

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test (test cassette)

REF 243301N-20



de	Gebrauchsanweisung	2	pt	Instruções de Utilizaçāo	26
en	Instructions for use	6	cs	Návod k použití	30
fr	Instructions d'utilisation	10	fi	Käyttöohje	34
es	Instrucciones de uso	14	sv	Användarinstruktioner	38
it	Istruzioni per l'uso	18		Symbols	43
pl	Sposób użycia	22		Our Teams	44



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12
47445 Moers
Germany

Moers
Tel: +49 (2841) 99820-0
Fax: +49 (2841) 99820-1

Regensburg
Tel: +49 941 29010-0
Fax: +49 941 29010-50

www.nal-vonminden.com
info@nal-vonminden.com

Directors:
Sandra von Minden
Roland Meißner
Thomas Zander

Commercial reg. Kleve
HRB 5679
Steuer-Nr. 244/133/00130
UST-ID-Nr. DE 189 016 086

1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum qualitativen Nachweis von potenziell neutralisierenden Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben (siehe Punkt 12. „Grenzen des Tests“). Der Test dient als Hilfsmittel zur Beurteilung, ob eine Immunantwort auf das S1-Protein von SARS-CoV-2 stattgefunden hat. Die Testdurchführung ist nicht automatisiert und erfordert keine spezielle Schulung oder Qualifikation. Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test ist nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

COVID-19 (Corona Virus Disease) ist eine Infektionskrankheit, die durch das kürzlich entdeckte Coronavirus SARS-CoV-2 verursacht wird. Die häufigsten Symptome von COVID-19 sind Fieber, trockener Husten, Müdigkeit, Sputumproduktion, Kurzatmigkeit sowie Hals- und Kopfschmerzen. Bei einigen Patienten können Muskelschmerzen, Schüttelfrost, Übelkeit, Nasenverstopfung und Durchfall auftreten. Diese Symptome beginnen allmählich und sind in den meisten Fällen mild. Manche Menschen infizieren sich, entwickeln aber keine Symptome und fühlen sich nicht unwohl. Die meisten Menschen (ca. 80%) erholen sich von der Krankheit, ohne dass sie eine spezielle Behandlung benötigen. Etwa eine von sechs Personen, die sich mit COVID-19 infizieren, wird schwer krank und entwickelt Atembeschwerden. Ältere Menschen und Menschen mit Vorerkrankungen wie Bluthochdruck, Herzproblemen oder Diabetes entwickeln mit größerer Wahrscheinlichkeit einen schweren Krankheitsverlauf.

COVID-19 wird durch Atemwegssekreträtpfchen übertragen, die von infizierten Menschen durch Niesen, Husten oder Sprechen ausgestoßen werden. Diese Tröpfchen können entweder direkt von anderen Menschen aufgenommen werden oder können auch Oberflächen kontaminiieren, die dann für mehrere Tage infektiös sein können. Schätzungen für die Inkubationszeit von COVID-19 liegen zwischen 1 und 14 Tagen, in denen Menschen bereits infektiös sein können ohne Krankheitssymptome aufzuweisen.

3. Testprinzip

Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum qualitativen Nachweis von potenziell neutralisierenden Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben.

Anti-IgM und anti-IgG-Antikörper sind im Testlinienbereich (T) der Membran vorbeschichtet. Während der Testung reagiert die Probe mit Spike-Protein-Antigenen, die mit farbigen Partikeln konjugiert sind. Das Gemisch wandert dann chromatographisch durch Kapillarkräfte der Membran entlang und reagiert mit anti-IgM und anti-IgG-Antikörpern im Testlinienbereich (T) der Membran. Das Vorhandensein einer roten Linie im Testlinienbereich (T) deutet auf ein positives Ergebnis hin. Die Abwesenheit einer roten Linie im Testlinienbereich (T) weist auf ein negatives Ergebnis hin.

Der Farbwechsel von einer blauen zu einer roten Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzuge-

geben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 20 NADAL® COVID-19 S1-NAb Testkassetten*
- 20 Kapillarröhrchen
- 1 Puffer „Buffer“ (3 mL)**
- 1 Gebrauchsanweisung

*Enthält Konservierungsmittel Natriumazid: <0,02% (7,5 ng/Test)

**Phosphatpuffer enthält folgende Konservierungsmittel: Natriumazid: 0,2 mg/mL und Kanamycinsulfat: 0,25 g/L.

Gemäß Verordnung (EC) Nr. 1272/2008 CLP ist keine Gefahrenkennzeichnung erforderlich. Die Konzentrationen sind unterhalb der Freigrenzen.

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter (geeignet für das zu testende Probenmaterial)
- Zentrifuge (nur für Serum- oder Plasmaproben)
- Alkoholpads
- Lanzetten (nur für Vollblutproben aus Fingerpunktion)
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Test-Kits sollten bei 2-30°C bis zum angegebenen Verfallsdatum gelagert werden. Die Testkassetten sind bis zum auf dem Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum stabil. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Test-Kits nicht ein. Verwenden Sie die Tests nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie die Bestandteile des Test-Kits nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Keine Bestandteile des Test-Kits verwenden, wenn die Primärverpackung beschädigt ist.
- Tests sind nur zum Einmalgebrauch bestimmt.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probensammelbehälter verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Verwenden Sie den Puffer nicht, wenn er Verfärbungen oder Trübungen aufweist. Verfärbungen oder Trübungen

können ein Anzeichen für eine mikrobielle Kontamination sein.

- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Gesundheitszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Wenn Proben und Reagenzien vor der Testdurchführung nicht auf Raumtemperatur gebracht werden, kann dies die Sensitivität des Tests verringern. Fehlerhafte oder unsachgemäße Probennahme, Lagerung oder Transport können zu falsch negativen Testergebnissen führen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test kann mit Vollblut (aus Venen- oder Fingerpunktion), Serum oder Plasma durchgeführt werden.

Vollblutprobennahme aus Fingerpunktion

- Waschen Sie die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser oder säubern Sie sie mit einem Alkoholpad. Lassen Sie sie trocknen.
- Massieren Sie die Hand ohne dabei die Einstichstelle zu berühren, indem Sie die Hand abwärts in Richtung der Kuppe des Mittel- oder Ringfingers reiben.
- Stechen Sie die Haut mit einer sterilen Lanzette. Wischen Sie den ersten Blutstropfen ab.
- Reiben Sie vorsichtig die Hand vom Handgelenk zur Handfläche und zum Finger, damit sich auf dem Einstichpunkt ein runder Tropfen bildet.

Vollblutproben aus Fingerpunktion sollten unverzüglich getestet werden.

Vollblutproben aus Venenpunktion

Für die Aufbereitung von venösem Vollblut oder Plasma-Proben sollten Probensammelbehälter mit Antikoagulanzen, wie K₂EDTA, Natriumcitrat, Natriumheparin oder Lithiumheparin verwendet werden.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probennahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum auf.

Venöses Vollblut sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden, wenn der Test innerhalb von 2 Tagen nach Probennahme durchgeführt wird.

Frieren Sie die Vollblutproben nicht ein.

Serum und Plasmaproben

Trennen Sie Serum oder Plasma so schnell wie möglich vom Blut, um eine Hämolyse zu vermeiden. Verwenden Sie nur klare, nicht hämolyzierte Proben.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum auf. Serum- und Plasmaproben können bei 2-8°C bis zu 3 Tage gelagert werden. Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei -20°C gelagert werden.

Bringen Sie Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur. Eingefrorene Proben sollten vor Testdurchführung vollständig aufgetaut und gut gemischt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

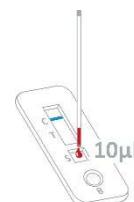
Wenn Proben versendet werden sollen, sollten diese unter Einhaltung von geltenden Vorschriften für den Transport ätiologischer Krankheitserreger verpackt werden.

Ikterische, lipämische, hämolytische, wärmebehandelte oder kontaminierte Proben können zu falschen Testergebnissen führen.

9. Testdurchführung

Bringen Sie alle Tests, Proben, Puffer und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

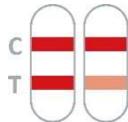
1. Entnehmen Sie die Testkassette dem Folienbeutel und verwenden Sie sie so schnell wie möglich. Die besten Ergebnisse werden erhalten, wenn der Test unverzüglich nach der Öffnung des Folienbeutels durchgeführt wird. Kennzeichnen Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation.
2. Legen Sie die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche.
3. Halten Sie das Kapillarröhrchen senkrecht, saugen Sie damit die Probe (Vollblut/Serum/Plasma) bis zur Fülllinie (ca. 10 µL) auf und geben Sie sie in die Probenvertiefung (S) der Testkassette.
4. Alternativ kann auch eine Mikropipette (10 µL) verwendet werden.
Halten Sie das Pufferfläschchen senkrecht und geben Sie 2 Tropfen Puffer (ca. 80 µL) in die Puffervertiefung (B) der Testkassette. Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen.
5. Starten Sie den Timer.
6. Warten Sie darauf, dass die rote(n) Linie(n) erscheint(en). Werten Sie das Testergebnis nach genau 10 Minuten aus. Nach mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

Positiv

Die blaue Linie im Kontrolllinienbereich (C) färbt sich rot. Eine andere rote Linie erscheint im Testlinienbereich (T).



Hinweis:

Die Farbintensität im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der in der Probe vorhandenen Konzentration der neutralisierenden Antikörper gegen SARS-CoV-2 variieren. Daher sollte jede Farbtönung im Testlinienbereich (T) als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

Negativ

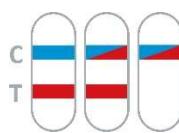
Die blaue Linie im Kontrolllinienbereich (C) färbt sich rot. Keine Linie erscheint im Testlinienbereich (T).



Ungültig

Ergebnisse von den Tests, bei denen die blaue Linie im Kontrolllinienbereich (C) nach der festgelegten Auswertezeit vollständig oder teilweise blau bleibt, müssen verworfen werden. Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.



11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) von blau zu rot wechselnde Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch ausgelegt und sollte nur zum qualitativen Nachweis von potenziell neutralisierenden Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben verwendet werden. Weder der quantitative Wert noch die Steigerungsrate der Konzentration der potenziell

neutralisierenden Antikörper gegen SARS-CoV-2 können mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.

- Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test zeigt nur das Vorhandensein von potenziell neutralisierenden Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in der Probe und sollte nicht als einziges Kriterium zur Beurteilung verwendet werden, ob eine Immunantwort auf das S1-Protein von SARS-CoV-2 stattgefunden hat.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollten alle Ergebnisse im Zusammenhang mit weiterer klinischer Information, die dem Arzt zur Verfügung steht, ausgewertet werden.
- Die fortgesetzte An- oder Abwesenheit von Antikörpern kann nicht zur Bestimmung des Erfolgs oder -versagens einer Behandlung oder Impfung herangezogen werden.
- Ergebnisse von immunsupprimierten Patienten sollten mit Vorsicht ausgewertet werden.
- Ein High-Dose-Hook-Effekt kann auftreten, dabei nimmt die Farbintensität der Testlinien ab, weil die Konzentration von neutralisierenden Antikörpern gegen SARS-CoV-2 zunimmt. Wenn ein High-Dose-Hook-Effekt vermutet wird, kann eine Probenverdünnung die Farbintensität der Testlinien erhöhen.

13. Erwartete Werte

Die Reaktion des menschlichen Immunsystems auf das S1-Protein von SARS-CoV-2 ist mit der Bildung spezifischer Antikörper gegen verschiedene Epitope dieser Proteinuntereinheit verbunden. Nur ein Teil der gebildeten IgM- und IgG-Antikörper wirkt neutralisierend auf SARS-CoV-2-Virionen. IgG-Antikörper können auf das Vorhandensein einer Immunität hindeuten. In manchen Fällen können Antikörper erst spät nach Infektion bzw. Impfung in ausreichender Menge nachgewiesen werden. In Fällen einer ausreichenden angeborenen oder einer ausreichenden zellulären Immunantwort ist auch ein Ausbleiben nachweisbarer Antikörper denkbar.

14. Leistungsmerkmale des Tests

Klinische Leistungsmerkmale

Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test wurde mit klinischen Proben von genesenen sowie gesunden, nicht geimpften Personen im Vergleich zu einem Mikroneutralisationsassay (Cut-Off-Titer 1:20) evaluiert.

Mikroneutralisationsassay			
	Positiv	Negativ	Total
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test			
Positiv	30	0	30
Negativ	0	18	18
Total	30	18	48

Diagnostische Sensitivität: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Diagnostische Spezifität: >99,9% (84,7% - 100,0%)*

Gesamtübereinstimmung: >99,9% (93,9% - 100,0%)*

*95% Konfidenzintervall

Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test wurde mit klinischen Proben von geimpften sowie gesunden, nicht geimpften Personen im Vergleich zu einem Mikroneutralisationsassay (Cut-Off-Titer 1:20) evaluiert.

Mikroneutralisationsassay			
	Positiv	Negativ	Total
Positiv	30	2**	32
Negativ	0	18	18
Total	30	20	50

Diagnostische Sensitivität: >99,9% (91,1% - 100,0%)*

Diagnostische Spezifität: 90,0% (68,3% - 98,8%)*

Gesamtübereinstimmung: 96,0% (86,3% - 99,5%)*

*95% Konfidenzintervall

**Beide falsch positive Proben enthielten niedrige Antikörperkonzentrationen und wurden bei einem Cut-Off-Titer von 1:10 mit dem Mikroneutralisationsassay als positiv erkannt.

In einer Serokonversionsstudie wurden 15 Testpersonen vor der Impfung, 28 Tage nach der ersten Impfung und 12 Tage nach der zweiten Impfung mit einem inaktivierten SARS-CoV-2-Impfstoff unter Verwendung des NADAL® COVID-19 S1-NAb Tests getestet. Vor der ersten Impfung waren alle Testpersonen negativ. Bei 5 Personen konnten nach der ersten Impfung und bei allen 15 Personen nach der zweiten Impfung potenziell neutralisierende Antikörper gegen das S1-Protein von SARS-CoV-2 mit dem NADAL® COVID-19 S1-NAb Test nachgewiesen werden. Alle getesteten Proben wurden mit einem Mikroneutralisationsassay bestätigt.

Die Spezifität des NADAL® COVID-19 S1-NAb Tests wurde mit 208 Serumproben von Juni 2019 (vor COVID-19 Ausbruch) überprüft. Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test erkannte 207 von 208 Proben als richtig negativ und 1 Probe als falsch positiv (Spezifität 99,5%).

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Serumproben von Juni 2019		
	Positiv	1	
	Negativ	207	
	Total	208	

Spezifität: 99,5% (97,5% - 99,9%)*

*95% Konfidenzintervall

Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test wurde mit klinischen Proben von geimpften sowie gesunden, nicht geimpften Personen im Vergleich zu einer ELISA-Methode evaluiert.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	ELISA		
	Positiv	Negativ	Total
	30	0	30
	0	30	30
	30	30	60

Diagnostische Sensitivität: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Diagnostische Spezifität: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Gesamtübereinstimmung: >99,9% (95,1% - 100,0%)*

*95% Konfidenzintervall

Analytische Leistungsmerkmale

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des NADAL® COVID-19 S1-NAb Tests liegt bei 50 ng/mL für neutralisierende Antikörper gegen SARS-CoV-2.

Messbereich

Bei der Testung von Proben mit einer Konzentration neutralisierender Antikörper gegen SARS-CoV-2 von 1 mg/mL wurde keine Beeinträchtigung der Ausbildung der T-Linie (Prozoneneffekt) beobachtet. Somit liegt der Messbereich des Tests zwischen mindestens 50 ng/mL und 1 mg/mL.

Interferierende Substanzen

Die Lösungen der folgenden potenziell interferierenden Substanzen wurden in 2 Versuchsreihen (ohne neutralisierende Antikörper gegen SARS-CoV-2, und versetzt mit neutralisierenden Antikörpern gegen SARS-CoV-2) getestet und zeigten bei den unten aufgelisteten Konzentrationen keine Interferenz mit dem NADAL® COVID-19 S1-NAb Test.

