

[USO PREVISTO]

Humasis COVID-19 Ag Test è un test diagnostico in vitro, a fase singola, basato su un test immunocromatografico. È progettato per la rilevazione qualitativa degli antigeni SARS-CoV-2 in campioni di tampone nasofaringeo e nasale di pazienti sintomatici sospettati di COVID-19.

[SINTESI E SPIEGAZIONE]

I Coronavirus sono un gruppo di virus che appartiene alla famiglia Coronaviridae; si tratta di un tipo di virus RNA di 27~32kb che si trova comunemente negli uccelli e nei mammiferi, compreso l'uomo. Il Coronavirus è diviso in quattro generi: alfa, beta, gamma e delta. Il virus provoca malattie che vanno dal comune raffreddore a malattie più gravi come la Sindrome Respiratoria Mediorientale (MERS-CoV) e la Sindrome Respiratoria Acuta Grave (SARS-CoV). La malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) è una malattia causata dal coronavirus 2 della sindrome respiratoria acuta grave (SARS-CoV-2). La malattia ha avuto origine dalla città di Wuhan in Cina nel dicembre 2019. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha pubblicamente chiamato questo virus "COVID-19", dichiarandolo una pandemia nonché un'Emergenza di Sanità Pubblica di Rilevanza Internazionale. L'infezione si diffonde generalmente da una persona all'altra attraverso il contatto diretto o tramite le goccioline respiratorie generate da tosse o starnuti. Il periodo di incubazione che intercorre tra l'esposizione e l'insorgenza dei sintomi varia da uno a quattordici giorni (in media da quattro a sette giorni). I comuni sintomi e segni di infezione includono febbre, tosse, mancanza di respiro e difficoltà respiratorie. Nei casi più gravi, le infezioni possono causare polmonite, sindrome respiratoria acuta grave, insufficienza renale e persino la morte.

A causa della grande varietà di sintomi è difficile distinguere il COVID-19 da altri virus o batteri respiratori esistenti. La diagnosi del COVID-19 attraverso l'isolamento del virus o il rilevamento di geni specifici dai campioni di goccioline respiratorie raccolti è una sfida in termini di tempo e di accessibilità poiché richiede lunghe ore di lavoro, un laboratorio ben attrezzato e una tecnologia avanzata, fattori che spesso non sono disponibili al grande pubblico. Il test è progettato per rilevare l'antigene al SARS-CoV-2 e permette di valutare se un individuo presenta l'antigene del COVID-19 in 15 minuti, con minor dispendio di tempo e di costi.

[PRINCIPIO DEL TEST]

Il test Humasis COVID-19 Ag utilizza anticorpi monoclonali specifici per gli antigeni SARS-CoV-2 per rilevare gli antigeni specifici di COVID-19 in campioni prelevati con tampone nasofaringeo nell'uomo. Una striscia di membrana di nitrocellulosa presente all'interno del dispositivo contiene una linea di test e una linea di controllo. La linea di test è prerivestita di anticorpi monoclonali di tipo anti nucleocapside SARS-CoV-2 e RBD per il rilevamento degli antigeni a SARS-CoV-2, e la linea M è prerivestita di anticorpi IgG anti-tipo di capra. Quando il campione estratto dal tampone viene aggiunto nella cella dedicata al campione, esso migra fino alla cella del coniugato, che contiene anticorpi coniugati con oro colloidale specificamente diretto contro l'antigene di SARS-CoV-2. Se il campione contiene gli antigeni di SARS-CoV-2 si formerà un complesso antigene-anticorpo-coniugato. Il complesso continuerà a migrare attraverso la membrana fino a raggiungere l'area di cattura (linea di test) dove il complesso si legherà agli anticorpi immobilizzati e formerà una banda colorata visibile nella linea di test. Il campione continuerà a spostarsi lungo la membrana fino a raggiungere la linea di controllo dove il coniugato in eccesso si lega e produce una seconda linea visibile. Questa linea di controllo indica che il campione è migrato attraverso la membrana come previsto e che il test è stato eseguito in maniera appropriata.

[CONTENUTO DELLA CONFEZIONE]

- Dispositivi per il test confezionati singolarmente in bustine di alluminio (25 test/scatola)
- Provette monouso con tampone di estrazione (25 pezzi/scatola)
- Tappo-filtro (25 pezzi/scatola)
- Tamponi sterilizzati per la raccolta campioni (25 pezzi/scatola)
- Istruzioni per l'uso (1 pezzo)

