de los genes que codifican para la proteína spike (S), por lo que presentan variaciones en estas proteínas que afectan generalmente a su capacidad de infección.

A consecuencia de estas variaciones, las pruebas diagnósticas que centren su detección en este gen pueden ver alterados su capacidad de sensibilidad frente a estas cepas. Biotical SARS CoV-2 Ag card detecta específicamente regiones antigénicas de la proteína Nucleocápside (NP) por lo que su sensibilidad no debería verse alterada para la detección de estas y otras nuevas variantes del virus con mutaciones en la proteína S.

Además, se han realizado análisis de secuencia in silico para verificar que las regiones mutadas de cada una de las variantes más extendidas queda fuera de la región de detección del test biotical SARS CoV-2 Ag.

VARIANTE	ORIGEN	MUTACIONES EN PROTEINA N (POSICIONES)	¿AFECTA LA REGIÓN OBJETIVO DE LA PRUEBA? (247-364)	CONCLUSIÓN
ALPHA	Reino Unido (VUI 202012/01)	3 (D3L) 235 (S235F)	NO	No debe haber incompatibilidades de detección.
BETA	Sudáfrica (501Y.V2)	205 (T205I)	NO	No debe haber incompatibilidades de detección.
GAMMA	Brasil (GR/501Y.V3 - B.1.1.28)	80 (P80R) 203 (R203K) 204 (G204R)	NO	No debe haber incompatibilidades de detección.
DELTA	India (VUI-21APR-01 - B.1.617.2)	63 (D63G) 203 (R203M) 377 (D377Y)	NO	No debe haber incompatibilidades de detección.
EPSILON	USA GH/452R.V1 (B.1.429)	205 (T205I)	NO	No debe haber incompatibilidades de detección.
OMICRON	Sudáfrica GR/484A.V2 (B.1.1.529)	13 (P12L), 203 (R203K) 204 (G204R), y eliminaciones en 31, 32 and 33 (eliminaciones E, R y S)	NO	No debe haber incompatibilidades de detección.

En todos los casos, el resultado fue que ninguna de las variantes analizadas debería alterar el correcto funcionamiento del test.

SÍMBOLOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS DE IVD



Producto para diagnóstico *in vitro*



Consultar las instrucciones de uso



Almacenar en lugar seco



Fecha de caducidad



Limitación de temperatura



Fabricante



Contiene <n> test

DIL

Diluyente de muestra

LOT

Número de lote

REF

Número de referencia





REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA /

Palestino, G.; García-Silva, I.; González-Ortega, O. and Rosales-Mendoza, S. Can nanotechnology help in the fight against COVID-19? Expert Review of Anti-infective Therapy. <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1776115>. Jun. 2020.

Moeis MR.; Rahayu AP.; Ihsani N. and Pertiwi W. Coronavirus-SARS-CoV-2: Biology and Problems in rRT-PCR Detection. Borneo Journal of Pharmacy. Vol. 3; special Issue 1:136-145. Jun. 2020. <https://doi.org/10.33084/bjop.v3iSpecial-1.1429>

Arnedo-Pena, A.; Sabater-Vidal, S.; Meseguer-Ferrer, N.; Pac-Sa, M. R.; Mañes-Flor, P.; Gascó-Laborda, J. C.; Larrea, R. M.; Tirado-Balaguer, M. D.; Romeu-García, M. A.; Gil-Fortuño, M.; Safont-Adsuara, L.; Blasco, A.; Gomila-Sar, B.; Moreno-Muñoz, M. R. and Bellido-Blasco, J. COVID-19 secondary attack rate and risk factors in household contacts in Castellon (Spain): Preliminary report. Revista Enfermedades Emergentes. 2020;19(2):64-70.

Younes, N.; Al-Sadeq, D. W.; AL-Jighefee, H.; Younes, S.; Al-Jamal, O.; Daas, H. I.; Yassine, H. M. and Nasrallah, G. K. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. Viruses (Multidisciplinary Digital Publishing Institute). 12 (6): 582. <https://doi.org/10.3390/v12060582>. May. 2020.

Rincón, A.; Moreso, F.; López-Herradón, A.; Fernández-Robres, M.A.; Cidraque, I.; Nin, J.; Méndez, O.; López, M.; Pájaro, C.; Satorra, A.; Stuard, S. and Ramos, R. The keys to control a coronavirus disease 2019 outbreak in a haemodialysis unit. Clinical Kidney Journal. 2020: 1–8.

Fragkou, P. C.; Papaevangelou, V.; Antoniadou, A.; Kavvatha, D.; Ploussi, A.; Pantazis N.; Sirmipilantze, T.; Psarrakis, C.; Pournaras, S. A.; Tsiodras, S. and Kelekis, A. Preliminary Data of a Quantitative Point of Care Test for SARS-CoV-2 Antibodies From Greece. In vivo. 34: xxx-xxx (2020).

Ezhilan, M.; Suresh, I. and Nesakumar, N. SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2: A Diagnostic Challenge. Measurement. 168 (2021): 108335. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108335>. Aug. 2020.8.

Antigen detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance. 11 September 2020. World Health Organization.

Public Health England. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant: Technical briefing 1. <https://www.gov.uk/government/publication/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-of-concern-20201201> (Accessed 12/01/2021).

Tegally H et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. medRxiv 2020. F01: 10.1101/2020.12.21.20248640.



Sierra de Guadarrama, 1. Ed. Dublín
28830 San Fernando de Henares. Madrid
Tel.: + 34 91 677 43 08

info@biotical.es
www.biotical.es



biotical health S.L.U.