Acetylsalicylsäure	200 mg/L
Albumin	20 g/L
Acetaminophen	200 mg/L
Ascorbinsäure	20 g/L
Bilirubin	10 g/L
Coffein	200 mg/L
Ethanol	1%
Kreatin	2 g/L
Gentisinsäure	200 mg/L
Hämoglobin	10 g/L
Oxalsäure	600 mg/L
Harnsäure	20 g/L
Triglyceride	600 mg/L

Kreuzreakтивität

Anti-Influenza A-Virus-, anti-Influenza B-Virus-, anti-RSV-, anti-Adenovirus-, HBsAb-, anti-Syphilis-, anti-H. pylori-, anti-HIV-, anti-HCV-, HAMA-, MERS-CoV- und Rheumafaktoren-positive Proben wurden mit dem NADAL® COVID-19 S1-NAb Test getestet. Bei der Testung mit dem NADAL® COVID-19 S1-NAb Test wurde keine Kreuzreakтивität mit den Proben beobachtet. Anti-SARS-CoV-positive Proben zeigen eine Kreuzreakтивität mit dem NADAL® COVID-19 S1-NAb Test.

Präzision

Wiederholbarkeit

Die Präzision wurde durch das Testen von 10 Replikaten von negativen Proben und Proben bestimmt, die neutralisierende Antikörper gegen SARS-CoV-2 enthielten.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde durch das Testen von 5 Replikaten einer Positivkontrolle, 8 negativen Serumproben und 5 negativen Vollblutproben bestimmt. Die Testungen wurden an 3 verschiedenen Tagen von 3 Anwendern mit 3 unabhängigen Chargen des NADAL® COVID-19 S1-NAb Tests an 3 verschiedenen Standorten durchgeführt.

Der NADAL® COVID-19 S1-NAb Test zeigte eine akzeptable Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit. Die negativen und positiven Werte wurden in >99% der Fälle richtig bestimmt.

15. Referenzen

- Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
- Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. Adv Virus Res 2011; 81:85-164.
- Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol 2019; 17:181-192.
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. TrendsMicrobiol 2016;24:490-502.

1. Intended Use

The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the qualitative detection of potentially neutralising antibodies to SARS-CoV-2 in human whole blood, serum or plasma specimens (see section 12 'Limitations'). This test is intended for use as an aid in determining whether an immune response to the S1 protein of SARS-CoV-2 has occurred. The test procedure is not automated and requires no special training or qualification. The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

COVID-19 (Corona Virus Disease) is an infectious disease caused by the recently discovered coronavirus SARS-CoV-2. The most common symptoms of COVID-19 are fever, a dry cough, fatigue, sputum production, shortness of breath, a sore throat and headaches. Some patients may have myalgia, chills, nausea, nasal congestion and diarrhoea. These symptoms begin gradually and are mild in most cases. Some people become infected but do not develop any symptoms nor feel unwell. Most people (about 80%) recover from the disease without special treatment. Approximately one in six people who get infected with COVID-19 become seriously ill and develop difficulty breathing. Elderly people, and those with pre-existing conditions, such as high blood pressure, heart problems or diabetes, are more likely to develop serious illness.

COVID-19 is transmitted via respiratory droplets that are exhaled by infected people via coughing, sneezing or talking. These droplets can be inhaled or ingested directly by other people or can contaminate surfaces, which can then remain infectious for several days. Most estimates of the incubation period for COVID-19 range from 1 to 14 days, during which time people might already be infectious without displaying disease symptoms.

3. Test Principle

The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the qualitative detection of potentially neutralising antibodies to SARS-CoV-2 in human whole blood, serum or plasma specimens.

Anti-IgM and anti-IgG antibodies are pre-coated onto the test line region (T) of the membrane. During testing, the specimen reacts with spike protein antigens which are conjugated to coloured particles. The mixture then migrates along the membrane chromatographically by capillary action and reacts with anti-IgM and anti-IgG antibodies in the test line region (T) of the membrane. The presence of a red line in the test line region (T) indicates a positive result. The absence of a red line in the test line region (T) indicates a negative result.

The colour change from a blue line to a red line in the control line region (C) serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 20 NADAL® COVID-19 S1-NAb test cassettes*
- 20 capillary tubes
- 1 buffer (3 mL)**

- 1 package insert

*containing the preservative sodium azide: <0.02% (7.5 ng/test)

**Phosphate buffer containing the following preservatives: sodium azide: 0.2 mg/mL and kanamycin sulfate: 0.25 g/L

No hazard labelling is required according to Regulation (EC) № 1272/2008 CLP, Concentrations are below the exemption threshold.

5. Additional Materials Required

- Specimen collection containers (suitable for specimen material to be tested)
- Centrifuge (for serum or plasma specimens only)
- Alcohol pads
- Lancets (for fingerstick whole blood specimens only)
- Timer

6. Storage & Stability

Test kits should be stored at 2-30°C until the indicated expiry date. Test cassettes are stable until the expiry date printed on the foil pouches. Test cassettes must remain in the sealed foil pouches until use. Do not freeze test kits. Do not use tests beyond the expiry date indicated on the packaging. Care should be taken to protect test kit components from contamination. Do not use test kit components if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to inaccurate results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the packaging.
- Do not use test kit components if the primary packaging is damaged.
- Tests are for single use only.
- Do not add specimens to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection container for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not use the buffer if it is discoloured or turbid. Discolouration or turbidity may be a sign of microbial contamination.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible

pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).

- Temperature can adversely affect test results.
- Failure to bring specimens and reagents to room temperature prior to testing may decrease assay sensitivity. Inaccurate or inappropriate specimen collection, storage or transport may yield false negative test results.
- Used testing materials should be disposed of according to local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test can be performed using whole blood (from venipuncture or fingerstick), serum or plasma.

To collect fingerstick whole blood specimens:

- Wash the patient's hand with soap and warm water or clean it with an alcohol pad. Allow it to dry.
- Massage the hand, without touching the puncture site, by rubbing along the hand towards the fingertip of the middle or ring finger.
- Puncture the skin with a sterile lancet. Wipe away the first drop of blood.
- Gently rub the hand from the wrist to the palm, and then to the finger to form a rounded drop of blood over the puncture site.

Fingerstick whole blood should be tested immediately.

Venipuncture whole blood specimens

Containers containing anticoagulants, such as K₂EDTA, sodium citrate, sodium heparin or lithium heparin should be used for the preparation of venous whole blood or plasma specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time.

If the test is to be run within 2 days of specimen collection, whole blood collected by venipuncture should be stored at 2-8°C.

Do not freeze whole blood specimens.

Serum and plasma specimens

Separate serum or plasma from blood as soon as possible to avoid haemolysis. Use only clear, non-haemolysed specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time. Serum and plasma specimens can be stored at 2-8°C for up to 3 days. For long-term storage, specimens should be kept at -20°C.

Bring specimens to room temperature prior to testing. Frozen specimens should be completely thawed and mixed well prior to testing. Specimens should not be frozen and thawed repeatedly.

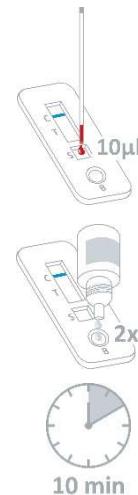
If specimens are to be shipped, they should be packed in compliance with all applicable regulations for the transportation of etiologic agents.

Icteric, lipemic, haemolysed, heat-treated and contaminated specimens may lead to inaccurate test results.

9. Test Procedure

Bring tests, specimens, buffer and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

1. Remove the test cassette from the foil pouch and use it as soon as possible. The best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch. Label the test cassette with the patient or control identification.
 2. Place the test cassette on a clean and level surface.
 3. Holding the capillary tube vertically, draw the specimen (whole blood/serum/plasma) up to the fill line (approximately 10 µL) and add it to the specimen well (S) of the test cassette.
- Alternatively, a micropipette (10 µL) may be used.**
4. Holding the buffer bottle vertically, add 2 drops of buffer (approximately 80 µL) to the buffer well (B). **Avoid air bubbles forming.**
 5. Start the timer.
 6. Wait for the red line(s) to appear. Read the test result after exactly 10 minutes. Do not interpret the result after more than 20 minutes.



10. Result Interpretation

Positive

The blue line in the control line region (C) turns red. Another red line develops in the test line region (T).



Note: The colour intensity in the test line region (T) may vary depending on the concentration of neutralising antibodies to SARS-CoV-2 in the specimen. Therefore, any shade of colour in the test line region (T) should be considered positive. Note that this is a qualitative test only and it cannot determine the analyte concentration in the specimen.

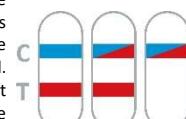
Negative

The blue line in the control line region (C) turns red. No line develops in the test line region (T).



Invalid

Results from any test where the blue line in the control line region (C) remains completely or partially blue at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.



Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for control line failure.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette: The line turning from blue to red in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of external control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test is for professional *in-vitro* diagnostic use only. It should be used for the qualitative detection of potentially neutralising antibodies to SARS-CoV-2 in human whole blood, serum or plasma specimens only. Neither the quantitative value nor the rate of increase in the concentration of potentially neutralising antibodies to SARS-CoV-2 can be determined with this qualitative test.
- The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test only detects the presence of potentially neutralising antibodies to SARS-CoV-2 in specimens and should not be used as the sole criterion for determining whether an immune response to the S1 protein of SARS-CoV-2 has occurred.
- As with all diagnostic tests, all results should be interpreted in conjunction with other clinical information available to the physician.
- The continued presence or absence of antibodies cannot be used to determine the success or failure of treatment or vaccination.
- Results from immunosuppressed patients should be interpreted with caution.
- A high-dose hook effect may occur where the colour intensity of test lines decreases as the concentration of neutralising antibodies to SARS-CoV-2 increases. If a high-dose hook effect is suspected, the dilution of specimens may increase the colour intensity of test lines.

13. Expected Values

The response of the human immune system to the S1 protein of SARS-CoV-2 is connected to the formation of specific antibodies against different epitopes of this protein sub-unit. Only some of the IgM and IgG antibodies formed have a neutralising effect on SARS-CoV-2 virions. IgG antibodies can indicate immunity. In some cases, it can be that antibodies are first present in detectable numbers quite some time after the infection or vaccination has occurred. In cases of a sufficient innate or a sufficient cellular immune response, an absence of detectable antibodies is also possible.

14. Performance Characteristics

Clinical performance

Diagnostic sensitivity and specificity

The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test was evaluated in comparison with a microneutralisation assay (cut-off titer 1:20) using clinical specimens from recovered patients as well as healthy, unvaccinated individuals.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Microneutralisation assay		
	Positive	Negative	Total
	30	0	30
	0	18	18
Total	30	18	48

Diagnostic sensitivity: >99.9% (90.5% - 100.0%)*

Diagnostic specificity: >99.9% (84.7% - 100.0%)*

Overall agreement: >99.9% (93.9% - 100.0%)*

*95% confidence interval

The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test was evaluated in comparison with a microneutralisation assay (cut-off titer 1:20) using clinical specimens from vaccinated as well as healthy, unvaccinated individuals.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Microneutralisation assay		
	Positive	Negative	Total
	30	2**	32
	0	18	18
Total	30	20	50

Diagnostic sensitivity: >99.9% (91.1% - 100.0%)*

Diagnostic specificity: 90.0% (68.3% - 98.8%)*

Overall agreement: 96.0% (86.3% - 99.5%)*

*95% confidence interval

**Both false positive specimens contained low antibody concentrations and were identified as positive using the microneutralisation assay at a cut-off titer of 1:10.

In a seroconversion study, 15 test subjects were tested using the NADAL® COVID-19 S1-NAb Test before vaccination, 28 days after the first vaccination and 12 days after the second vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine. Before the first vaccination, all the test subjects were negative. Potentially neutralising antibodies to the S1 protein of SARS-CoV-2 could be detected using the NADAL® COVID-19 S1-NAb Test in 5 test subjects after the first vaccination and in all 15 test subjects after the second vaccination. All specimens tested were confirmed using the microneutralisation assay. The specificity of the NADAL® COVID-19 S1-NAb Test was evaluated with 208 serum specimens from June 2019 (prior to COVID-19 outbreak). The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test identified 207 out of 208 specimens as true negative and 1 specimen as false positive (specificity 99.5%).

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Serum specimens from June 2019		
	Positive	1	
	Negative	207	
	Total	208	

Specificity: 99.5% (97.5% - 99.9%)*

*95% confidence interval

The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test was evaluated in comparison with an ELISA method using clinical specimens from vaccinated as well as healthy, unvaccinated individuals.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	ELISA		
	Positive	Negative	Total
	30	0	30
	0	30	30
Total	30	30	60

Diagnostic sensitivity: >99.9% (90.5% - 100.0%)*

Diagnostic specificity: >99.9% (90.5% - 100.0%)*

Overall agreement: >99.9% (95.1% - 100.0%)*

*95% confidence interval

Analytical performance

Detection limit

The detection limit of the NADAL® COVID-19 S1-NAb Test is 50 ng/mL for neutralising antibodies to SARS-CoV-2.

Rev. 1, 2021-03-02 OM

Measuring range

No adverse effect on T-line formation (prozone effect) was observed when testing specimens containing a concentration of neutralising antibodies to SARS-CoV-2 as high as 1 mg/mL. Thus, the measuring range of the test is between at least 50 ng/mL and 1 mg/mL.

Interfering substances

Solutions of the following potentially interfering substances were tested in 2 test series (without neutralising antibodies to SARS-CoV-2 and spiked with neutralising antibodies to SARS-CoV-2) and showed no interference with the NADAL® COVID-19 S1-NAb Test at the concentrations listed below.

Acetylsalicylic acid	200 mg/L
Albumin	20 g/L
Acetaminophen	200 mg/L
Ascorbic acid	20 g/L
Bilirubin	10 g/L
Caffeine	200 mg/L
Ethanol	1%
Creatine	2 g/L
Gentistic acid	200 mg/L
Haemoglobin	10 g/L
Oxalic acid	600 mg/L
Uric acid	20 g/L
Triglycerides	600 mg/L

Cross-reactivity

Anti-Influenza A virus, anti-Influenza B virus, anti-RSV, anti-adenovirus, HBsAb, anti-syphilis, anti-*H. pylori*, anti-HIV, anti-HCV, HAMA, MERS-CoV and rheumatoid factors positive specimens were tested using the NADAL® COVID-19 S1-NAb Test. No cross-reactivity with the specimens was observed when tested using the NADAL® COVID-19 S1-NAb Test. Anti-SARS-CoV positive specimens show cross-reactivity with the NADAL® COVID-19 S1-NAb Test.

Precision

Repeatability

Precision was established by testing 10 replicates of negative specimens and specimens positive for neutralising antibodies to SARS-CoV-2.

Reproducibility

Reproducibility was established by testing 5 replicates of a positive control, 8 negative serum specimens and 5 negative whole blood specimens. Testing was performed by 3 operators using 3 independent NADAL® COVID-19 S1-NAb test lots at 3 different sites on 3 separate days.

The NADAL® COVID-19 S1-NAb Test demonstrated acceptable repeatability and reproducibility. The negative and positive values were correctly identified >99% of the time.

15. References

- Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
- Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res* 2011; 81:85-164.
- Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:181-192.
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.

1. Domaine d'application

Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb est un immunodosage chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative d'anticorps potentiellement neutralisants anti-SARS-CoV-2 dans des échantillons de sang total, sérum ou plasma humain (Cf Chapitre 12 : « Limites du test »). Le test est une aide pour déterminer si une réponse immunitaire à la protéine S1 du SARS-CoV-2 s'est produite. Le test n'est pas automatisé et ne nécessite aucune formation ou qualification particulière. Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb est réservé à un usage professionnel.

2. Introduction et signification clinique

La COVID-19 (Corona Virus Disease) est une maladie infectieuse provoquée par le Coronavirus SARS-CoV-2 récemment découvert. Les symptômes les plus courants de la COVID-19 sont : fièvre, toux sèche, fatigue, expectoration, dyspnée, mal de gorge et migraine. Chez certains patients apparaissent aussi douleurs musculaires, frissons, nausées, congestion nasale et diarrhée. Ces symptômes s'installent progressivement et sont bénins dans la plupart des cas. Certaines personnes contractent l'infection mais ne présentent cependant aucun symptôme et ne se sentent pas malades. La plupart des personnes contaminées (environ 80%) se remettent de la maladie sans traitement spécifique. Environ une personne sur six infectée par la COVID-19 tombe gravement malade et développe des difficultés respiratoires. Les personnes âgées et les personnes souffrant d'hypertension artérielle, de problèmes cardiaques ou de diabète sont plus susceptibles de développer une forme sévère de la maladie. Jusqu'à présent, environ 2% des malades sont décédés.

La COVID-19 est transmis via des gouttelettes respiratoires expulsées par les personnes infectées lorsqu'elles éternuent, toussent ou parlent. Ces gouttelettes peuvent être absorbées directement par d'autres personnes ou contaminer des surfaces qui peuvent ensuite être infectieuses pendant plusieurs jours. La période d'incubation de la COVID-19 est estimée de 1 à 14 jours, période pendant laquelle les personnes peuvent être infectées sans présenter de symptômes de la maladie.

