



Badanie testów na obecność antygeny SARS-CoV-2 w celu wykrycia wariantów (Delta i Omikron)

Epidemia SARS-CoV-2 ulega ciągłym zmianom, ze zmianami w częstości zakażeń i nowymi wariantami. Oznacza to, że strategie testowania muszą się zmieniać w zależności od możliwości i częstości występowania infekcji. Oczekuje się zatem, że stosowanie testów na obecność antygenów ("testy Kvik") wzrośnie w okresach epidemii o wysokim zapotrzebowaniu na badania, gdy wydajność PCR nie jest wystarczająca. Dlatego ważne jest zapewnienie, aby testy antygenowe stosowane zarówno do użytku profesjonalnego, jak i do samokontroli, były w stanie wykryć warianty SARS-CoV-2, które w danym czasie licznie występują w Danii. Ostatnio pojawiły się wątpliwości, czy wariant Omikron może być wykryty przez stosowane testy antygenowe.

Celem tego badania jest sprawdzenie, czy indywidualne testy antygenów stosowane i wymagane do stosowania w Danii mogą wykryć warianty SARS-CoV-2 obecne w DK.

Przedstawiony test, w SSI, jest prostym, szybkim i laboratoryjnym testem jakościowym, oceniającym, czy każdy test antygenowy może wykryć warianty Delta i Omikron (+/-) porównywalnie z wirusem typu Wildtype (wariant oryginalny, "Wuhan"). Test nie może być zatem traktowany jako ilościowe porównanie wydajności poszczególnych zestawów. Badania takie są prowadzone w dużych próbach klinicznych.

Testowanie odbywa się poprzez porównanie zdolności do wykrywania nowych wariantów (Delta i Omikron) ze zdolnością do wykrywania typu Wildtype przy użyciu serii rozcieńczeń wyhodowanego wirusa rozcieńczonego w pożywce hodowlanej.

W raportowaniu zestawu testowego skuteczność wykrywania wariantów będzie raportowana w odniesieniu do zestawu testowego. Wirus typu Wildtype. Wskaże również, czy jest ona oceniana jako zadowalająca.

SSI zaprasza producentów i importerów testów na obecność antygenów do przesyłania zestawów testów (100 szt.) używanych w Danii do badania w SSI. Po otrzymaniu zestawów testowych, SSI będzie w stanie stosunkowo szybko (1 tydzień od otrzymania testu) poinformować, czy dany test antygenowy będzie w stanie wykryć ewentualny nowy wariant (obecnie Omicron). W przypadku przyszłych nowych wariantów, wymaga to wyizolowania wirusa przez SSI przed wykonaniem testów.

Zestawy testów można przysyłać po wcześniejszym uzgodnieniu terminu do:

Claus Nielsen
Budynek 85, pokój 322
Statens Serum Institut
Artillerivej 5
2300 Kopenhaga S
Dania
e-mail: cn@ssi.dk
Tel: 32683280

Protokół badania SARS-CoV-2 Testy na obecność antygenów w celu wykrycia wariantów (Delta i Omikron)

Izolaty SARS-CoV-2:

Wildtype: szczep SARS-CoV-2/hu/DK/SSI-H5,

Delta: szczep SARS-CoV-2/hu/DK/SSI-H11,

Omikron: szczep SARS-CoV-2/hu/DK/SSI-H46,

Trzy warianty hodowlanego wirusa SARS-CoV-2, Wuhan (typ Wildtype), Delta i Omikron, hodowano w komórkach VERO E6.

W przypadku wystąpienia efektu cytopatycznego w hodowlach komórkowych, medium hodowlane (supernant) zamrażano. Preparaty wirusowe przygotowywano z rozmrożonego i odwirowanego supernatantu przed odłączeniem i przechowywaniem w temperaturze -80C.

Wszystkie warianty miały porównywalne miana zakaźne "dawka zakaźna w hodowli tkankowej (TCID50)".

W dniu badania porcje wszystkich trzech wariantów zostały rozmrożone i rozcieńczone w 10-krotnych seriach rozcieńczeń.

