



Test rapido NADAL® COVID-19 Ag

Test rapido per la rilevazione di antigeni nucleoproteici virali SARS-CoV-2 in campioni rinofaringei e orofaringei umani

Il test NADAL® COVID-19 Ag è un immunodosaggio cromatografico a flusso laterale per la rilevazione qualitativa di antigeni virali SARS-CoV-2 in campioni rinofaringei e orofaringei umani.

Questo test è destinato ad essere utilizzato come aiuto nella diagnosi delle infezioni da SARS-CoV-2. La procedura di test non è automatizzata e non richiede una formazione o una qualifica speciale.

PRINCIPIO DEL TEST

Gli anticorpi anti-SARS-CoV-2 sono immobilizzati nella regione della linea di prova (T) della membrana. Un campione viene aggiunto ad una provetta di estrazione contenente tampone per rilasciare gli antigeni SARS-CoV-2. Durante il test, gli antigeni estratti si legano agli anticorpi anti-SARS-CoV-2 coniugati con particelle colorate e priverstili sul tampone del campione della cassetta del test. La miscela migra poi lungo la membrana cromatograficamente per azione capillare e interagisce con i reagenti sulla membrana. I complessi vengono poi catturati dagli anticorpi anti-SARS-CoV-2 nella regione della linea del test (T). Le particelle colorate in eccesso sono catturate nella regione della linea di controllo (C). La presenza di una linea colorata nella zona della linea di test (T) indica un risultato positivo. L'assenza della linea colorata nella regione della linea del test (T) indica un risultato negativo. La formazione di una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) serve come controllo procedurale, indicando che è stato aggiunto il volume adeguato di campione e che si è verificato un assorbimento della membrana.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI

- 20 test a cassetta NADAL®
- 20 tamponi sterili
- 20 tubi di estrazione incl. Contagocce
- 2 flaconi di soluzione "buffer" (7 mL ciascuna)*
- 1 supporto per reagente
- 1 istruzioni per l'uso

*Buffer contenente i seguenti conservanti: azoturo di sodio: <0,1 mg/mL. Non è richiesta un'etichettatura di pericolo secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 CLP.

ALTRI MATERIALI RICHIESTI

- Timer

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

I kit devono essere conservati a 2-30 °C fino alla data di scadenza. I test a cassetta rimangono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. I test a cassetta vanno conservati nella loro confezione fino al loro utilizzo. Non congelare i kit. Non utilizzare i test oltre la data di scadenza. Non utilizzare in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare a falsi risultati.

CONTROLLO QUALITÀ

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato aggiunto il giusto volume di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente e che sono state applicate le corrette tecniche procedurali. La Buona Pratica di Laboratorio (GLP) raccomanda l'impiego di metodi di controllo al fine di confermare la corretta performance del kit di test.

PREPARAZIONE E RACCOLTA DEL CAMPIONE

Campione orofaringeo:

Inserire delicatamente un tampone sterile nella faringe e raccogliere le secrezioni strofinando più volte il tampone contro la parete faringea posteriore arrossata ed entrambi i pilastri tonsillari. Evitare di toccare la lingua, i denti e le gengive.

Campione nasofaringeo:

- 1) Inserire il tampone nella narice, parallelamente al palato (non verso l'alto) fino a quando non si incontra resistenza o la distanza è equivalente a quella tra l'orecchio e la narice del paziente, indicando il contatto con il rinofaringe.
- 2) Strofinare e arrotolare delicatamente il tampone. Lasciare il Tampone in posizione per alcuni secondi per assorbire le secrezioni.
- 3) Rimuovere lentamente il tampone ruotandolo. I campioni possono essere raccolti da entrambe le narici usando lo stesso tampone, ma non è necessario raccogliere campioni da entrambi i lati se la punta è saturata di liquido della prima raccolta.