3. Principe du test

Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb est un immunodosage chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative d'anticorps potentiellement neutralisants anti-SARS-CoV-2 dans des échantillons de sang total, sérum ou plasma humain.

Les anticorps anti-IgM et anti-IgG sont immobilisées dans la zone de test « T » de la membrane. Pendant le test, l'échantillon réagit avec les antigènes protéine Spike, conjugués à des particules colorées. Le mélange migre par capillarité chromatographique le long de la membrane et réagit avec les anticorps anti-IgM et anti-IgG dans la zone de test « T » de la membrane. La présence d'une ligne rouge dans la zone de test « T » indique un résultat positif. L'absence d'une ligne rouge dans la zone de test « T » indique un résultat négatif.

Le changement de couleur, du bleu au rouge, de la ligne colorée apparaissant dans la zone de contrôle « C » est une procédure de contrôle. Elle indique que le volume

d'échantillon est suffisant et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Réactifs et matériel fournis

- 20 cassettes NADAL® COVID-19 S1-NAb*
- 20 tubes capillaires
- 1 solution tampon « Buffer » (3 mL)**
- 1 notice d'utilisation

*Contient de l'azide de sodium comme conservateur : < 0,02% (7,5 ng/test)

** Tampon de phosphate contenant les conservateurs suivants : azide de sodium : 0,2 mg/mL et sulfate de kanamycine : 0,25 g/L

Selon le règlement européen n° 1272/2008, le CLP, aucun étiquetage de danger n'est requis, les concentrations étant inférieures au seuil fixé.

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Récipient collecteur (adapté à l'échantillon à tester)
- Centrifugeuse (pour les échantillons de sérum ou de plasma uniquement)
- Tampons imprégnés d'alcool
- Lancettes (pour les prélèvements de sang total par ponction du doigt uniquement)
- Chronomètre

6. Recueil et conservation des réactifs

Les kits doivent être conservés entre 2 et 30°C jusqu'à la date de péremption indiquée. Les cassettes sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage d'origine. La cassette de test doit rester dans son emballage d'origine jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler les tests. Ne pas utiliser les tests après la date de péremption figurant sur l'emballage. Protéger les composants du kit de toute contamination. Ne pas utiliser les composants du test s'ils présentent des signes de contamination microbienne ou de précipitation. La contamination biologique des doseurs, récipients et réactifs peut entraîner des résultats erronés.

7. Avertissement et précautions

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Lire la notice d'utilisation attentivement avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après expiration de la date de péremption.
- Ne pas utiliser les composants du kit si l'emballage primaire est endommagé.
- Tests à usage unique.
- Les échantillons ne doivent pas entrer en contact avec la zone réactive (fenêtre de lecture des résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive du test (fenêtre de lecture des résultats) afin d'éviter toute contamination.
- Pour éviter toute contamination croisée, un collecteur d'échantillons dédié doit être utilisé pour chaque échantillon.
- Ne pas interchanger les composants de différents kits.
- Ne pas utiliser le tampon s'il présente une décoloration ou une turbidité. Une décoloration ou une turbidité peut être un signe de contamination microbienne.

- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation des échantillons et des tests.
- Lors de la manipulation des échantillons, porter des vêtements de protection : blouse, gants à usage unique et lunettes de protection.
- Manipuler tous les échantillons comme de potentiels composants infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations, ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et/ou l'état sanitaire des animaux ne garantit pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières infectieuses et sont à manipuler en appliquant les mesures de précaution nécessaires (par ex. éviter d'avaler ou d'inhaler).
- La température peut influencer les résultats du test.
- La sensibilité du test peut être réduite si les échantillons et réactifs n'ont pas été amenés à température ambiante avant l'exécution du test. Un prélèvement des échantillons incorrect ou inapproprié, ainsi que la conservation ou le transport, peuvent conduire à des résultats de test faux négatifs.
- Le matériel utilisé pour la réalisation des tests doit être éliminé selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil, préparation et conservation des prélèvements

Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb s'effectue sur des échantillons de sang total (par ponction veineuse ou du doigt), de sérum ou de plasma.

Échantillons de sang total par ponction du doigt

- Laver la main du patient au savon et à l'eau tiède ou la désinfecter avec un tampon imprégné d'alcool. La laisser sécher.
- Masser la main sans toucher le point de ponction en frottant la main vers le haut du majeur ou de l'annulaire.
- Piquer la peau avec une lancette stérile. Essuyer la première goutte de sang.
- Frotter doucement la main du poignet vers la paume jusqu'au doigt, de sorte qu'une goutte se forme sur le point de ponction.

Les échantillons de sang total par ponction du doigt doivent être analysés immédiatement.

Échantillons de sang total par ponction veineuse

Pour prélever des échantillons de sang total ou de plasma par ponction veineuse, utiliser des récipients collecteurs contenant des anticoagulants tels que K₂EDTA, citrate de sodium, héparine de sodium ou héparine de lithium.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée.

Si le test est effectué dans les 2 jours suivant le prélèvement, le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé entre 2 et 8°C.

Ne pas congeler les échantillons de sang total.

Échantillons de sérum et de plasma

Séparer le sérum ou le plasma du sang dès que possible pour éviter l'hémolyse. Utiliser uniquement des échantillons purs et non hémolysés.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée. Les échantillons de sérum et de plasma peuvent être conservés jusqu'à 3 jours entre 2 et 8°C. Pour une conservation plus longue, ils doivent être conservés à une température de -20°C.

Avant de commencer le test, amener les échantillons à température ambiante. Les échantillons congelés doivent être complètement décongelés et bien mélangés avant la réalisation du test. Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

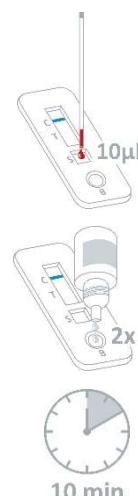
Si des échantillons doivent être expédiés, veiller à les emballer conformément aux réglementations en vigueur concernant le transport des agents pathogènes étiologiques.

Des échantillons icteriques, lipémiques, hémolytiques, traités thermiquement ou contaminés, peuvent fausser les résultats du test.

9. Procédure du test

Amener tous les tests, échantillons, solutions et/ou contrôles à température ambiante (entre 15 et 30°C) avant la réalisation du test.

1. Retirer la cassette de son emballage d'origine et réaliser le test rapidement. Les meilleurs résultats sont obtenus si le test est exécuté immédiatement après ouverture de l'emballage. Incrire sur la cassette le numéro d'identification du patient ou du contrôle.
2. Placer la cassette sur une surface propre et plane.
3. Tenir le tube capillaire à la verticale, aspirer ainsi l'échantillon (sang total/sérum/plasma) jusqu'à la ligne de remplissage (env. 10 µL) et le déposer dans le puits de dépôt de l'échantillon (S) de la cassette.
4. Tenir le flacon de solution tampon à la verticale et déposer 2 gouttes de solution tampon (environ 80 µL) dans le puits de dépôt du tampon (B) de la cassette. **Eviter la formation de bulles d'air.**
5. Démarrer le chronomètre.
6. Attendre que la/les ligne(s) rouge(s) apparaisse(nt). Interpréter le résultat du test après exactement 10 minutes. Ne plus interpréter le résultat du test après plus de 20 minutes.



10. Interprétation des résultats

Positif

La ligne bleue dans la zone de contrôle « C » devient rouge. Une autre ligne rouge apparaît dans la zone de test « T ».



Remarque :

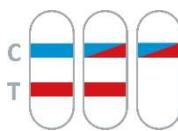
L'intensité de la couleur de la ligne de test « T » peut varier en fonction de la concentration d'anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2 présents dans l'échantillon. Par conséquent, toute apparition de ligne dans la zone de test « T » doit être considérée comme un résultat positif. Notez que ce test est uniquement un test qualitatif et qu'il ne peut déterminer la concentration en analytes dans l'échantillon.

Négatif

La ligne bleue dans la zone de contrôle « C » devient rouge. Aucune ligne n'est visible dans la zone de test « T ».

**Non valide**

Les résultats des tests sur lesquels la ligne bleue dans la zone de contrôle « C » reste entièrement ou partiellement bleue, après le temps d'évaluation imparti, doivent être rejetés. Contrôler la procédure d'exécution du test et renouveler le test avec une nouvelle cassette. Si le problème persiste, ne plus utiliser le kit de test et contacter votre distributeur.



Un volume d'échantillon insuffisant, des tests périmés ou une mauvaise manipulation sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

11. Contrôle qualité

La cassette de test contient un contrôle de procédure interne : Une ligne passant du bleu au rouge au niveau de la zone de contrôle « C » est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume de prélèvement est suffisant, que la manipulation a été effectuée correctement et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les *Bonnes Pratiques de Laboratoire* (BPL) recommandent l'utilisation de matériel de contrôle externe afin de vérifier la performance du kit de test.

12. Limites du test

- Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb est réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel et ne doit être utilisé que pour la détection qualitative d'anticorps potentiellement neutralisants anti-SARS-CoV-2 dans des échantillons de sang total, sérum ou plasma humains. Ce test qualitatif ne permet ni de déterminer la valeur quantitative ni le taux d'augmentation de la concentration d'anticorps anti-SARS-CoV-2.
- Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb indique exclusivement la présence d'anticorps potentiellement neutralisants anti-SARS-CoV-2 dans l'échantillon et ne peut être employé comme seul critère pour déterminer si une réponse immunitaire à la protéine S1 du SARS-CoV-2 s'est produite.
- Comme pour tous les tests de diagnostic, tous les résultats doivent être évalués en lien avec les autres informations cliniques qui sont à la disposition du médecin.

- La présence ou l'absence continue d'anticorps ne peut être utilisée pour déterminer le succès ou l'échec d'un traitement ou d'une vaccination.
- Les résultats des patients immunodéprimés doivent être interprétés avec prudence.
- Un effet crochet peut survenir, l'intensité des lignes de test diminue alors parce que la concentration des anticorps potentiellement neutralisants anti-SARS-CoV-2 augmente. En cas de suspicion d'effet crochet, une dilution des échantillons peut augmenter l'intensité des lignes de test.

13. Valeurs attendues

La réponse du système immunitaire humain à la protéine S1 du SARS-CoV-2 est associée à la formation d'anticorps spécifiques contre différents épitopes de cette sous-unité protéique. Seule une partie des anticorps IgM et IgG formés ont un effet neutralisant sur les virions du SARS-CoV-2. Les anticorps IgG peuvent indiquer la présence d'une immunité. Dans certains cas, les anticorps peuvent n'être détectés en quantité suffisante que tard après l'infection ou la vaccination. En cas de réponse immunitaire innée ou cellulaire suffisante, une absence d'anticorps détectables est également concevable.

14. Performances du test**Performances cliniques****Sensibilité et spécificité diagnostiques**

Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb a été évalué avec des échantillons cliniques provenant d'individus guéris ainsi que d'individus sains non vaccinés, en comparaison avec un test de microneutralisation (titre cut-off 1:20).

	Test de microneutralisation		
	Positif	Négatif	Total
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	30	0	30
Positif	0	18	18
Total	30	18	48

Sensibilité diagnostique : >99,9 % (90,5 % - 100,0 %)*

Spécificité diagnostique : >99,9 % (84,7 % - 100,0 %)*

Concordance totale : >99,9 % (93,9 % - 100,0 %)*

*95 % intervalle de confiance

Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb a été évalué avec des échantillons cliniques provenant d'individus vaccinés ainsi que d'individus sains non vaccinés, en comparaison avec un test de microneutralisation (titre cut-off 1:20).

	Test de microneutralisation		
	Positif	Négatif	Total
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	30	2**	32
Positif	0	18	18
Total	30	20	50

Sensibilité diagnostique : >99,9 % (91,1 % - 100,0 %)*

Spécificité diagnostique : 90,0 % (68,3 % - 98,8 %)*

Concordance totale : 96,0 % (86,3 % - 99,5 %)*

*95 % intervalle de confiance

**Les deux échantillons faux positifs contenaient de faibles concentrations d'anticorps et ont été détectés comme positifs à un titre cut-off de 1:10 par le test de microneutralisation.

Dans une étude de séroconversion, 15 sujets ont été testés avec le test NADAL® COVID-19 S1-NAb avant la vaccination, 28 jours après la première vaccination et 12 jours après la deuxième vaccination avec un vaccin inactif SARS-CoV-2. Avant la première vaccination, tous les sujets étaient négatifs. Des anticorps potentiellement neutralisants contre la protéine S1 du SARS-CoV-2 ont été détectés avec le test NADAL® COVID-19 S1-NAb chez 5 sujets après la première vaccination et chez les 15 sujets après la deuxième vaccination. Tous les échantillons testés ont été confirmés par un test de microneutralisation.

La spécificité du test NADAL® COVID-19 S1-NAb a été évaluée avec 208 échantillons de sérum datés de juin 2019 (avant l'épidémie de COVID-19). Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb a détecté 207 des 208 échantillons comme vrais négatifs et 1 échantillon comme faux positif (spécificité 99,5 %).

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Échantillons de sérum de juin 2019		
	Positif	1	
	Négatif	207	
	Total	208	

Spécificité : 99,5 % (97,5 % - 99,9 %)*

*95 % intervalle de confiance

Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb a été évalué avec des échantillons cliniques provenant d'individus vaccinés et d'individus sains non vaccinés, en comparaison avec une méthode ELISA

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	ELISA			
	Positif	Négatif	Total	
	Positif	30	0	30
	Négatif	0	30	30
	Total	30	30	60

Sensibilité diagnostique : >99,9 % (90,5 % - 100,0 %)*

Spécificité diagnostique : >99,9 % (90,5 % - 100,0 %)*

Concordance totale : >99,9 % (95,1 % - 100,0 %)*

*95 % intervalle de confiance

Performances analytiques

Seuil de détection

Le seuil de détection du test NADAL® COVID-19 S1-NAb est de 50 ng/mL pour les anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2.

Plage de mesure

Lors de l'analyse des échantillons avec une concentration d'anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2 de 1 mg/mL, aucune altération de la formation de la ligne T (effet prozone) n'a été observée. Ainsi, la plage de mesure du test est comprise entre au moins 50 ng/mL et 1 mg/mL.

Substances interférantes

Les solutions des substances potentiellement interférantes suivantes ont été testées dans 2 séries d'essais (sans anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2 et mélangées avec des anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2) et n'ont montré aucune interférence avec le test NADAL® COVID-19 S1-NAb pour les concentrations listées ci-dessous.

Acide acétysalicylique	200 mg/L
Albumine	20 g/L
Acétaminophène	200 mg/L

Acide ascorbique	20 g/L
Bilirubine	10 g/L
Caféine	200 mg/L
Ethanol	1%
Créatine	2 g/L
Acide gentisique	200 mg/L
Hémoglobine	10 g/L
Acide oxalique	600 mg/L
Acide urique	20 g/L
Triglycérides	600 mg/L

Réaction croisée

Des échantillons positifs anti-virus Influenza A, anti-virus Influenza B, anti-RSV, anti-adénovirus, HBsAb, anti-syphilis, anti-*H. pylori*, anti-HIV, anti-HCV, HAMA, MERS-CoV et aux facteurs rhumatoïdes ont été testés à l'aide du test NADAL® COVID-19 S1-NAb. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec les échantillons testés à l'aide du test NADAL® COVID-19 S1-NAb. Les spécimens positifs anti-SARS-CoV présentent une réactivité croisée avec le test NADAL® COVID-19 S1-NAb.

Précision

Répétabilité

La précision a été déterminée en testant 10 reproductions d'échantillons négatifs et d'échantillons positifs en anticorps neutralisants SARS-CoV-2.

Reproductibilité

La reproductibilité a été déterminée en testant 5 répétitions d'un contrôle positif, 8 échantillons de sérum négatifs et 5 échantillons de sang total négatifs. Les tests ont été réalisés par 3 opérateurs utilisant 3 lots indépendants de tests NADAL® COVID-19 S1-NAb sur 3 sites différents et 3 jours distincts.

Le test NADAL® COVID-19 S1-NAb a indiqué une répétabilité et une reproductibilité admissibles. Les valeurs négatives et positives ont été correctement déterminées dans plus de 99% des cas.

15. Bibliographie

1. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
2. Weiss SR, Leibowitz IL. Coronavirus pathogenesis. Adv Virus Res 2011; 81:85-164.
3. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol 2019; 17:181-192.
4. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. TrendsMicrobiol 2016;24:490-502.