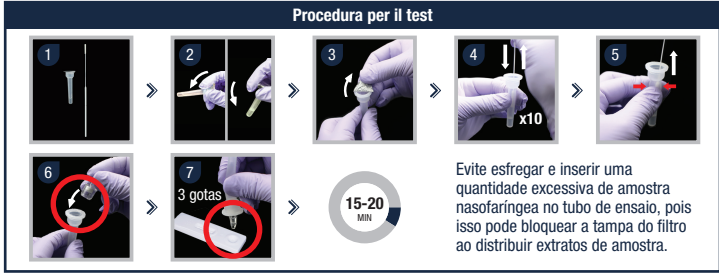
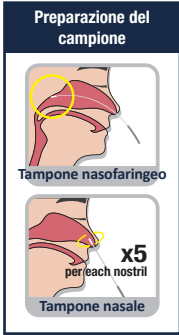
[PROCEDURA DI TEST]

1. Raccolta e conservazione dei campioni:

- Tampone nasofaringeo
 - 1) Utilizzare il tampone incluso nella confezione per raccogliere il campione rinofaringeo.
 - 2) Posizionare il tampone in una delle narici fino a raggiungere una resistenza sulla parete posteriore della rinofaringe; tenerlo inserito per alcuni secondi e ruotare 5 volte sulla superficie della rinofaringe.
 - 3) Il campione raccolto può essere conservato fino a 1 ora a temperatura ambiente e oltre 4 ore in condizioni refrigerate (2 °C-8 °C). Tuttavia, è vivamente raccomandato di testare il campione subito dopo la raccolta per ottenere i migliori risultati.
- Tampone nasale
 - 1) Utilizzare il tampone incluso nella confezione per raccogliere il campione nasale.
 - 2) Inserire il tampone nella narice sinistra fino a 3/4 di pollice e spazolare con decisione contro la parete nasale con movimento circolare 5 volte oppure almeno 15 secondi. Ripetere il procedimento con la narice destra.
 - 3) Il campione raccolto può essere conservato fino a 1 ora a temperatura ambiente e oltre 4 ore in condizioni refrigerate (2 °C-8 °C). Tuttavia, è vivamente raccomandato di testare il campione subito dopo la raccolta per ottenere i migliori risultati.
- Conservazione dei campioni
 - 1) nel caso in cui non si effettui il test del campione subito dopo la raccolta, il campione di tampone deve essere conservato in un mezzo di trasporto virale (VTM) o in un mezzo di trasporto universale (UTM).
 - 2) Il campione di tampone può essere conservato in condizioni refrigerate (C) fino a 12 ore e deve essere congelato a -70 ° C dopo 12 ore.

2. Metodo per il test:

- Tampone nasofaringeo / nasale
 - 1) Preparare la busta di alluminio contenente il dispositivo di test e posizionarlo sulla superficie del test insieme alla provetta e al tappo/filtro. Nel caso in cui test fossero refrigerati, tenerli a temperatura ambiente per 30 minuti fino al raggiungimento della temperatura ambiente.
 - 2) Rilasciare il dispositivo di test dalla custodia in alluminio e posizionarlo su una superficie piana poco prima di iniziare il test.
 - 3) Agitare la provetta verso il basso in modo che il liquido tampone possa accumularsi sul fondo della provetta prima di rimuoverla il tappo sigillato. Inserire la punta del tampone nella provetta e agitare ulteriormente la punta su e giù all'interno della provetta 10 volte per effettuare un'estrazione sufficiente del campione.
 - 4) Rimuovere il tampone stringendo la provetta.
 - 5) Inserire il tappo del filtro sulla provetta e dispensare 3 gocce di estratti di campione (90 ~ 100uL) nell'apposito pozzetto per il campione del dispositivo.
 - 6) Leggere il risultato 15 minuti dopo aver applicato il campione. Non leggere il risultato dopo 20 minuti.



- Tampone nasofaringeo in VTM (Preparare la provetta vuota e la micropipetta prima del test poiché sono necessari ma non forniti con i componenti del KIT)
 - 1) Estrarre il campione dal frigorifero / congelatore e tenerlo a temperatura ambiente per 30 minuti per consentire di raggiungere la temperatura ambiente.
 - 2) Rimuovere il tappo sigillato della provetta, utilizzando la micropipetta, prelevare 50 µL di tampone di estrazione e trasferire nella provetta vuota.
 - 3) Mescolare bene il campione in VTM utilizzando la micropipetta, estrarre 70 uL del campione e trasferire nella provetta preparata al punto 2) quindi mescolare bene.
 - 4) Prendere il dispositivo di test dalla busta di alluminio che lo contiene e posizionarlo su una superficie piana insieme alla provetta e al filtro/tappo. Nel caso in cui i test fossero refrigerati, tenerli a temperatura ambiente per 30 minuti fino al raggiungimento della temperatura ambiente.
 - 5) Rimuovere il dispositivo di test dalla custodia in alluminio e posizionare su una superficie piana poco prima di iniziare il test.
 - 6) Utilizzando la micropipetta, dispensare 100uL del campione preparato nell'apposito pozzetto per il campione del dispositivo di test.
 - 7) Leggere il risultato 15 minuti dopo aver applicato il campione. Non leggere il risultato dopo 20 minuti.



[INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI]

Negativo

Se non appare alcuna linea colorata nell'area di test (T) e una linea colorata è presente nell'area di controllo (C), allora il risultato è negativo.



Non valido

Se non c'è una linea colorata nell'area di controllo (C), il risultato non è valido.



Positivo

Se è visibile una linea colorata nell'area di test (T) e nell'area di controllo (C), il risultato è positivo.



[CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE]

• Limite di rilevazione (LoD)

Il limite di rilevazione (LoD) del test Humasis COVID-19 Ag è 5x10³TCID₅₀/mL.

• Precisione

Sono stati condotti 4 studi individuali: riproducibilità (precisione interna al laboratorio), concordanza tra operatori, concordanza tra lotti, e concordanza tra siti del test rapido Celltrion DiaTrust™ COVID-19 Ag. I risultati dei test confermano performance coerenti all'interno del laboratorio, tra gli operatori, tra i lotti e tra i siti, tutti i risultati hanno mostrato una concordanza del 100% con i risultati attesi.

• Reattività / inclusività

La reattività ai seguenti antigeni ricombinanti in cui ciascun amminoacido importante di Spike RBD era mutato sono stati confermati: SARS-CoV-2 Spike RBD (S477N), SARS-CoV-2 Spike RBD (N501Y), SARS-CoV-2 Spike RBD (L452R), SARS-CoV-2 Spike RBD (E484K) e SARS-CoV-2 Spike RBD (K417N, E484K, N501Y) hanno mostrato reattività a 100pg / mL.

• Reattività crociata

Le sostanze con potenziale reazione crociata elencate sotto non hanno influenzato la performance del test Humasis COVID-19 Ag.

Virus (≥10 ³ PFU/mL)					
1	Coronavirus OC43	6	Human adenovirus 3	11	Parainfluenza 1
2	Coronavirus 229E	7	Human adenovirus 5	12	Parainfluenza 2
3	Coronavirus NL63	8	Human adenovirus 7	13	Parainfluenza 3
4	MERS-coronavirus	9	Respiratory syncytial virus A	14	Parainfluenza 4a
5	Human adenovirus 1	10	Respiratory syncytial virus B	15	Rhinovirus 1
16	Metapneumovirus	17	Human Enterovirus	18	Influenza A H1N1
19	Influenza A H3N2	20	Influenza B		
Bacteria (≥10 ⁶ CFU/mL)					
21	Mycoplasma pneumonia Ag	24	Streptococcus pneumoniae	27	Candida albicans
22	Streptococcus pyogenes	25	Legionella pneumophila	28	Chlamydia pneumoniae
23	Bordetella pertussis	26	Haemophilus influenzae	29	Staphylococcus epidermidis
30	Staphylococcus aureus	31	Enterococcus casseliflavus		
Others (100%)					
32	Pooled human nasal wash – to represent diverse microbial flora in the human respiratory tract				

• Interferenza

Le sostanze potenzialmente interferenti elencate sotto non hanno influenzato la performance del test Humasis COVID-19 Ag.

N.	Sostanze interferenti	Con.	N.	Sostanze interferenti	Con.
1	Whole blood	4%	24	K3-EDTA	20 mg/mL
2	Mucin	0.5%	25	Diphenhydramine hydrochloride	5 mg/mL
3	Chloraseptic	1.5 mg/mL	26	Acetaminophen	199 µmol/L
4	NeilMed NasoGel	5% v/v	27	Acetylsalicylic acid	3.62 mmol/L
5	CVS Nasal drops	15% v/v	28	Ibuprofen	2.425 mmol/L
6	Afrin (Oxymetazoline)	15% v/v	29	Olopatadine hydrochloride	5 mg/mL
7	Sodium cromoglycate (CVS nasal spray, Cromolyn)	15% v/v	30	Hanni Ko-and-Cool Nasal Spray (Chlorpheniramine Maleate 250 mg/ 100 mL, Xylometazoline Hydrochloride 0.1 g/100 mL)	10%(v/v)
8	Zicam	15% v/v	31	Samchundang Narista-S Nasal Spray (Chlorpheniramine Maleate 2.5 mg/mL, Dipotassium Glycyrrhizinate 3 mg/mL, Naphazoline Hydrochloride 0.5 mg/mL)	10%(v/v)
9	Homeopathic (Alkalol)	1:10 dilution	32	Sodium chloride	20 mg/mL
10	Sore throat Phenol Spray	15% v/v	33	Zanamivir	5 mg/mL
11	Tobramycin	5 µg/mL	34	Osetamivir	10 mg/mL
12	Mupirocin	10 mg/mL	35	Artemether-lumefantrine	50 µmol/L
13	Fluticasone Propionate	5% v/v	36	Doxycycline hyclate	70 µmol/L
14	Tamiflu (Oseltamivir Phosphate)	5 mg/mL	37	Quinine	150 µmol/L
15	Albumin, human	3000 mg/dL	38	Lamivudine	1 mg/mL
16	Bilirubin	500 µmol/L	39	Erythromycin	81.6 µmol/L
17	Hemoglobin	500 mg/dL	40	Ciprofloxacin	30.2 µmol/L
18	Cholesterol	20 µmol/L	41	Rheumatoid factor positive plasma	10%(v/v)
19	Triglycerid	1000 mg/dL			
20	Biotin	0.75 mg/mL			
21	Sodium citrate	25 mg/mL			
22	Heparin	100 U/mL			
23	EDTA	5 µmol/L			