Nota bene:

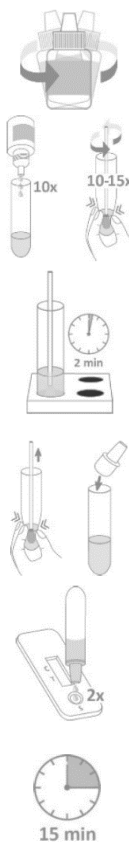
- Utilizzare solo tamponi in fibra sintetica con fusto in plastica. Non utilizzare tamponi di alginato di calcio o tamponi con manico in legno, in quanto possono contenere sostanze che inattivano alcuni virus e inibiscono ulteriori test.
- I tamponi devono essere testati il prima possibile dopo il prelievo. Utilizzare i campioni appena raccolti per ottenere migliori prestazioni.
- Se non vengono testati immediatamente, i tamponi con i campioni possono essere conservati a 2-8° C per 24 ore dopo il prelievo.
- I mezzi di trasporto virale (VTM) senza agenti denaturanti possono essere utilizzati durante la conservazione del campione per il successivo rilevamento dell'antigene con il test NADAL® COVID-19 Ag. Per influenzare la sensibilità il meno possibile, si raccomanda un basso volume di VTM (p.es. 1 mL).
- Non utilizzare campioni palesemente contaminati da sangue, poiché ciò potrebbe interferire con il flusso dei campioni e portare a risultati del test non accurati.



PROCEDURA DEL TEST

Portare i test, i campioni, soluzioni e/o controlli a temperatura ambiente (15-30° C) prima di eseguire il test.

- 1) Posizionare una provetta di estrazione pulita etichettata con l'identificazione del paziente o del controllo nell'area indicata del porta reagente.
- 2) Mescolare delicatamente il tampone agitando con attenzione il flacone.
- 3) Tenendo il flacone del tampone in verticale e senza toccare il bordo della provetta, aggiunge 10 gocce alla provetta di estrazione.
- 4) Inserire il tampone con il campione raccolto nella provetta. Far ruotare il tampone e strizzarlo 10-15 volte comprimendo la parete del tubo di estrazione contro il tampone per estrarre gli antigeni contenuti nel tampone.
- 5) Lasciare riposare la soluzione ottenuta per 2 minuti.
- 6) Rimuovere il tampone, premendo con forza contro la parete della provetta per far uscire più liquido possibile. Eliminare il tampone in conformità con le linee guida per la manipolazione degli agenti infettivi.
- 7) Rimuovere la cassetta dalla busta di alluminio e usarla il prima possibile. Si otterranno i risultati migliori se il test viene eseguito immediatamente dopo l'apertura della confezione. Etichettare il test a cassetta con l'identificativo del paziente o controllo.
- 8) Posizionare il test a cassetta su una superficie piana e pulita.
- 9) Applicare un tappo contagocce alla provetta di estrazione, capovolgere la provetta e trasferire 2 gocce della soluzione estratta nel pozzetto del campione (S) del test a cassetta.
- 10) Avviare il timer.
- 11) Attendere la comparsa delle linee colorate. Leggere il risultato del test entro 15 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 15 minuti.

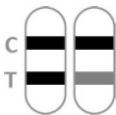


INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Positivo:

Compaiono due linee nella finestra di risultato. Una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) e una linea nella regione della linea del test (T).

Nota: L'intensità del colore nella linea di prova (T) può variare a seconda della concentrazione di antigeni nucleoproteici virali SARS-CoV-2 nel campione. Qualsiasi tonalità di colore nella regione della linea di prova (T) deve essere considerata un risultato positivo. Questo test qualitativo non è in grado di determinare la concentrazione dell'analita nel campione.



Negativo:

Nella regione della linea di controllo (C) appare solo una linea colorata. Nella regione della linea di controllo (T) non appare alcuna linea colorata.

Non valido:

La linea di controllo (C) non appare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta.

Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.