Rev. 1, 2021-03-02 AS

1. Uso previsto

El test NADAL® COVID-19 S1-NAb es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos potencialmente neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en muestras humanas de sangre completa, suero o plasma (véase la sección 12 "Limitaciones"). Este test está indicado para ayudar a determinar si se ha producido una respuesta inmune contra la proteína S1 del SARS-CoV-2. El procedimiento de test no está automatizado y no requiere una formación o cualificación especial. El test NADAL® COVID-19 S1-NAb está diseñado solo para uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

La COVID-19 (enfermedad del coronavirus) es la enfermedad infecciosa causada por el recientemente descubierto coronavirus SARS-CoV-2. Los síntomas más comunes de la COVID-19 son fiebre, tos seca, fatiga, producción de espuma, dificultad para respirar, dolor de garganta y dolor de cabeza. Algunos pacientes pueden tener mialgia, escalofríos, náuseas, congestión nasal y diarrea. Estos síntomas comienzan gradualmente y son leves en la mayoría de los casos. Algunas personas se infectan pero no desarrollan ningún síntoma y no se sienten mal. La mayoría de las personas (alrededor del 80%) se recupera de la enfermedad sin un tratamiento especial. Aproximadamente una de cada seis personas que se infectan con COVID-19 se enferma gravemente y desarrolla dificultad para respirar. Las personas mayores y las que tienen condiciones preexistentes, como hipertensión, problemas cardíacos o diabetes, son más propensas a desarrollar enfermedades graves. Hasta ahora, han fallecido alrededor del 2% de las personas infectadas.

La COVID-19 se transmite a través de las gotitas respiratorias que exhalan las personas infectadas al toser, estornudar o hablar. Estas gotitas pueden ser inhaladas o ingeridas directamente por otras personas o pueden contaminar superficies, que luego pueden ser infecciosas durante varios días. La mayoría de las estimaciones sobre el período de incubación de la COVID-19 oscilan entre 1 y 14 días, durante los cuales las personas podrían ser ya infecciosas sin mostrar síntomas de enfermedad.

3. Principio del test

El test NADAL® COVID-19 S1-NAb es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de anticuerpos potencialmente neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en muestras humanas de sangre completa, suero o plasma.

Los anticuerpos anti-IgM y anti-IgG se encuentran recubriendo previamente la región de la línea de test (T) de la membrana. Durante la prueba, la muestra reacciona con antígenos de proteína espiga conjugados con partículas coloreadas. Luego, la mezcla migra a lo largo de la membrana cromatográficamente por acción capilar y reacciona con anticuerpos anti-IgM y anti-IgG en la región de la línea de test (T) de la membrana. La presencia de una línea roja en la región de la línea de test (T) indica un resultado positivo. La ausencia de una línea roja en la región de la línea de test (T) indica un resultado negativo.

El cambio de color de una línea azul a una roja en la región de control (C) sirve como control del procedimiento, indicando

que el volumen de muestra añadido ha sido adecuado y que la membrana se ha empaulado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 test en casete NADAL® COVID-19 S1-NAb *
- 20 tubos capilares
- 1 báfer "Buffer" (3 mL)**
- 1 manual de instrucciones

*Contiene el conservante azida sódica: <0,02% (7,5 ng/test)

**Báfer fosfato que contiene los siguientes conservantes: azida sódica: 0,2 mg/mL y sulfato de kanamicina: 0,25 g/L

No se requiere un etiquetado de riesgos según el Reglamento (CE) № 1272/2008 CLP. Las concentraciones están por debajo del umbral de exención.

5. Materiales adicionales

- Recipientes de recolección de muestras (adequados para el material de muestra que se va a analizar)
- Centrifugadora (solo para muestras de suero o plasma)
- Almohadillas para alcohol
- Lancetas (solo para muestras de sangre completa obtenida por punción digital)
- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacene los kits a 2-30°C hasta su fecha de caducidad. Los cassetes de test se mantienen estables hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Los cassetes de test deben permanecer en sus envases de aluminio hasta su uso. No congele el kit. No utilice los test después de la fecha de caducidad indicada en el envase. Proteja los componentes del kit de test de cualquier contaminación. No utilice los componentes del kit si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo suministrado, recipientes o reactivos puede producir resultados incorrectos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento antes de comenzar el test.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice los componentes del kit de test si el envase original está dañado.
- Los test son de un solo uso.
- No añada muestras en la zona de reacción (región de resultados).
- Evite tocar la zona de reacción (región de resultados) para evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente recolector para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No utilice el báfer si está descolorido o turbio. La decoloración o la turbidez pueden ser un signo de contaminación microbiana.
- No coma, beba o fume en la zona donde se manipulen las muestras y los kits de test.

- Utilice ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Siga las precauciones establecidas para los riesgos microbiológicos en todos los procedimientos y las directrices estándar para la eliminación apropiada de las muestras.
- El kit de test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por ello, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y seguir las medidas de seguridad habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La temperatura puede afectar negativamente a los resultados del test.
- Si no se llevan las muestras y los reactivos a temperatura ambiente antes de la prueba, puede disminuir la sensibilidad del test. La recogida, el almacenamiento o el transporte de muestras incorrectos o inadecuados puede dar lugar a resultados falsos negativos.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

El test NADAL® COVID-19 S1-NAb se puede realizar utilizando sangre completa (de punción venosa o digital), suero o plasma.

Para recolectar muestras de sangre completa obtenidas por punción digital:

- Lave la mano del paciente con jabón y agua templada o límpielo con una almohadilla con alcohol. Déjela secar.
- Realice un masaje en la mano sin tocar el lugar de la punción, frotándola en dirección hacia la punta del dedo medio o anular.
- Pinche la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.
- Frote suavemente desde la muñeca hasta la palma de la mano, y después continúe hasta el dedo para producir una gota redonda de sangre en la zona de punción.

Si la sangre completa se ha obtenido por punción digital se debe realizar el test de forma inmediata.

Muestras de sangre completa obtenida por punción venosa

Para la preparación de muestras de sangre completa venosa o plasma deben utilizarse recipientes que contengan anticoagulantes, como K₂EDTA, citrato de sodio, heparina de sodio o heparina de litio.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos de tiempo prolongados.

Si el test se va a realizar en los 2 días posteriores a la recolección de la muestra, almacene a 2-8°C la sangre completa recolectada por punción venosa.

No congele las muestras de sangre completa.

Muestras de suero y plasma

Separe el suero o plasma de la sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Use solo muestras claras, no hemolizadas.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos de tiempo prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8°C hasta un máximo de 3 días. Si desea almacenarlas durante más tiempo, debe mantenerlas a -20°C.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar el test. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y mezcladas bien antes de realizar el test. Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado de las muestras.

Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones aplicables para el transporte de agentes etiológicos.

Las muestras ictericas, lipémicas, hemolizadas, tratadas térmicamente y contaminadas pueden dar lugar a resultados inexactos en los test.

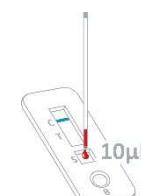
9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, el báfer y/o los controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar el test.

1. Retire el casete de test de su envase de aluminio y utilícelo lo antes posible. Obtendrá los mejores resultados si realiza el test inmediatamente después de abrir el envase. Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control.

2. Coloque el casete de test sobre una superficie limpia y plana.

3. Sosteniendo verticalmente el tubo capilar, extraiga la muestra (sangre total/suero/plasma) hasta la línea de llenado (aproximadamente 10 µL) y agréguela al pocillo (S) para la muestra del casete de test.



Alternativamente, se puede usar una micropipeta (10 µL).

4. Sosteniendo el bote del báfer en posición vertical, añada 2 gotas del báfer (aproximadamente 80 µL) al pocillo del báfer (B). **Evite la formación de burbujas de aire.**



5. Active el cronómetro.

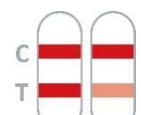
6. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) coloreada(s). Lea el resultado del test a los 10 minutos exactamente. No interprete los resultados después de más de 20 minutos.



10. Interpretación del resultado

Positivo

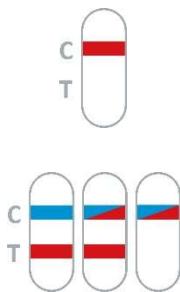
La línea azul en la región de la línea de control (C) se vuelve roja. Otra línea roja se desarrolla en la región de la línea de test (T).



Nota: la intensidad del color en la región de test (T) puede variar dependiendo de la concentración de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de test (T) se debe considerar positiva. Recuerde que este test solo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito presente en las muestras.

Negativo

La línea azul en la región de la línea de control (C) se vuelve roja. No se desarrollan líneas en la región de la línea de test (T).



No válido

Los resultados de cualquier test donde la línea azul en la región de la línea de control (C) permanezca total o parcialmente azul al tiempo de lectura especificado deben ser descartados. Si esto sucede, revise el procedimiento y repita el test con un nuevo casete. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

La línea que pasa del azul al rojo en la región de la línea de control (C) se considera un control de procedimiento interno. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido adecuado, que la membrana se ha empapado suficientemente y que la técnica del procedimiento ha sido correcta.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)* recomiendan el uso de materiales de control externo para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® COVID-19 S1-NAb solo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*. Solo se debe utilizar para la detección cualitativa anticuerpos potencialmente neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en muestras humanas de sangre completa, suero o plasma. Este test cualitativo no detecta ni la cantidad ni el aumento de la concentración de anticuerpos potencialmente neutralizantes contra el SARS-CoV-2.
- El test NADAL® COVID-19 S1-NAb solo detecta la presencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en las muestras y no se debe utilizar como único criterio para determinar si se ha producido una respuesta inmune a la proteína S1 del SARS-CoV-2.
- Al igual que con todos los test de diagnóstico, los resultados obtenidos se deben interpretar conjuntamente con otra información clínica de la que disponga el médico.
- La presencia o ausencia continuada de anticuerpos no se puede utilizar para determinar el éxito o el fracaso del tratamiento o la vacunación.

- Los resultados de pacientes inmunodeprimidos se deben interpretar con cautela.
- Puede producirse un efecto hook de alta dosis cuando la intensidad de color de las líneas de test disminuye a medida que aumenta la concentración de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2. Si se sospecha un efecto hook de alta dosis, la dilución de las muestras puede aumentar la intensidad del color de las líneas de test.

13. Valores esperados

La respuesta del sistema inmunológico humano a la proteína S1 del SARS-CoV-2 está relacionada con la formación de anticuerpos específicos contra diferentes epítopos de esta subunidad proteica. Solo algunos de los anticuerpos IgM e IgG formados tienen un efecto neutralizante sobre los viriones del SARS-CoV-2. Los anticuerpos IgG pueden indicar inmunidad. En algunos casos, puede ser que los anticuerpos estén presentes por primera vez en cantidades detectables bastante tiempo después de que se haya producido la infección o la vacunación. En casos de suficiente respuesta inmune innata o celular suficiente, también es posible la ausencia de anticuerpos detectables.

14. Características del rendimiento

Rendimiento clínico

Sensibilidad y especificidad de diagnóstico

El test NADAL® COVID-19 S1-NAb se evaluó en comparación con un ensayo de microneutralización (título del punto de corte 1:20) utilizando muestras clínicas de pacientes recuperados y de individuos sanos no vacunados.

	Ensayo de microneutralización		
	Positivo	Negativo	Total
Test NADAL® COVID-19 S1-NAb			
Positivo	30	0	30
Negativo	0	18	18
Total	30	18	48

Sensibilidad diagnóstica: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Especificidad diagnóstica: >99,9% (84,7% - 100,0%)*

Concordancia general: >99,9% (93,9% - 100,0%)*

*95% de intervalo de confianza

Se evaluó el test NADAL® COVID-19 S1-NAb en comparación con un ensayo de microneutralización (título de punto de corte 1:20) utilizando muestras clínicas de individuos vacunados y sanos no vacunados.

	Ensayo de microneutralización		
	Positivo	Negativo	Total
Test NADAL® COVID-19 S1-NAb			
Positivo	30	2**	32
Negativo	0	18	18
Total	30	20	50

Sensibilidad diagnóstica: >99,9% (91,1% - 100,0%)*

Especificidad diagnóstica: 90,0% (68,3% - 98,8%)*

Concordancia general: 96,0% (86,3% - 99,5%)*

*95% de intervalo de confianza

**Ambas muestras falsas positivas contenían bajas concentraciones de anticuerpos y se identificaron como positivas usando el ensayo de microneutralización con un título de punto de corte de 1:10.

En un estudio de seroconversión, se analizaron 15 sujetos de test utilizando el test NADAL® COVID-19 S1-NAb antes de la vacunación, 28 días después de la primera vacunación y 12 días después de la segunda vacunación con una vacuna inactivada contra el SARS-CoV-2. Antes de la primera vacunación, todos los sujetos de test dieron negativo. Utilizando el test NADAL® COVID-19 S1-Nab se detectaron anticuerpos potencialmente neutralizantes contra la proteína S1 del SARS-CoV-2 en 5 sujetos de test después de la primera vacunación, y en los 15 sujetos de test después de la segunda vacunación. Todas las muestras analizadas se confirmaron con un ensayo de microneutralización.

Se evaluó la especificidad del test NADAL® COVID-19 S1-NAb con 208 muestras de suero de junio de 2019 (antes del brote de COVID-19). El test NADAL® COVID-19 S1-NAb identificó 207 de 208 muestras como verdaderas negativas y 1 muestra como falso positivo (especificidad 99,5%).

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb	Muestras de suero de junio de 2019	
	Positivo	1
	Negativo	207
	Total	208

Especificidad: 99,5% (97,5% - 99,9%)*

*95% de intervalo de confianza

Se evaluó el test NADAL® COVID-19 S1-NAb en comparación con un método ELISA utilizando muestras clínicas de individuos vacunados y sanos no vacunados.

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb	ELISA		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	0	30
	Negativo	30	30
	Total	30	60

Sensibilidad diagnóstica: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Especificidad diagnóstica: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Concordancia general: >99,9% (95,1% - 100,0%)*

*95% confidence interval

Rendimiento analítico

Límite de detección

El límite de detección del test NADAL® COVID-19 S1-NAb es de 50 ng/mL para anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2.

Rango de medición

No se observó ningún efecto adverso en la formación de la línea T (efecto prozona) cuando se analizaron muestras que contenían una concentración de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 de hasta 1 mg/mL. Por lo tanto, el rango de medición del test está entre al menos 50 ng/mL y 1 mg/mL.

Sustancias interferentes

Se analizaron soluciones de las siguientes sustancias potencialmente interferentes en series de 2 test (sin anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 y enriquecidos con anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2) y no mostraron ninguna interferencia con el test NADAL® COVID-19 S1-NAb a las concentraciones que se indican a continuación.

Ácido acetilsalicílico	200 mg/L
Albúmina	20 g/L
Acetaminofeno	200 mg/L
Ácido ascórbico	20 g/L
Bilirrubina	10 g/L
Cafeína	200 mg/L
Etanol	1%
Creatina	2 g/L
Ácido gentisico	200 mg/L
Hemoglobina	10 g/L
Ácido oxálico	600 mg/L
Ácido úrico	20 g/L
Triglicéridos	600 mg/L

Reacciones cruzadas

Se utilizó el test NADAL® COVID-19 S1-NAb para analizar muestras positivas de anti-virus de Influenza A, anti-virus Influenza B, anti-VRS, anti-adenovirus, HBsAb, anti-sifilis, anti-*H. pylori*, anti-VIH, anti-VHC, HAMA, MERS-CoV y de factores reumátoides. No se observó reactividad cruzada con las muestras cuando se analizaron con el test NADAL® COVID-19 S1-NAb. Las muestras positivas anti-SARS-CoV muestran reactividad cruzada con el test NADAL® COVID-19 S1-NAb.

Precisión

Repetitibilidad

Se estableció la repetitibilidad analizando 10 réplicas de muestras negativas y muestras positivas para anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2.

Reproducibilidad

La reproducibilidad se estableció analizando 5 réplicas de un control positivo, 8 muestras de suero negativas y 5 muestras de sangre completa negativas. Los test fueron realizados por 3 operadores usando 3 lotes de test NADAL® COVID-19 S1-NAb independientes en 3 sitios diferentes en 3 días separados.

El test NADAL® COVID-19 S1-NAb demostró una repetitibilidad y reproducibilidad aceptables. Los valores negativos y positivos se identificaron correctamente en más del 99% de los casos.