[VALUTAZIONE CLINICA]

• Valutazione clinica

Sono stati condotti un totale di 3 studi per la valutazione clinica del test Humasis COVID-19 Ag: studio retrospettivo utilizzando campioni di tampone rinofaringeo, uno studio prospettico utilizzando campioni rinofaringei e uno studio prospettico utilizzando campioni di tampone nasale. La tabella seguente riassume le prestazioni cliniche di Humasis COVID-19 Ag Test confrontato con il test RT-PCR approvato dalla FDA EUA in più siti.

Valutazione clinica	Studio retrospettivo utilizzando campioni di tampone rinofaringeo	Studio prospettico utilizzando campioni rinofaringei	Studio prospettico utilizzando campioni di tampone nasale
Campioni totali (n)	510	530	77
RT-PCR positivi (n)	231	123	43
RT-PCR negativi (n)	279	407	34
Concordanza positivi % (n) (95% CI)	91.3% (211/231) (87.0-94.3%)	93.5% (115/123) (87.7-96.7%)	93.0% (40/43) (81.4-97.6%)
Concordanza positivi % secondo valore ct	Ct ≤ 24 (95% CI)	100% (132/132) (97.2-100%)	100% (63/63) (92.3%-100.0%)
	Ct ≤ 27 (95% CI)	98.8% (161/163) (95.6-99.7%)	98.8% (82/83) (93.5-99.8%)
	Ct ≤ 30 (95% CI)	98.4% (179/182) (95.3-99.4%)	97.0% (96/99) (91.5-99.0%)
	Ct > 30 (95% CI)	65.3% (32/49) (51.3-77.1%)	79.2% (19/24) (59.5-90.8%)
concordanza postivi % secondo giorni dall'insorgenza dei sintomi	0-4 Tage (95% CI)	92.6% (112/121) (86.5-96.0%)	96.3% (78/81) (89.7-98.7%)
	5-7 Tage (95% CI)	85.0% (34/40) (70.9-92.9%)	88.1% (37/42) (75.0-94.8%)
Concordanza negativi % (n) (95% CI)	100% (279/279) (98.6-100%)	99.5% (405/407) (98.2-99.9%)	100% (34/34) (89.8-100%)

* I dati sui giorni dall'insorgenza dei sintomi sono stati raccolti solo nelle coorti di India, Kazakhstan e Algeria per uno studio retrospettivo utilizzando un campione di tampone nasofaringeo.

** I dati relativi al valore Ct e ai giorni dall'insorgenza dei sintomi vengono raccolti per lo studio prospettico utilizzando campioni di tampone nasale.

[PRECAUZIONI E RESTRIZIONI]

- Solo per uso diagnostico in vitro.
- Non utilizzare il dispositivo oltre la data di scadenza.
- Mantenere sigillato sino al momento dell'uso e, una volta aperto, usare immediatamente.
- Non utilizzare il dispositivo di test se la bustina è danneggiata o il dispositivo ha subito grave rottura.
- Non riutilizzare il dispositivo.
- Maneggiare tutti i campioni in modo sicuro poiché sono potenzialmente infettivi.
- Questo test è destinato allo screening iniziale dell'infezione da coronavirus tramite rilevazione dell'antigene del COVID-19, ma non deve essere usato come unico criterio per la determinazione dell'infezione da SARS-CoV-2. Per la diagnosi devono essere usati e tenuti in considerazione altri metodi e informazioni cliniche (segni e sintomi).

[RIFERIMENTI]

- [1] Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. N Engl J Med 2020.
- [2] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet 2020.
- [3] Kang CK, Song KH, Choe PG, et al. Clinical and Epidemiologic Characteristics of Spreaders of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus during the 2015 Outbreak in Korea. J Korean Med Sci 2017; 32:744-9.
- [4] WHO, Novel Coronavirus (2019-nCoV) situation reports. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/> (Accessed at 2 Feb, 2020).