LIMITI DEL TEST

-Il test NADAL® COVID-19 Ag è solo per uso diagnostico professionale in-vitro. Deve essere utilizzato per la rilevazione qualitativa degli antigeni nucleoproteici virali della SARS-CoV-2 solo in campioni rinofaringei e orofaringei umani. Né il valore quantitativo né il tasso di aumento/diminuzione della concentrazione di antigeni nucleoproteici virali della SARS-CoV-2 possono essere determinati con questo test qualitativo.

-Il test NADAL® COVID-19 Ag rileva solo la presenza di antigeni nucleoproteici virali della SARS-CoV-2 nei campioni e non deve essere utilizzato come unico riferimento per una diagnosi di COVID-19

-Con il test NADAL® COVID-19 Ag è possibile rilevare virus SARS-CoV-2 sia vitali che non vitali.

-Le sessioni "Preparazione e Raccolta del Campione" e "Procedura del Test" devono essere seguite attentamente durante le procedure di prova. La mancata osservanza suddette può portare a risultati del test non accurati perché la concentrazione dell'antigene nel tampone dipende strettamente dalla corretta procedura.

-Come per tutti i test diagnostici, tutti i risultati ottenuti andrebbero interpretati in congiunzione con altre informazioni cliniche reperibili dal medico.

-Nel corso dell'infezione da SARS-CoV-2, la concentrazione di antigeni nucleoproteici virali può scendere al di sotto del limite di rilevazione del test

-Se il risultato del test è negativo ma i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire test utilizzando altri metodi clinici di analisi. Un risultato negativo non preclude la possibilità di un'infezione da SARS-CoV-2 e deve essere confermato tramite un test molecolare.

VALORI ATTESI

Le particelle virali SARS-CoV-2 sono normalmente presenti nelle vie respiratorie dei pazienti affetti da COVID-19. Un risultato positivo del test può indicare un'infezione acuta. Le concentrazioni virali nei campioni di tampone nasofaringeo e orofaringeo possono variare nel corso della malattia e possono scendere al di sotto del limite di rilevazione dei test rapidi, anche se i pazienti mostrano ancora i sintomi. Al contrario, il virus potrebbe continuare ad essere rilevabile per lunghi periodi di tempo anche in pazienti convalescenti. Non si può escludere una possibile infettività dei soggetti sottoposti al test in base ai risultati negativi del test.



CARATTERISTICHE TECNICHE

Performance clinica

Sensibilità e specificità diagnostica:

Il test NADAL® COVID-19 Ag è stato valutato con campioni clinici il cui status è stato confermato da RT-PCR (range Ct positivo: 20-37). La sensibilità è stata calcolata per il range di carico virale da alta a media carica virale (Ct 20-30) e da alta a molto bassa carica virale (Ct 20-37). I risultati sono riportati nelle tabelle seguenti.

| Test NADAL® COVID-19 Ag | RT-PCR, Ct 20-30 | | | Totale |
|-------------------------|------------------|----------|--|--------|
| | Positivo | Negativo | | |
| Positivo | 120 | 0 | | 120 |
| Negativo | 3 | 161 | | 164 |
| Totale | 123 | 161 | | 284 |

Sensibilità diagnostica (Ct 20-30): 97,6% (93,1%-99,2%)*

Accordo generale (Ct 20-30): 98,9% (96,9% - 99,6%)*

Specificità diagnostica: >99,9% (97,7% - 100%)*

*95% Accuratezza

| Test NADAL® COVID-19 Ag | RT-PCR, Ct 20-37 | | | Totale |
|-------------------------|------------------|----------|--|--------|
| | Positivo | Negativo | | |
| Positivo | 150 | 0 | | 150 |
| Negativo | 37 | 161 | | 198 |
| Totale | 187 | 161 | | 348 |

Sensibilità diagnostica (Ct 20-37): 80,2% (73,9% - 85,3%)*

Accordo generale (Ct 20-37): 89,4% (85,7% - 92,2%)*

Specificità diagnostica: >99,9% (97,7% - 100%)*

*95% Accuratezza

Per mostrare la forte correlazione della sensibilità diagnostica con la carica virale, la seguente tabella mostra la sensibilità per diversi intervalli di valori Ct della PCR di riferimento:

| Area-Ct | Sensibilità |
|---------|-------------|
| 20 - 25 | 97,12% |
| 20 - 30 | 97,56% |
| 20 - 32 | 96,21% |
| 20 - 35 | 85,71% |
| 20 - 37 | 80,21% |

Si prega di notare che i valori di Ct possono variare tra diversi sistemi di PCR con la stessa concentrazione di virus.