15. Referencias

- Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
- Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res* 2011; 81:85-164.
- Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:181-192.
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.

Rev. 1, 2021-03-02 GP

1. Uso previsto

Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb è un test immunologico cromatografico a flusso laterale per la rilevazione qualitativa di anticorpi potenzialmente neutralizzanti della SARS-CoV-2 in campioni umani di sangue intero, siero o plasma (vedere sezione 12 "Limitazioni"). Questo test è destinato all'uso come aiuto per determinare se si è verificata una risposta immunitaria alla proteina S1 della SARS-CoV-2. La procedura di test non è automatizzata e non richiede una formazione o una qualifica speciale. Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb esclusivamente per uso professionale.

2. Introduzione e Significato Clinico

Il COVID-19 (Corona Virus Disease) è la malattia infettiva causata dal coronavirus SARS-CoV-2, recentemente scoperto. I sintomi più comuni di COVID-19 sono febbre, tosse secca, affaticamento, produzione di espettorato, respiro corto, mal di gola e mal di testa. Alcuni pazienti possono avere mal di testa, nausea, congestione nasale e diarrea. Questi sintomi iniziano gradualmente e sono lievi nella maggior parte dei casi. Alcune persone si infettano ma non sviluppano alcun sintomo e non si sentono male. La maggior parte delle persone (circa l'80%) guarisce dalla malattia senza un trattamento speciale. Circa una persona su sei che si infetta con COVID-19 si ammalà gravemente e sviluppa difficoltà respiratorie. Le persone anziane e quelle con condizioni preesistenti, come la pressione alta, problemi cardiaci o diabete, hanno maggiori probabilità di sviluppare una malattia grave.

Il COVID-19 si trasmette attraverso le goccioline respiratorie che vengono espirate dalle persone infette attraverso la tosse, gli starnuti o il parlare. Queste goccioline possono essere inalate o ingerite direttamente da altre persone o possono contaminare le superfici, che possono poi rimanere infette per diversi giorni. La maggior parte delle stime del periodo di incubazione per il COVID-19 vanno da 1 a 14 giorni, durante i quali le persone potrebbero già essere infette senza mostrare i sintomi della malattia.

3. Principio del Test

Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb a immunodosaggio cromatografico a flusso laterale per l'individuazione qualitativa anticorpi sangue intero, siero oppure plasma.

Gli anticorpi anti-IgM e anti-IgG sono pre-rivestiti sulla regione della linea del test (T) della membrana. Durante il test, il campione reagisce con antigeni proteici di punta che sono coniugati a particelle colorate. La miscela migra quindi lungo la membrana cromatograficamente per azione capillare e reagisce con gli anticorpi anti-IgM e anti-IgG nella regione della linea di test (T) della membrana. La presenza di una linea rossa nella regione della linea di test (T) indica un risultato positivo. L'assenza di una linea rossa nella regione della linea di test (T) indica un risultato negativo.

Il cambiamento di colore da una linea blu a una linea rossa nella regione della linea di controllo (C) serve come controllo procedurale, indicando che è stato aggiunto il volume appropriato di campione e che si è verificato il wicking della membrana.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 20 test NADAL® COVID-19 S1-NAb a cassetta*

- 20 provette capillari
- 1 Soluzione "Buffer" (3 mL)**
- 1 foglietto illustrativo

*contenente il conservante sodio azide: <0,02% (7,5 mg/test)

**Tampone fosfato contenente i seguenti conservanti: azoturo di sodio: 0,2 mg/mL e kanamicina solfato: 0,25 g/L

Non è richiesta un'etichettatura di pericolo secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 CLP., Le concentrazioni sono al di sotto della soglia di esenzione.

5. Materiale aggiuntivo richiesto

- Contenitore di raccolta del campione (appropriato per il materiale campione da testare)
- Centrifuga (solo per i campioni di siero oppure plasma)
- Tamponi alcolici
- Lancette (solo per il prelievo di sangue intero mediante puntura del polpastrello)
- Timer

6. 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 test. Non utilizzare i test oltre la data di scadenza. Fare attenzione a proteggere i componenti del kit di prova dalla contaminazione. Non utilizzare in caso di evidente contaminazione micrbiica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare all'ottenimento di falsi risultati.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente la procedura del test prima di eseguirlo.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare componenti del kit di test se l'imballaggio primario è danneggiato.
- Test monouso.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Al fine di evitare la contaminazione non toccare l'area di risultato (result area).
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata utilizzando sempre un nuovo test per ogni campione.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non utilizzare la soluzione se questa dovesse risultare scolorita oppure torbida. Sbiadimento o torbidezza possono essere indicativi di contaminazione micrbiaca.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi micrbiologici.

logici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.

- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- La temperatura può influire negativamente sui risultati dei test.
- Il mancato raggiungimento della temperatura ambiente dei campioni e dei reagenti prima dell'analisi può ridurre la sensibilità del test. La raccolta, la conservazione o il trasporto di campioni non accurati o inappropriati possono dare risultati falsi negativi.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb può essere eseguito utilizzando sangue intero (da venipuntura o da puntura di dita), siero o plasma.

Prelievo del campione di sangue intero tramite puntura del polpastrello:

- Lavare la mano del paziente con sapone ed acqua calda o pulire con alcol la zona da incidere. Fare asciugare.
- Massaggiare la mano del paziente senza toccare la zona del prelievo sfregando la mano verso il basso in direzione del dito medio o dell'anulare.
- Incidere la punta del dito utilizzando un bisturi sterile. Asciugare la prima goccia di sangue.
- Sfregare leggermente la mano del paziente dal polso al palmo fino al dito inciso affinché si formi una nuova goccia di sangue.

I campioni raccolti tramite puntura del polpastrello andrebbero testati immediatamente.

Campioni di sangue intero, prelievo venoso

I contenitori con anticoagulanti, come K₂EDTA, citrato di sodio, eparina di sodio o eparina di litio devono essere utilizzati per la preparazione di campioni di sangue intero venoso o di plasma.

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo.

Se il test viene eseguito entro 2 giorni dalla raccolta del campione, il sangue intero raccolto tramite prelievo venoso va conservato a 2-8°C.

Non congelare i campioni di sangue intero.

Campioni di siero e plasma

Separare siero e plasma immediatamente al fine di evitare emolisi. Utilizzare solo campioni chiari non emolizzati.

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo. Campioni di siero e plasma possono essere conservati tra 2-8°C per un massimo di 3 giorni. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C.

Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire il test. I campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati adeguatamente prima di eseguire il test. Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni.

Se i campioni devono essere spediti devono essere imbustati in conformità con tutti i regolamenti applicabili per il trasporto di agenti eziologici.

I campioni itterici, lipemici, emolizzati, trattati termicamente e contaminati possono portare a risultati imprecisi del test.

9. Procedura del Test

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

- 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.

- Posizionare il test a cassetta su una superficie piana e pulita.

- Tenendo la provetta capillare verticalmente, prelevare il campione (sangue intero/siero/plasma) fino alla linea di riempimento (circa 10 µL) e aggiungerlo al pozzetto del campione (S) della cassetta del test.

In alternativa, si può utilizzare una micropipetta (10 µL).

- Tenendo la bottiglia del tampone in verticale, aggiungere 2 gocce di tampone (circa 80 µL) al pozzetto del tampone (B). Evitare la formazione di bolle d'aria.

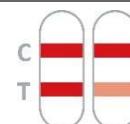
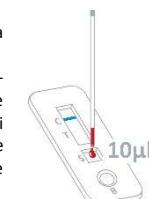
- Avviare il timer.

- Attendere la comparsa delle linee colorate. Leggere il risultato del test entro 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 20 minuti.

10. Interpretazione dei risultati

Positivo

La linea blu nella regione della linea di controllo (C) diventa rossa. Un'altra linea rossa si sviluppa nella regione della linea di prova (T).



Nota: L'intensità del colore nella regione della linea del test (T) può variare a seconda della concentrazione di anticorpi neutralizzanti della SARS-CoV-2 nel campione. Pertanto, qualsiasi sfumatura di colore nell'area della linea del test (T) va considerata come indicativa di risultato positivo. Questo test qualitativo non è in grado di determinare la concentrazione dell'analita nel campione.

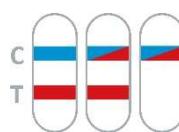
Negativo

La linea blu nella regione della linea di controllo (C) diventa rossa. Nessuna linea si sviluppa nella regione della linea di prova (T).



Invalido

Risultati di qualsiasi test in cui la linea blu nella regione della linea di controllo (C) rimane completamente o parzialmente blu nel tempo di lettura specificato devono essere scartati. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



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.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea che passa dal blu al rosso nella regione della linea di controllo (C) è considerata 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.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb è esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*. Deve essere usato solo per la rilevazione qualitativa di anticorpi potenzialmente neutralizzanti contro la SARS-CoV-2 in campioni di sangue intero, siero o plasma umano. Con questo test qualitativo non è possibile determinare né il valore quantitativo né il tasso di aumento della concentrazione di anticorpi potenzialmente neutralizzanti contro la SARS-CoV-2.
- Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb rileva solo la presenza di anticorpi potenzialmente neutralizzanti contro la SARS-CoV-2 nei campioni e non deve essere utilizzato come unico criterio per determinare se si è verificata una risposta immunitaria alla proteina S1 della SARS-CoV-2.
- Come per tutti i test diagnostici, tutti i risultati ottenuti andrebbero interpretati in congiunzione con altre informazioni cliniche reperibili dal medico.
- La presenza continua oppure l'assenza degli anticorpi non può essere utilizzata per determinare il successo o il fallimento della terapia.
- I risultati provenienti da pazienti immunodepressi vanno interpretati con cura.
- Un effetto hook ad alta dose può verificarsi quando l'intensità del colore delle linee di test diminuisce all'aumentare della concentrazione di anticorpi neutralizzanti contro la SARS-CoV-2. In caso di sospetto di effetto hook, la diluizione dei campioni potrebbe aumentare l'intensità di colore della linea del test.

13. Valori attesi

La risposta del sistema immunitario umano alla proteina S1 della SARS-CoV-2 è legata alla formazione di anticorpi specifici contro diversi elementi di questa sottounità proteica. Solo alcuni degli anticorpi IgM e IgG formati hanno un effetto neutralizzante sui virioni SARS-CoV-2. Gli anticorpi IgG possono indicare l'immunità. In alcuni casi, può essere che gli anticorpi siano presenti per la prima volta in numeri rilevabili molto tempo dopo che l'infezione o la vaccinazione si è verificata. Nei casi di una sufficiente risposta immunitaria innata o cellulare, è possibile anche un'assenza di anticorpi rilevabili.

14. Caratteristiche Tecniche**Performance clinica****Sensibilità e Specificità diagnostica:**

Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb è stato valutato in confronto con un test di microneutralizzazione (titolo cut-off 1:20) utilizzando campioni clinici di pazienti guariti e di individui sani e non vaccinati.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Test di microneutralizzazione		
	Positivo	Negativo	Totale
	30	0	30
	0	18	18
Totale	30	18	48

Sensibilità diagnostica: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Specificità diagnostica: >99,9% (84,7% - 100,0%)*

Andamento complessivo: >99,9% (93,9% - 100,0%)*

*95% Accuratezza

Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb è stato valutato in confronto con un test di microneutralizzazione (titolo cut-off 1:20) utilizzando campioni clinici di individui vaccinati e sani, non vaccinati.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Test di microneutralizzazione		
	Positivo	Negativo	Totale
	30	2**	32
	0	18	18
Totale	30	20	50

Sensibilità diagnostica: >99,9% (91,1% - 100,0%)*

Specificità diagnostica: 90,0% (68,3% - 98,8%)*

Andamento complessivo: 96,0% (86,3% - 99,5%)*

*95% Accuratezza

**Entrambi i campioni falsi positivi contenevano basse concentrazioni di anticorpi e sono stati identificati come positivi utilizzando il test di microneutralizzazione con un rapporto di cut-off di 1:10.

In uno studio di sieroconversione, 15 soggetti sono stati testati utilizzando il test NADAL® COVID-19 S1-NAb prima della vaccinazione, 28 giorni dopo la prima vaccinazione e 12 giorni dopo la seconda vaccinazione con un vaccino inattivato SARS-CoV-2. Anteriormente alla prima vaccinazione, tutti i soggetti del test erano negativi. Anticorpi potenzialmente neutralizzanti verso la proteina S1 del SARS-CoV-2 hanno potuto essere rilevati utilizzando il test NADAL® COVID-19 S1-NAb in 5 soggetti dopo la prima vaccinazione e in tutti i 15 soggetti

dopo la seconda vaccinazione. Tutti i campioni testati sono stati confermati utilizzando il test di microneutralizzazione. La specificità del test NADAL® COVID-19 S1-NAb è stata valutata con 208 campioni di siero del giugno 2019 (prima dello scoppio del COVID-19). Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb ha identificato 207 dei 208 campioni come veri negativi e 1 campione come falso positivo (specificità 99,5%).

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Campioni di siero del giugno 2019	
	Positivo	1
	Negativo	207
	Totale	208

Specificità: 99,5% (97,5% - 99,9%)*

*95% Accuratezza

Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb è stato valutato in confronto con un metodo ELISA utilizzando campioni clinici di individui vaccinati e sani, non vaccinati.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	ELISA			
	Positivo	Negativo	Totale	
	Positivo	30	0	30
	Negativo	0	30	30

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	ELISA		
	Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	30	0

Sensibilità diagnostica: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Specificità diagnostica: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Andamento complessivo: >99,9% (95,1% - 100,0%)*

*95% Accuratezza

Prestazioni analitiche

Limits di rilevazione

Il limite di rilevamento del test NADAL® COVID-19 S1-NAb è di 50 ng/mL per gli anticorpi neutralizzanti della SARS-CoV-2.

Campo di misurazione

Non è stato osservato alcun effetto negativo sulla formazione della linea T (effetto prozona) quando si sono testati campioni contenenti una concentrazione di anticorpi neutralizzanti di SARS-CoV-2 fino a 1 mg/mL. Pertanto, l'intervallo di misurazione del test è compreso tra almeno 50 ng/mL e 1 mg/mL.

Sostanze interferenti

Le soluzioni delle seguenti sostanze potenzialmente interferenti sono state testate in 2 serie di test (senza anticorpi neutralizzanti della SARS-CoV-2 e con anticorpi neutralizzanti della SARS-CoV-2) e non hanno mostrato alcuna interferenza con il test NADAL® COVID-19 S1-NAb alle concentrazioni elencate di seguito.

Acido Acetilsalicilico	200 mg/L
Albumina	20 g/L
Acetaminofene	200 mg/L
Acido Ascorbico	20 g/L
Bilirubina	10 g/L
Caffeina	200 mg/L
Etanolo	1%
Creatina	2 g/L
Acido Gentisico	200 mg/L
Emoglobina	10 g/L
Acido Ossalico	600 mg/L
Acido Urico	20 g/L
Trigliceridi	600 mg/L

Reazione crociata

I campioni anti-influenza A, anti-influenza B, anti-RSV, antiadenovirus, HBsAb, anti-sifilide, anti-H. pylori, anti-HIV, anti-HCV, HAMA, MERS-CoV e fattori reumatoidi positivi sono stati testati utilizzando NADAL® COVID-19 S1-NAb Test. Non è stata osservata alcuna reazione crociata con i campioni quando sono stati testati con il test NADAL® COVID-19 S1-NAb. I campioni positivi al test anti-SARS-CoV mostrano una reazione crociata con il test NADAL® COVID-19 S1-NAb .

Precisione

Ripetibilità

La precisione è stata stabilita testando 10 repliche di campioni negativi e campioni positivi per gli anticorpi neutralizzanti della SARS-CoV-2.

Riproducibilità

La riproducibilità è stata stabilita testando 5 repliche di un controllo positivo, 8 campioni di siero negativo e 5 campioni di sangue intero negativo. I test sono stati eseguiti da 3 operatori utilizzando 3 lotti di test NADAL® COVID-19 S1-NAb indipendentemente in 3 siti diversi in 3 giorni separati.

Il test NADAL® COVID-19 S1-NAb ha dimostrato una ripetibilità e riproducibilità accettabile. I valori negativi e positivi sono stati identificati correttamente in più del 99% dei casi.

15. Bibliografia

1. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
2. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res* 2011; 81:85-164.
3. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:181-192.
4. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.