Wariant	Odizoluj się
Wildtype	Szczep SARS-CoV-2/hu/DK/SSI-H5,
Delta	Szczep SARS-CoV-2/hu/DK/SSI-H11,
Omikron	Szczep SARS-CoV-2/hu/DK/SSI-H46,

Metodologia badania testów antygenowych:

W celu kalibracji rozcieńczeń dla każdego zestawu testowego, wariant typu Wildtype został rozcieńczony w pięciu krokach (1:10- 1:100,000). Ponieważ wirus typu Wildtype wykazywał pozytywny sygnał tylko w pierwszych trzech etapach, te trzy rozcieńczenia zostały użyte w dwóch egzemplarzach do oceny wariantów typu Wildtype, Delta i Omikron.

Warianty Delta i Omikron były następnie rozcieńczane w trzech krokach (1:10 -1:1,000). 100 µL rozcieńczonego wirusa było używane jako próbka we wszystkich zestawach testowych. Rozcieńczenia wirusa wykonywano w podłożu do hodowli komórkowych; Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM). Użycie DMEM jako negatywnego medium rozcieńczającego było testowane dla każdego zestawu antygenowego w duplikatach.

Wyniki badań zestawów testowych antygenów dla d.d:

Nazwa badania	Producent/. beg	Wariant	Rozcieńczenie wariantu		
			1:10	1:100	1:1.000
Panbio - COVID-19 Ag RAPID TEST (NASOPHYNGEAL)	Abbott	Wildtype	+	+	-
		Delta	+	+	(+)
		Omikron	+	+	(+)
SARS-COV-2 Rapid Antigen test	Roche	Wildtype	+	+	(+)
		Delta	+	+	(+)
		Omikron	+	+	(+)
Flowflex SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test	Acon Biotech	Wildtype	+	+	+
		Delta	+	+	+
		Omikron	+	+	+
Onsite Covid-19 Ag Rapid Test	CTK Biotech	Wildtype	+	(+)	-
		Delta	+	(+)	-
		Omikron	+	(+)	-

Nazwa badania	Producent/dostawca	Wariant	Rozcieńczenie wariantu		
			1:10	1:100	1:1.000
SARS-COV-2 Rapid Antigen test Nasal	Roche	Wildtype	+	+	(+)
	(Falck)	Delta	+	+	(+)
		Omicron	+	+	(+)
Standard Q, Covid-19 Ag Nasal	SD Biosensor	Wildtype	+	+	-
	(CPH Med)	Delta	+	+	(+)
		Omicron	+	+	(+)
BIOSYNEX COVID-19 Ag BSS	BIOSYNTEX	Wildtype	+	+	(+)
	(Carelink)	Delta	+	+	(+)
		Omicron	+	+	(+)
SARS-COV-2 Antigen Self test Nasal	Roche	Wildtype	+	+	-
		Delta	+	+	(+)
		Omicron	+	+	(+)
Rapid SARS-COV-2 Antigen Test Card	Boson Biotech	Wildtype	+	+	(+)
		Delta	+	+	(+)
		Omicron	+	+	(+)
Covid-Rapid, antygen SARS-COV-2 (N/OP/NP)	api Pharma	Wildtype	+	(+)	-
	(VINGMED/ Vicare)	Delta	+	(+)	-
		Omicron	+	(+)	-

+: pozytywny

(+): słaby wynik dodatni

-: negatywny

Test wykazał ten sam wynik dla wszystkich duplikatów, dlatego też przedstawiono tylko jeden wynik dla każdego rozcieńczenia/wariantu.

Wnioski:

Badanie badanych testów antygenowych wykazuje, że wszystkie testy mogą wykryć zarówno warianty Delta, jak i Omikron na poziomie porównywalnym z typem Wildtype (Wuhan). Różnice w ogólnym poziomie wykrywania wariantów (pozytywne przy różnych rozcieńczeniach), między różnymi testami, mogą być spowodowane różnicami w przydatności stosowania jednolitego podłoża hodowli komórkowej do rozcieńczania wirusa w teście. Tak więc, różnice te nie powinny być interpretowane jako różnice w wydajności testów do wykrywania SARS-CoV-2 w próbkach klinicznych.

Ogólny wniosek jest taki, że testy antygenowe stosowane obecnie w Danii mogą wykrywać zarówno warianty Delta, jak i Omikron.