Limiti di rilevazione

Il limite di rilevamento del test NADAL® COVID-19 Ag è di $102,4 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}$ ed è stato determinato con un controllo SARS-CoV-2 con un titolo virale noto.

Il limite di rilevazione del test NADAL® COVID-19 Ag è di $0,4 \text{ ng/mL}$ per la nucleoproteina ricombinante SARS-CoV-2.

Sostanze interferenti

Le seguenti sostanze, normalmente presenti nei campioni respiratori o introdotte artificialmente nel tratto respiratorio, sono state valutate secondo le concentrazioni elencate di seguito e non hanno mostrato alcuna interferenza con il test NADAL® COVID-19 Ag.

| Sostanza | Concentrazione | Sostanza | Concentrazione |
|-------------------------|----------------|---------------------------|----------------|
| 3 spray nasali OTC | 10% | Etere glicerico guaiacolo | 20 mg/mL |
| 3 collutori OTC | 10% | Mucina | 1% |
| 3 gocce per la gola OTC | 10% | Mupirocin | 250 µg/mL |
| 4-acetamidofenolo | 10 mg/mL | Ossimetazolina | 10 mg/mL |
| Acido Acetilsalicilico | 20 mg/mL | Fenilefrina | 10 mg/mL |
| Albuterol | 20 mg/mL | Fenilprop-nolamina | 20 mg/mL |
| Clorfeniramina | 5 mg/mL | Relenza® (zanamivir) | 20 mg/ml |
| Dexamethasone | 5 mg/mL | Rimantadine | 500 ng/mL |
| Destrometorfano | 10 mg/mL | Tamiflu® (oseltamivir) | 100 mg/mL |
| Diphenhydramine | 5 mg/mL | Tobramycin | 40 mg/mL |
| Doxylamine succinate | 1 mg/mL | Triamcinolone | 14 mg/mL |
| Flunisolide | 3 mg/mL | | |

REATTIVITÀ INCROCIATA

Sono stati testati campioni con i seguenti agenti patogeni utilizzando il test NADAL® COVID-19 Ag: MHCov-HKU1, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-229E, virus del morbillo, Streptococcus pneumoniae, virus di Epstein-Barr, Bordetella parapertussis, influenza A (H1N1) pdm09, influenza A (H3N2), influenza A (H5N1), influenza A (H7N9), influenza A (H7N7), influenza B Lignaggio Victoria, Influenza B Lignaggio Yamagata, Haemophilus influenzae, Candida albicans, Micobatterio tubercolosi, virus sinciziale respiratorio, adenovirus, parainfluenza virus tipo 1, 2, 3, metapneumovirus umano, rinovirus, coxsackievirus tipo A16, norovirus, virus della parotite, Legionella pneumophila, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae, Streptococcus gruppo C, Staphylococcus aureus. Non è stata osservata alcuna reattività crociata con i campioni quando sono stati testati con il test NADAL® COVID-19 Ag.

PRECISIONE

Ripetibilità e riproducibilità

La precisione è stata stabilita testando 10 repliche di controlli negativi, positivi bassi e positivi alti.

La riproducibilità è stata stabilita testando triplicati di controlli negativi, bassi e alti positivi. I test sono stati eseguiti da 3 operatori utilizzando 3 lotti indipendenti di test NADAL® COVID-19 Ag in 3 siti diversi in 5 giorni separati.

Il test NADAL® COVID-19 Ag ha dimostrato una ripetibilità e riproducibilità accettabile. I valori negativi e positivi sono stati identificati correttamente in più del 99% dei casi (>99%).