Rev. 1, 2021-03-02 FV

1. Zastosowanie

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb to chromatograficzny test immunologiczny z bocznym przepływem służący do jakościowego wykrywania potencjalnie neutralizujących przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 w próbce ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza (patrz punkt 12 „Ograniczenia”). Ten test ma na celu pomóc w określeniu, czy wystąpiła odpowiedź immunologiczna na białko S1 SARS-CoV-2. Procedura testowa nie jest zautomatyzowana i nie wymaga specjalnego szkolenia ani kwalifikacji. Test NADAL® COVID-19 S1-NAb jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

COVID-19 (koronawirus) to choroba zakaźna wywoływaną przez niedawno odkrytego koronawirusa SARS-CoV-2. Najczęstsze objawy COVID-19 to gorączka, suchy kaszel, zmęczenie, wydzielanie plwociny, duszność, ból gardła i głowy. Niektórzy pacjenci mogą mieć ból mięśni, dreszcze, nudności, przekrwienie, błony śluzowej nosa i biegunkę. Objawy te pojawiają się stopniowo i w większości przypadków są łagodne. Niektórzy ludzie zarażają się, ale nie mają żadnych objawów ani nie czują się źle. Większość ludzi (około 80%) zdrowieje bez specjalnego leczenia. Około jedna na sześć osób zarażonych COVID-19 poważnie zachoruje i będzie miała trudności z oddychaniem. Osoby starsze i osoby z wcześniej istniejącymi schorzeniami, takimi jak wysokie ciśnienie krwi, problemy z sercem lub cukrzycą, są bardziej narażone na wystąpienie poważnych powikłań.

COVID-19 jest przenoszony przez kropelki oddechowe, które są wydychane przez osoby zakażone poprzez kaszel, kichanie lub rozmowę. Kropelki te mogą być wydychane lub społywane bezpośrednio przez inne osoby lub mogą zaniechać się powierzchnie, które mogą następnie pozostawać zakażne przez kilka dni. Większość szacunków dotyczących okresu inkubacji COVID-19 wynosi od 1 do 14 dni, podczas których ludzie mogą już być zakażni bez objawów choroby.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb to chromatograficzny test immunologiczny z bocznym przepływem służący do jakościowego wykrywania potencjalnie neutralizujących przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 w ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osoczu.

Przeciwciała przeciwko-IgM i przeciwko-IgG są wstępnie powlekane na obszarze linii testowej (T) membrany. Podczas badania próbka reaguje z antygenami S (ang. spike, białko kolca), które są sprzążone z zabarwionymi cząsteczkami. Mieszanina następnie migruje wzduż membrany metodą chromatografii kapilarnej i reaguje z przeciwciałami przeciwko-IgM i przeciwko-IgG w obszarze testowym (T) membrany. Obecność czerwonej linii w obszarze testowym (T) wskazuje na wynik pozytywny. Brak czerwonej linii w obszarze testowym (T) wskazuje na wynik ujemny.

Zmiana koloru z niebieskiej linii na czerwoną w obszarze kontrolnym (C) służy jako kontrola proceduralna, wskazująca, że dodano odpowiednią objętość próbki i nastąpiło wystarczające naszczerzenie membrany.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 20 kaset testowych NADAL® COVID-19 S1-NAb *
 - 20 kapilar
 - 1 bufor „Buffer” (3 mL)**
 - 1 instrukcja obsługi
- * zawiera konserwant azydek sodu: <0,02% (7,5 ng/test)
- ** Bufor fosforanowy zawierający następujące konserwenty: azydek sodu: 0,2 mg/mL i siarczan kanamycyny: 0,25 g/L

Zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008 CLP nie jest wymagane oznakowanie zagrożeń. Stężenia są poniżej dopuszczalnego limitu.

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemniki do pobierania próbek (odpowiednie dla materiału próbki, który ma być badany)
- Wirówka (tylko dla próbek surowicy lub osocza)
- Gaziki nasączone alkoholem
- Nakłuwacze (tylko dla próbek krwi pełnej pobranych z palca)
- Stopery

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe należy przechowywać w temperaturze 2–30°C do wskazanej daty ważności. Kasety testowe zachowują stabilność do daty ważności wydrukowanej na opakowaniach foliowych. Kasety testowe muszą pozostać w zamkniętych opakowaniach foliowych do czasu użycia. Nie zamrażać zestawów testowych. Nie należy używać testów po upływie terminu ważności podanego na opakowaniu. Należy uważać, aby chronić elementy zestawu testowego przed zanieczyszczeniem. Nie używać składników zestawu testowego, jeśli istnieją dowody na zanieczyszczenie mikrobiologiczne lub wytrącanie. Biologiczne zanieczyszczenie sprzętu dożąjącego, pojemników lub odczynników może prowadzić do niedokładnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Należy dokładnie przeczytać procedurę testową przed przystąpieniem do testowania.
- Nie używać testu po upływie daty ważności podanej na opakowaniu.
- Nie używać składników zestawu testowego, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Testy przeznaczone są do jednorazowego użytku.
- Nie dodawać próbek do obszaru reakcji (obszaru wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie dotykać obszaru reakcji (obszaru wyniku).
- Unika kontaminacji krzyżowej próbek, używając nowego pojemnika na każdą otrzymaną próbkę.
- Nie zastępować, ani nie mieszać składników z różnych zestawów testowych.
- Nie używać buforu, jeśli jest odbarwiony lub mętny. Odbarwienie lub zmęczenie mogą być oznaką zanieczyszczenia mikrobiologicznego.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbками lub testem.

- Podczas badania próbek należy nosić odzież ochronną, taką jak fartuch laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne.
- Ze wszystkimi próbками obchodzić się tak, jakby zawierały czynniki zakaźne. Przestrzegać ustalonych środków ostrożności dotyczących zagrożeń mikrobiologicznych we wszystkich procedurach i standardowych wytycznych dotyczących prawidłowej utylizacji próbek.
- Zestaw testowy zawiera produkty pochodzącego zwierzęcego. Poświadczona wiedza o pochodzeniu i/lub stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantuje braku przenośnych czynników chorobotwórczych. Dlatego zaleca się traktowanie tych produktów jako potencjalnie zakaźnych i obchodzenie się z nimi zgodnie ze standardowymi środkami ostrożności (np. nie polycać ani nie wdychać).
- Temperatura może niekorzystnie wpływać na wyniki testu.
- Niedoprowadzenie próbek i odczytników do temperatury pokojowej przed wykonaniem testu może zmniejszyć czułość testu. Niedokładne lub nieodpowiednie pobieranie, przechowywanie lub transport próbek może dawać fałszywie ujemne wyniki testu.
- Użyte materiały testowe należy utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami.

8. Pobranie, przygotowanie i przechowywanie próbki

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb można przeprowadzić przy użyciu pełnej krwi (pobranej z żyły lub opuszki palca), surowicy lub osocza.

Aby pobrać próbkę krwi pełnej z palca:

- Umyć dłoń pacjenta ciepłą wodą z mydłem lub wyczyścić gazikiem nasączonym alkoholem. Pozwolić wyschnąć.
- Masować dłoń, nie dotykając miejsca nakłucia, pocierając ją w kierunku czubka palca śródkowego lub serdecznego.
- Nakłuć skórę sterylnym nakluwaczem. Zetrzeć pierwszą kroplę krwi.
- Delikatnie pocierać dłoń od nadgarstka przez wewnętrzną powierzchnię dłoni, a następnie do palca, aby utworzyć zaokrągloną kroplę krwi na miejscu nakłucia.

Krew pełną z opuszką palca należy natychmiast zbadać.

Próbki krwi pełnej żyłnej

Do przygotowania żyłnej krwi pełnej lub osocza należy używać pojemników zawierających antykoagulanty, takie jak K₂EDTA, cytrynian sodu, heparyna sodowa lub heparyna litowa.

Test należy wykonać natychmiast po pobraniu próbki. Nie pozostawiać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas.

Jeśli test ma być wykonany w ciągu 2 dni od pobrania próbki, krew pełną pobraną przez nakłucie żyły należy przechowywać w temperaturze 2–8°C.

Nie zamrażać próbek krwi pełnej.

Próbki surowicy i osocza

Jak najszybciej oddzielić surowicę lub osocze od krwi, aby uniknąć hemolizy. Używać tylko klarownych, niehemolizowanych próbek.

Test należy wykonać natychmiast po pobraniu próbki. Nie pozostawiać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas. Próbki surowicy i osocza można przechowywać

w temperaturze 2–8°C do 3 dni. W przypadku długotrwałego przechowywania próbki należy przechowywać w temperaturze -20°C.

Przed badaniem doprowadzić próbki do temperatury pokojowej. Zamrożone próbki muszą zostać完全 rozmrózone i dobrze wymieszać przed wykonaniem badania. Próbek nie należy wielokrotnie zamrażać i rozmrażać.

Jeśli próbki mają zostać wysłane, należy je zapakować zgodnie ze wszystkimi obowiązującymi przepisami dotyczącymi transportu czynników etiologicznych.

Ikteryczne, lipemiczne, zhemolizowane, poddane obróbce cieplnej i zanieczyszczone próbki mogą prowadzić do niedokładnych wyników testu.

9. Przeprowadzenie testu

Przed wykonaniem testu doprowadzić testy, próbki, bufor i/lub kontrolę do temperatury pokojowej (15–30°C).

- Wyjąć kasetę testową z opakowania foliowego i użyć jej tak szybko, jak to możliwe. Najlepsze wyniki zostaną uzyskane, jeśli test zostanie wykonany natychmiast po otwarciu opakowania foliowego. Oznaczyć kasetę testową identyfikacją pacjenta lub kontrolą.
- Umieść kasetę testową na czystej i równej powierzchni.
- Trzymać kapilarę pionowo, pobrać próbkę (krew pełna/surowica/osocze) do linii wypełnienia (około 10 µL) i dodać ją do zagłębiania na próbce (S) kasety testowej.
Alternatywnie można użyć mikropipety (10 µL).
- Trzymając butelkę z buforem pionowo, dodać 2 krople buforu (około 80 µL) do zagłębiania na bufor (B). **Unikać tworzenia się pęcherzyków powietrza.**
- Włączyć stoper.
- Poczekać, aż pojawią się czerwone linie. Odczytać wynik testu dokładnie po 10 minutach. Nie interpretować wyniku po upływie więcej jak 20 minut.



10. Interpretacja wyników

Pozitwowy

Niebieska linia w obszarze linii kontrolnej (C) zmienia kolor na czerwony. Kolejna czerwona linia pojawia się w obszarze linii testowej (T).



Uwaga: Intensywność koloru w obszarze linii testowej (T) może się różnić w zależności od stężenia neutralizujących przeciwiał przeciwko SARS-CoV-2 w próbce. Dlatego każdy odcień koloru w obszarze linii testowej (T) należy uznać za pozytywny. Należy zauważać, że jest to test wyłącznie jakościowy i nie może określić stężenia analitu w próbce.

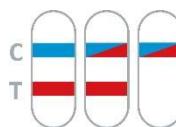
Negatywny

Niebieska linia w obszarze linii kontrolnej (C) zmienia kolor na czerwony. Nie pojawia się linia w obszarze linii testowej (T).



Nieużywany

Wyniki testu, w którym niebieska linia w obszarze linii kontrolnej (C) pozostaje całkowicie lub częściowo niebieska w określonym czasie odczytu, należy odrzucić. W takim przypadku należy ponownie zapoznać się z procedurą przeprowadzania testu i przeprowadzić badanie przy użyciu nowego testu. Jeżeli problem powtórzy się, należy zaprzestać używania testu i skontaktować się z dystrybutorem.



Niewystarczająca objętość próbki, nieprawidłowa procedura obsługi lub przeterminowane testy to najbardziej prawdopodobne przyczyny niepojawienia się linii kontrolnej.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę:

linia zmieniająca się z koloru niebieskiego na czerwony w obszarze linii kontrolnej (C) jest uważana za wewnętrzną kontrolę proceduralną. Potwierdza dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające naszczerzenie membrany.

Dobra praktyka laboratoryjna (GLP) zaleca stosowanie zewnętrznych materiałów kontrolnych w celu zapewnienia prawidłowego działania zestawu testowego.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® COVID-19 S1-NAb jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*. Powinien być stosowany do jakościowego wykrywania potencjalnie neutralizujących przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 wyłącznie w próbках ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza. Za pomocą tego testu jakościowego nie można określić ani wartości ilościowej, ani szybkości wzrostu stężenia potencjalnie neutralizujących przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2.
- Test NADAL® COVID-19 S1-NAb wykrywa jedynie obecność potencjalnie neutralizujących przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 w próbках i nie powinien być stosowany jako jedynie kryterium do określenia, czy wystąpiła odpowiedź immunologiczna na białko S1 SARS-CoV-2.
- Podobnie jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, wszystkie wyniki należy interpretować w połączeniu z innymi informacjami klinicznymi dostępnymi dla lekarza.
- Ciągła obecność lub brak przeciwciał nie może być podstawą do określenia powodzenia lub niepowodzenia leczenia lub szczepienia.
- Wyniki uzyskane u pacjentów z immunosupresją należy interpretować z ostrożnością.
- Efekt High-Dose-Hook może wystąpić, gdy intensywność koloru linii testowych zmniejsza się wraz ze wzrostem stężenia neutralizujących przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2. Jeśli podejrzewa się efekt High-Dose-Hook, rozcięcie próbek może zwiększyć intensywność koloru linii testowych.

13. Oczekiwane wartości

Odpowiedź ludzkiego układu odpornościowego na białko S1 SARS-CoV-2 jest związana z tworzeniem specyficznych

przeciwciał przeciwko różnym epitopom tej podjednostki białka. Tylko niektóre z utworzonych przeciwciał IgM i IgG mają działanie neutralizujące na wiriony SARS-CoV-2. Przeciwciała IgG mogą wskazywać na odporność. W niektórych przypadkach może się zdarzyć, że przeciwciała pojawiają się po raz pierwszy w wykrywalnych ilościach po jakimś czasie po wystąpieniu infekcji lub szczepienia. W przypadku dostatecznej wrodzonej lub wystarczającej komórkowej odpowiedzi immunologicznej możliwy jest również brak wykrywalnych przeciwciał.

14. Wydajność

Wydajność kliniczna

Czułość i swoistość diagnostyczna

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb został oceniony w porównaniu z testem mikroneutralizacji (miano odciecia 1:20) przy użyciu próbek klinicznych od pobranych pacjentów, jak również od zdrowych, niezaszczepionych osób.

Test mikroneutralizacji				
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test		Pozytywny	Negatywny	Suma
	Pozytywny	30	0	30
	Negatywny	0	18	18
	Suma	30	18	48

Czułość diagnostyczna: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Swoistość diagnostyczna: >99,9% (84,7% - 100,0%)*

Ogólna zgodność: >99,9% (93,9% - 100,0%)*

*95% przedział ufności

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb został oceniony w porównaniu z testem mikroneutralizacji (miano odciecia 1:20) przy użyciu próbek klinicznych od zaszczepionych, jak również zdrowych, niezaszczepionych osób.

Test mikroneutralizacji				
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test		Pozytywny	Negatywny	Suma
	Pozytywny	30	2**	32
	Negatywny	0	18	18
	Suma	30	20	50

Czułość diagnostyczna: >99,9% (91,1% - 100,0%)*

Swoistość diagnostyczna: 90,0% (68,3% - 98,8%)*

Ogólna zgodność: 96,0% (86,3% - 99,5%)*

*95% przedział ufności

** Obie próbki fałszywie dodatnie zawierały niskie stężenia przeciwciał i zostały zidentyfikowane jako pozytywne przy użyciu testu mikroneutralizacji przy mianie odciecia 1:10.

W badaniu serokonwersji 15 badanych osób badano za pomocą testu NADAL® COVID-19 S1-NAb przed szczepieniem, 28 dni po pierwszym szczepieniu i 12 dni po drugim szczepieniu inaktywowaną szczepionką SARS-CoV-2. Przed pierwszym szczepieniem wszystkie osoby badane były negatywne. Potencjalnie neutralizujące przeciwciała przeciwko białku S1 SARS-CoV-2 można było wykryć za pomocą testu NADAL® COVID-19 S1-NAb u 5 osób po

pierwszym szczepieniu i u wszystkich 15 badanych po drugim szczepieniu. Wszystkie badane próbki zostały potwierdzone za pomocą testu mikroneutralizacji.

Swoistość testu NADAL® COVID-19 S1-NAb oceniono na 208 próbках surowicy od czerwca 2019 r. (przed wybuchem COVID-19). Test NADAL® COVID-19 S1-NAb zidentyfikował 207 z 208 próbek jako prawdziwie ujemnych, a 1 próbce jako fałszywie dodatnią (swoistość 99,5%).

NADAL® COVID-19 S1-Nab Test		Próbki surowicy z czerwca 2019 r
	Pozitwny	1
	Negatywny	207
	Suma	208

Swoistość: 99,5% (97,5% - 99,9%)*

*95% przedział ufności

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb oceniano w porównaniu z metodą ELISA przy użyciu próbek klinicznych od zaszczepionych, jak również od zdrowych, niezaszczepionych osób.

NADAL® COVID-19 S1-Nab Test	ELISA		
	Pozitwny	Negatywny	Suma
	30	0	30
	0	30	30
	30	30	60

Czułość diagnostyczna: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Swoistość diagnostyczna: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Ogólna zgodność: >99,9% (95,1% - 100,0%)*

*95% przedział ufności

Wydajność analityczna

Granica wykrywalności

Granica wykrywalności testu NADAL® COVID-19 S1-NAb wynosi 50 ng/mL dla neutralizacji przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2.

Skala

Nie zaobserwowano niekorzystnego wpływu na tworzenie linii T (efekt prozony) podczas badania próbek zawierających stężenie neutralizujących przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 do 1 mg/mL. Zatem zakres pomiarowy testu wynosi od co najmniej 50 ng/mL do 1 mg/ml.

Substancje interferujące

Roztwory następujących potencjalnie interferujących substancji zostały przebadane w 2 seriach testów (bez neutralizujących przeciwciał na SARS-CoV-2 i wzboagacone neutralizującymi przeciwciałami na SARS-CoV-2) i nie wykazały interferencji z testem NADAL® COVID-19 S1-NAb w stężeniach wymienionych poniżej.

Kwas acetylosalicylowy	200 mg/L
Albumina	20 g/L
Paracetamol	200 mg/L
Kwas askorbinowy	20 g/L
Bilirubina	10 g/L
Kofeina	200 mg/L
Etanol	1%
Kreatyna	2 g/L
Kwas gentyzynowy	200 mg/L
Hemoglobina	10 g/L

Kwas szczawiowy	600 mg/L
Kwas moczowy	20 g/L
Triglicerydy	600 mg/L

Reakcje krzyżowe

Za pomocą testu NADAL® COVID-19 S1-NAb przebadano pozytywne próbki anti-Influenza A virus, anti-Influenza B virus, anti-RSV, anti-adenovirus, HBsAb, anti-syphilis, anti-H. pylori, anti-HIV, anti-HCV, HAMA, MERS-CoV oraz czynniki reumatoidalne. Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej z próbками podczas testowania za pomocą testu NADAL® COVID-19 S1-NAb. Próbki dodatnie na obecność przeciwciał przeciwko SARS-CoV wykazują reaktywność krzyżową z testem NADAL® COVID-19 S1-NAb.

Precyzyjność

Powtarzalność

Precyzyjność została ustalona poprzez przetestowanie 10 powtórzeń próbek ujemnych i próbek pozytywnych pod względem neutralizacji przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2.

Odtwarzalność

Powtarzalność ustalono, testując 5 powtórzeń kontroli dodatniej, 8 ujemnych próbek surowicy i 5 ujemnych próbek krwi pełnej. Testy zostały przeprowadzone przez 3 operatorów przy użyciu 3 niezależnych partii testowych NADAL® COVID-19 S1-NAb w 3 różnych miejscach przez 3 różne dni.

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb wykazał akceptowną powtarzalność i odtwarzalność. Wartości ujemne i dodatnie zostały poprawnie zidentyfikowane w> 99% przypadków.

15. Bibliografia

1. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
2. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis, Adv Virus Res 2011; 81:85-164.
3. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses, Nat Rev Microbiol 2019; 17:181-192.
4. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses, TrendsMicrobiol 2016;24:490-502.

Rev. 1, 2021-03-02 AM

1. Uso Previsto

O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb é um imunoensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa de anticorpos potencialmente neutralizantes para o SARS-CoV-2 em amostras de sangue total, soro ou plasma humano (consulte a secção 12 'Limitações'). Este teste destina-se a ser usado como um auxiliar na determinação da ocorrência de uma resposta imune à proteína S1 do SARS-CoV-2. O procedimento de teste não é automatizado e não requer treino ou qualificação especial. O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb foi desenvolvido apenas para uso profissional.

2. Introdução e Significado Clínico

COVID-19 (doença do coronavírus) é uma doença infecciosa causada pelo coronavírus SARS-CoV-2 recentemente descoberto. Os sintomas mais comuns da COVID-19 são febre, tosse seca, fadiga, produção de expectoração, falta de ar, dor de garganta e dores de cabeça. Alguns pacientes podem ter mialgia, calafrios, náuseas, congestão nasal e diarreia. Estes sintomas começam gradualmente e são leves na maioria dos casos. Algumas pessoas ficam infectadas, mas não desenvolvem nenhum sintoma nem se sentem mal. A maioria das pessoas (cerca de 80%) recupera da doença sem tratamento especial. Aproximadamente uma em cada seis pessoas infectadas com COVID-19 fica gravemente doente e desenvolve dificuldade em respirar. Os idosos e aqueles com doenças pré-existentes, como hipertensão, problemas cardíacos ou diabetes, têm maior probabilidade de desenvolver doença grave.

A COVID-19 é transmitida por gotículas respiratórias que são exaladas por pessoas infectadas ao tossir, espirrar ou falar. Estas gotículas podem ser inaladas ou ingeridas directamente por outras pessoas ou podem contaminar as superfícies, que podem permanecer infecciosas por vários dias. A maioria das estimativas do período de incubação para a COVID-19 varia de 1 a 14 dias, período durante o qual as pessoas já podem estar infectadas sem apresentar sintomas da doença.

3. Princípio do Teste

O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb é um imunoensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa de anticorpos potencialmente neutralizantes para o SARS-CoV-2 em amostras de sangue total, soro ou plasma humano.

Anticorpos anti-IgM e anti-IgG são pré-revestidos na região da linha de teste (T) da membrana. Durante o teste, a amostra reage com抗原s da proteína spike que são conjugados com partículas coloridas. A mistura então migra ao longo da membrana chromatograficamente por acção capilar e reage com os anticorpos anti-IgM e anti-IgG na região da linha de teste (T) da membrana. A presença de uma linha vermelha na região da linha de teste (T) indica um resultado positivo. A ausência de uma linha vermelha na região da linha de teste (T) indica um resultado negativo.

A mudança de cor de uma linha azul para uma linha vermelha na região da linha de controlo (C) serve como um controlo de procedimento, indicando que um volume adequado de amostra foi adicionado e a absorção da membrana ocorreu.

4. Reagentes e Materiais Fornecidos

- 20 testes cassete NADAL® COVID-19 S1-NAb*

- 20 tubos capilares
- 1 tampão 'Buffer' (3 mL)**
- 1 folheto informativo

*contendo o conservante azida de sódio: <0,02% (7,5 ng/teste)

**Tampão de fosfato contendo os seguintes conservantes: azida de sódio: 0,2 mg/mL e sulfato de canamicina: 0,25 g/L

Nenhuma rotulagem de perigo é exigida de acordo com o Regulamento (CE) Nº 1272/2008 CLP, as concentrações estão abaixo do limite de isenção.

5. Materiais Adicionais Requeridos

- Recipientes de recolha de amostra (adequados para o material da amostra a ser testado)
- Centrifugadora (apenas para amostras de soro ou plasma)
- Compressas de álcool
- Lancetas (apenas para amostras de sangue total por picada no dedo)
- Temporizador

6. Armazenamento & Estabilidade

Os kits de teste devem ser armazenados entre 2 e 30°C até à data de validade indicada. Os testes cassette são estáveis até à data de validade impressa nas embalagens. Os testes cassette devem permanecer nas embalagens de alumínio seladas até ao seu uso. Não congele os kits de teste. Não use testes após a data de validade indicada na embalagem. Deve ter cuidado para proteger os componentes do kit de teste de contaminação. Não use os componentes do kit de teste se houver evidência de contaminação microbiana ou precipitação. A contaminação biológica do equipamento de distribuição, recipientes ou reagentes pode levar a resultados imprecisos.

7. Avisos e Precauções

- Apenas para diagnóstico *in-vitro* profissional.
- Leia atentamente o procedimento de teste antes de iniciar o teste.
- Não use o teste após a data de validade indicada na embalagem.
- Não use os componentes do kit de teste se a embalagem primária estiver danificada.
- Os testes são para uso único.
- Não adicione amostras à área de reacção (área de resultados).
- Para evitar contaminação, não toque na área de reacção (área de resultados).
- Evite a contaminação cruzada de amostras usando um novo recipiente de recolha de amostras para cada amostra obtida.
- Não substitua ou misture componentes de kits de teste diferentes.
- Não use o tampão se estiver descolorido ou turvo. A descoloração ou turbidez podem ser um sinal de contaminação microbiana.
- Não coma, beba ou fume na área onde as amostras e os kits de teste são manuseados.

- Use roupas de protecção, como batas de laboratório, luvas descartáveis e protecção para os olhos quando as amostras estiverem a ser analisadas.
- Manuseie todas as amostras como se contivessem agentes infeciosos. Observe as precauções estabelecidas para riscos microbiológicos em todos os procedimentos e directrizes padrão para o descarte adequado de amostras.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O conhecimento certificado da origem e/ou estado sanitário dos animais não garante totalmente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendado que estes produtos sejam tratados como potencialmente infeciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança usuais (por exemplo, não ingerir ou inalar).
- A temperatura pode afectar adversamente os resultados do teste.
- Não colocar as amostras e os reagentes à temperatura ambiente antes do teste pode diminuir a sensibilidade do ensaio. A recolha, armazenamento ou transporte de amostras de maneira imprecisa ou inadequada pode gerar resultados de teste falsos negativos.
- Os materiais de teste usados devem ser descartados de acordo com os regulamentos locais.

8. Recolha e Preparação de Amostras

O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb pode ser realizado usando sangue total (por punção venosa ou picada no dedo), soro ou plasma.

Para recolher amostras de sangue total por picada no dedo:

- Lave a mão do paciente com sabão e água morna ou limpe-a com uma compressa de álcool. Deixe secar.
- Massaje a mão, sem tocar no local da punção, esfregando ao longo da mão em direcção à ponta do dedo do meio ou anelar.
- Perfore a pele com uma lanceta estéril. Limpe a primeira gota de sangue.
- Esfregue suavemente a mão do pulso até à palma e, em seguida, até ao dedo para formar uma gota arredondada de sangue sobre o local da punção.

Sangue total por picada no dedo deve ser testado imediatamente.

Amostras de sangue total por punção venosa

Devem ser usados recipientes contendo anticoagulantes, como K₂EDTA, citrato de sódio, heparina de sódio ou heparina de lítio, para a preparação de amostras de sangue total venoso ou plasma.

O teste deve ser realizado imediatamente após a recolha da amostra. Não deixe as amostras à temperatura ambiente por períodos de tempo prolongados.

Se o teste for realizado dentro de 2 dias após a recolha da amostra, o sangue total recolhido por punção venosa deve ser armazenado a 2-8°C.

Não congele amostras de sangue total.

Amostras de soro e plasma

Separe o soro ou plasma do sangue o mais rápido possível para evitar hemólise. Use apenas amostras límpidas e não hemolisadas.

O teste deve ser realizado imediatamente após a recolha da amostra. Não deixe as amostras à temperatura ambiente por períodos de tempo prolongados. As amostras de soro e plasma podem ser armazenadas de 2°C a 8°C por até 3 dias. Para um armazenamento de longo prazo, as amostras devem ser mantidas a -20°C.

Deixe as amostras atingirem a temperatura ambiente antes do teste. Amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e bem misturadas antes do teste. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.

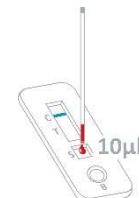
Se as amostras forem enviadas, estas devem ser embaladas de acordo com todas as regulamentações aplicáveis para o transporte de agentes etiológicos.

Amostras ictericas, lipémicas, hemolisadas, tratadas termicamente e contaminadas podem levar a resultados de teste imprecisos.

9. Procedimento do Teste

Deixe os testes, amostras, tampão e/ou controlos atingirem a temperatura ambiente (15-30°C) antes do teste.

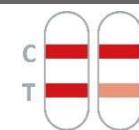
1. Remova o teste cassete da embalagem e use-o o mais rápido possível. Os melhores resultados serão obtidos se o teste for realizado imediatamente após a abertura da embalagem. Rotule o teste cassete com a identificação do paciente ou controlo.
2. Coloque o teste cassete numa superfície limpa e nivelada.
3. Segurando o tubo capilar verticalmente, extraia a amostra (sangue total/soro/plasma) até à linha de enchimento (aproximadamente 10 µL) e adicione-a ao poço da amostra (S) do teste cassete.
4. Segurando o frasco de tampão verticalmente, adicione 2 gotas de tampão (aproximadamente 80 µL) ao poço do tampão (B). Evite a formação de bolhas de ar.
5. Inicie o temporizador.
6. Espere pelo aparecimento da(s) linha(s) vermelha(s). Leia o resultado do teste após exactamente 10 minutos. Não interprete os resultados após mais de 20 minutos.



10. Interpretação de Resultados

Positivo

A linha azul na região da linha de controlo (C) fica vermelha. Desenvolve-se outra linha vermelha na região da linha de teste (T).



Nota: A intensidade da cor na região da linha de teste (T) pode variar dependendo da concentração de anticorpos neutralizantes para o SARS-CoV-2 na amostra. Portanto, qualquer tom

de cor na região da linha de teste (T) deve ser considerado positivo. Observe que este é apenas um teste qualitativo e não pode determinar a concentração de analito na amostra.

Negativo

A linha azul na região da linha de controlo (C) fica vermelha. Nenhuma linha se desenvolve na região da linha de teste (T).



Inválido

Os resultados de qualquer teste em que a linha azul na região da linha de controlo (C) permaneça completamente ou parcialmente azul no tempo de leitura especificado devem ser descartados. Reveja o procedimento e repita o teste com um novo teste cassete. Se o problema persistir, pare de usar o kit de teste imediatamente e entre em contacto com o seu distribuidor.



Os motivos mais prováveis para a falha da linha de controlo são um volume de amostra insuficiente, procedimento operacional incorrecto ou testes expirados.

11. Controlo de Qualidade

Um controlo de procedimento interno está incluído no teste cassete:

A linha que muda de azul para vermelho na região da linha de controlo (C) é considerada um controlo de procedimento interno. Isto confirma um volume de amostra suficiente, absorção adequada da membrana e técnica de procedimento correcta.

As *boas práticas de laboratório (BPL)* recomendam o uso de materiais de controlo externo para garantir o desempenho adequado do kit de teste.

12. Limitações

- O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb destina-se apenas ao diagnóstico *in-vitro* profissional. Deve ser usado para a detecção qualitativa de anticorpos potencialmente neutralizantes para o SARS-CoV-2 apenas em amostras de sangue total, soro ou plasma humano. Nem o valor quantitativo nem a taxa de aumento na concentração de anticorpos potencialmente neutralizantes para o SARS-CoV-2 podem ser determinados com este teste qualitativo.
- O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb detecta apenas a presença de anticorpos potencialmente neutralizantes para o SARS-CoV-2 em amostras e não deve ser usado como o único critério para determinar se ocorreu uma resposta imune à proteína S1 do SARS-CoV-2.
- Como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis para o médico.
- A presença ou ausência contínua de anticorpos não pode ser usada para determinar o sucesso ou o fracasso do tratamento ou da vacinação.
- Os resultados de pacientes imunossuprimidos devem ser interpretados com cuidado.

- Um efeito de gancho de alta dose pode ocorrer quando a intensidade da cor das linhas de teste diminui à medida que a concentração de anticorpos neutralizantes para o SARS-CoV-2 aumenta. Se houver suspeita de um efeito de gancho de alta dose, a diluição das amostras pode aumentar a intensidade da cor das linhas de teste.

13. Valores Esperados

A resposta do sistema imunológico humano à proteína S1 do SARS-CoV-2 está ligada à formação de anticorpos específicos contra diferentes epitopos desta subunidade proteica. Apenas alguns dos anticorpos IgM e IgG formados têm um efeito neutralizante sobre os vírions de SARS-CoV-2. Os anticorpos IgG podem indicar imunidade. Em alguns casos, pode ser que os anticorpos estejam presentes pela primeira vez em números detectáveis algum tempo após a ocorrência da infecção ou vacinação. Em casos de uma resposta imune celular suficiente ou inata suficiente, a ausência de anticorpos detectáveis também é possível.

14. Características de Desempenho

Desempenho clínico

Sensibilidade e especificidade de diagnóstico

O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb foi avaliado em comparação com um ensaio de microneutralização (nível de corte 1:20) usando amostras clínicas de pacientes recuperados, bem como indivíduos saudáveis não vacinados.

Ensaio de microneutralização			
	Positivo	Negativo	Total
Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb	30	0	30
Positivo	0	18	18
Total	30	18	48

Sensibilidade de diagnóstico: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Especificidade de diagnóstico: >99,9% (84,7% - 100,0%)*

Concordância geral: >99,9% (93,9% - 100,0%)*

*Intervalo de confiança de 95%

O teste NADAL® COVID-19 S1-NAb foi avaliado em comparação com um ensaio de microneutralização (nível de corte 1:20) usando amostras clínicas de indivíduos vacinados, bem como indivíduos saudáveis não vacinados.

Ensaio de microneutralização			
	Positivo	Negativo	Total
Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb	30	2**	32
Positivo	0	18	18
Total	30	20	50

Sensibilidade de diagnóstico: >99,9% (91,1% - 100,0%)*

Especificidade de diagnóstico: 90,0% (68,3% - 98,8%)*

Concordância geral: 96,0% (86,3% - 99,5%)*

*Intervalo de confiança de 95%

**Ambas as amostras falso-positivas continham baixas concentrações de anticorpos e foram identificadas como positivas usando o ensaio de microneutralização com um nível de corte de 1:10.

Num estudo de soroconversão, 15 indivíduos foram testados usando o Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb antes da vacinação, 28 dias após a primeira vacinação e 12 dias após a segunda vacinação com uma vacina de SARS-CoV-2 inactivado. Antes

da primeira vacinação, todos os indivíduos de teste eram negativos. Anticorpos potencialmente neutralizantes para a proteína S1 do SARS-CoV-2 foram detectados usando o Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb em 5 indivíduos de teste após a primeira vacinação e em todos os 15 indivíduos de teste após a segunda vacinação. Todas as amostras testadas foram confirmadas usando o ensaio de microneutralização.

A especificidade do Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb foi avaliada com 208 amostras de soro de Junho de 2019 (antes do surto de COVID-19). O teste NADAL® COVID-19 S1-NAb identificou 207 de 208 amostras como negativas verdadeiras e 1 amostra como positiva falsa (especificidade de 99,5%).

Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb		Amostras de soro de Junho de 2019
	Positivo	1
	Negativo	207
	Total	208

Especificidade: 99,5% (97,5% - 99,9%)*

*Intervalo de confiança de 95%

O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb foi avaliado em comparação com um método ELISA usando amostras clínicas de indivíduos vacinados, bem como indivíduos saudáveis, não vacinados.

Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb	ELISA		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	30	0
	Negativo	0	30
	Total	30	30

Sensibilidade de diagnóstico: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Especificidade de diagnóstico: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Concordância geral: >99,9% (95,1% - 100,0%)*

*Intervalo de confiança de 95%

Desempenho analítico

Limite de detecção

O limite de detecção do Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb é de 50 ng/mL para anticorpos neutralizantes para o SARS-CoV-2.

Gama de medição

Nenhum efeito adverso foi observado na formação da linha T (efeito prozona) ao testar amostras contendo uma concentração de anticorpos neutralizantes para o SARS-CoV-2 tão alta como 1 mg/mL. Assim, a gama de medição do teste está pelo menos entre 50 ng/mL e 1 mg/mL.

Substâncias de interferência

Soluções das seguintes substâncias potencialmente interferentes foram testadas em 2 séries de testes (sem anticorpos neutralizantes para o SARS-CoV-2 e enriquecidas com anticorpos neutralizantes para SARS-CoV-2) e não mostraram interferência com o Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb nas concentrações listadas abaixo.

Ácido acetilsalicílico	200 mg/L
Albumina	20 g/L
Paracetamol	200 mg/L
Ácido ascórbico	20 g/L
Bilirrubina	10 g/L
Cafeína	200 mg/L
Etanol	1%

Creatina	2 g/L
Ácido gentisíco	200 mg/L
Hemoglobina	10 g/L
Ácido oxálico	600 mg/L
Ácido úrico	20 g/L
Triglicerídeos	600 mg/L

Reactividade cruzada

Amostras positivas para vírus anti-Influenza A, vírus anti-Influenza B, anti-RSV, anti-adenovírus, HBsAb, anti-sífilis, anti-H. pylori, anti-HIV, anti-HCV, HAMA, MERS-CoV e factores reumatóides foram testadas usando o Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb. Nenhuma reactividade cruzada com as amostras foi observada quando testadas usando o Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb. Amostras positivas anti-SARS-CoV mostram reactividade cruzada com o Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb.

Precisão

Repetibilidade

A precisão foi estabelecida ao testar 10 réplicas de amostras negativas e amostras positivas para anticorpos neutralizantes para o SARS-CoV-2.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi estabelecida ao testar 5 réplicas de um controlo positivo, 8 amostras de soro negativas e 5 amostras de sangue total negativas. O teste foi realizado por 3 operadores usando 3 lotes independentes do Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb em 3 locais diferentes em 3 dias separados.

O Teste NADAL® COVID-19 S1-NAb demonstrou repetibilidade e reprodutibilidade aceitáveis. Os valores negativos e positivos foram identificados correctamente > 99% das vezes.

15. Referências

1. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
2. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. Adv Virus Res 2011; 81:85-164.
3. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol 2019; 17:181-192.
4. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. Trends Microbiol 2016;24:490-502.

Rev. 1, 2021-03-02 JC

1. Účel použití

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb je imunochromatografický test s laterálním tokem pro kvalitativní detekci potenciálně neutralizujících protilátek proti SARS-CoV-2 ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy (viz část 12 „Omezení“). Ten to test slouží jako pomůcka ke stanovení, zda došlo k imunitní odpovědi na protein S1 viru SARS-CoV-2. provedení testu není automatizované a pro jeho provedení není nutné žádne speciální školení nebo kvalifikace. Test NADAL® COVID-19 S1-NAb je určen pouze k profesionálnímu použití.

2. Úvod a klinický význam

COVID-19 (Coronavirus Disease) je infekční onemocnění způsobené nedávno objeveným koronavirem SARS-CoV-2. Nejčastějšími příznaky onemocnění COVID-19 jsou horečka, suchý kašel, únava, tvorba hlenů, dušnost, bolest v krku a bolesti hlavy. U některých pacientů se mohou objevit bolesti svalů, zimnice, nevolnost, ucpání nosu a průjem. Tyto příznaky začínají postupně a ve většině případů jsou mírné. Někteří lidé se nakazí, ale neprojeví se u nich žádne příznaky a ani se necítí nepríjemně. Většina lidí (cca 80 %) se z nemoci zotavuje bez nutnosti zvláštního ošetření. Přibližně jeden ze šesti lidí nakažených onemocněním COVID-19 je vážně nemocný a má problémy s dýcháním. U starších lidí a lidí s již existujícími zdravotními problémy, jako např. vysoký krevní tlak, srdeční problémy nebo diabetes, je větší pravděpodobnost, že onemocnění bude mít závažný průběh.

COVID-19 se přenáší prostřednictvím respiračních kapének, které vydechují infikovaní lidé kašlem, kýcháním nebo při mluvění. Tyto kapénky mohou být přenášeny přímo na jiné lidi nebo mohou kontaminovat také povrchy, které pak mohou zůstat infekční po dobu několika dní. Odhadovaná inkubační doba nemoci COVID-19 se pohybuje mezi 1 až 14 dnů, během nichž mohou být lidé infekční, aniž by vykazovali příznaky.

3. Princip testu

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb je imunochromatografický test s laterálním tokem pro kvalitativní detekci potenciálně neutralizujících protilátek proti SARS-CoV-2 ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy.

Protilátky proti IgM a proti IgG jsou předem naneseny na oblast testovací linie (T) na testovací membráně. Během testování vzorek reaguje s antigeny proteinu S (spike protein) konjugovanými s barevnými částicemi. Směs putuje chromatograficky membránou působením kapilárních sil a reaguje s protilátkami proti IgM a proti IgG v oblasti testovací linie (T) na membráně. Přítomnost červené linie v oblasti testovací linie (T) poukazuje na pozitivní výsledek. Absence červené linie v oblasti testovací linie (T) poukazuje na negativní výsledek.

Barevná změna z modré linie na červenou linii v oblasti kontrolní linie (C) slouží jako procedurální kontrola a znamená, že bylo naneseno dostatečné množství vzorku a že došlo k promočení membrány.

4. Činidla a dodávané materiály

- 20 NADAL® COVID-19 S1-NAb testovacích kazet*
- 20 kapilárních trubiček
- 1 pufr „Buffer“ (3 mL)**
- 1 návod k použití

*Obsahuje konzervační látku azid sodný: <0,02% (7,5 ng/test)

**Fosfátový pufr obsahuje následující konzervanty: azid sodný: 0,2 mg/mL a kanamycin-sulfát: 0,25 g/L

V souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008 CLP není povinné označování nebezpečnosti, koncentrace jsou nižší než mezní limit.

5. Další potřebné materiály

- Nádoby pro odběr vzorku (vhodné pro testovaný vzorek)
- Centrifuga (pouze pro vzorky séra nebo plazmy)
- Alkoholové tampony
- Lancety (pouze pro vzorky plné krve z prstu)
- Stopky

6. Skladování a trvanlivost

Testovací sady by měly být skladovány při 2-30°C do data expirace. Testovací kazety jsou trvanlivé až do data expirace vytisklého na ochranné fólii. Testovací kazety by do doby použití měly zůstat v zapečetěném ochranném fólii. Testovací sadu nezmrazujte. Testy nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na obalu. Dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci komponentů sady. Komponenty testovací sady nepoužívejte, pokud existuje podezření, že došlo k mikrobiální kontaminaci nebo sražení. Biologická kontaminace pipet, nádob nebo činidel může vést k nesprávným výsledkům.

7. Varování a bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.
- Test nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na obalu.
- Nepoužívejte komponenty testovací sady, je-li primární obal poškozen.
- Testy jsou určeny pouze k jednorázovému použití.
- Nenanásejte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční oblasti (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Pro každý vzorek používejte novou nádobu, aby se zabránilo křížové kontaminaci vzorků.
- Nezaměňujte a nemíchejte komponenty z různých testovacích sad.
- Nepoužívejte pufr, pokud je zbarvený nebo zakalený. Zbarvení nebo zakalení může být známkou mikrobiální kontaminace.
- Nejezte, nepijte ani nekuřte v místě, kde se zachází se vzorky a testovacími sadami.
- Během testování vzorků používejte ochranný oděv jako laboratorní plášt, jednorázové rukavice a ochranné brýle.
- Se všemi vzorky zacházejte jako s potencionálně infekčními. V průběhu všech testovacích kroků dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik a říďte se standardními předpisy pro správnou likvidaci vzorků.
- Testovací sada obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je třídit doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potencionálně infekčními a dle běžných bezpečnostních opatření (např. nepoužívejte nebo nevdechujte).

- Teplota může nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Pokud se vzorky a činidla před testováním nepřivedou na pokojovou teplotu, může to snížit senzitivitu testu. Nepřesný nebo nevhodný odběr vzorku, jeho skladování nebo přeprava mohou vést k falešně negativním výsledkům testu.
- Použité testovací materiály by měly být zlikvidovány v souladu s místními předpisy.

8. Odběr a příprava vzorku

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb může být proveden se vzorky plné krve (venózní nebo z prstu), séra nebo plazmy.

Odběr vzorku plné krve z prstu:

- Umyjte pacientovu ruku pomocí mýdla a teplé vody nebo ji očistěte alkoholovým tamponem. Nechte oschnout.
- Masírujte ruku a třete ji směrem k bříšku prostředníčku nebo prsteníčku, anž byste se dotkli místa vpichu.
- Propichněte pokožku pomocí sterilní lancety. První kapku krve setřete.
- Opatrně třete ruku od záHESTI k dlani a poté k prstu a vytvořte kulatou kapku krve na místě vpichu.

Plná krev z prstu by měla být testována okamžitě.

Vzorky plné krve odebrané venepunkcí

Pro přípravu vzorků venózní plné krve nebo plazmy by měly být použity nádoby obsahující antikoagulanty jako K₂EDTA, citronan sodný, heparin sodný nebo lithiový heparin.

Testování by mělo proběhnout ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky po delší dobu při pokojové teplotě.

Pokud bude test proveden do 2 dnů od odběru vzorku, měla by být plná krev odebraná venepunkcí skladována při teplotě 2-8°C.

Vzorky plné krve nezmrazujte.

Vzorky séra a plazmy

Oddělte sérum nebo plazmu od krve co nejdříve, aby se předešlo hemolýze. Používejte pouze čisté, nehemolyzované vzorky.

Testování by mělo proběhnout ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky po delší dobu při pokojové teplotě. Vzorky séra a plazmy mohou být skladovány při teplotě 2-8°C po dobu nejdéle 3 dnů. V případě dlouhodobého skladování udržujte vzorky při teplotě -20°C.

Před testováním nechte vzorky dosáhnout pokojové teploty. Zmrzače vzorky by měly být před testováním rádně rozmrazeny a promíchány. Vzorky opakovaně nezmrazujte a nerozmrazeny.

Pokud jsou vzorky přepravovány, měly by být zabalené v souladu s místními předpisy pro přepravu etiologických agens.

Ikterické, lipemicke, hemolyzované, tepelně ošetřené a kontaminované vzorky mohou způsobit chybné výsledky.

9. Provedení testu

Testy, vzorky, pufr a/nebo kontroly nechte před testováním dosáhnout pokojové teploty (15-30°C).

- Testovací kazetu vyjměte ze zapečetěné fólie a použijte ji co nejdříve. Nejlepších výsledků dosáhnete, pokud test

provedete okamžitě po otevření zapečetěné fólie. Vyznačte na testovací kazetu identifikaci pacienta nebo kontroly.

- Položte testovací kazetu na čistou a rovnou plochu.

- Dříte kapilární trubičku svisle, nasajte vzorek (plná krev/sérum/plazma) až po značku naplnění (cca 10 µL) a přidejte ho do otvoru pro vzorek (S) na testovací kazetě.

Alternativně může být použita mikropipeta (10 µL).

- Držte lahvičku s pufrém svisle a přidejte 2 kapky (cca 80 µL) pufru do otvoru pro pufr (B). **Zamezte utváření vzduchových bublin.**

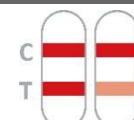
- Spusťte stopky.

- Vyčkejte na zobrazení červené linie/liní. Výsledek odečtěte přesně po 10 minutách. Po více než 20 minutách již výsledek neodečtějte.

10. Vyhodnocení výsledků

Pozitivní

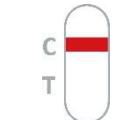
Modrá linie v oblasti kontrolní linie (C) zčervená. Žádná linie se neobjeví v oblasti testovací linie (T).



Poznámka: Intenzita barvy v oblasti testovací linie (T) se může lišit v závislosti na koncentraci neutralizujících protilátek proti SARS-CoV-2 ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti estovací linie(T) by proto měl být vyhodnocen jako pozitivní. Mějte na vědomí, že se jedná pouze o kvalitativní test, který neurčuje koncentraci analytu ve vzorku.

Negativní

Modrá linie v oblasti kontrolní linie (C) zčervená. Žádná linie se neobjeví v testovací oblasti (T).



Neplatný

Výsledky jakéhokoli testu, kde modrá linie v oblasti kontrolní linie (C) zůstane zcela nebo částečně modrá ve stanoveném čase pro odečítání výsledků, musí být znehodnoceny. Revidujte prosím postup a zopakujte test s novou testovací kazetou. Pokud problém přetravává, přestaňte ihned používat testovací sadu a kontaktujte Vašeho distributora.



Nedostatečné množství vzorku, nesprávné provedení testu nebo prošlý test jsou nejpravděpodobnější důvody k nezobrazení kontrolní linie.

11. Kontrola kvality

V testovací kazetě je obsažena interní procedurální kontrola:

Linie, která se v oblasti kontrolní linie (C) mění z modré na červenou, je považována za interní procedurální kontrolu.

Potvrzuje přidání dostatečného množství vzorku, dostatečné promočení membrány a správný testovací postup.

Správná laboratorní praxe (SLP) doporučuje používání externích kontrol k ověření správné výkonnosti testovací kazety.

12. Omezení

- Test NADAL® COVID-19 S1-NAb je určen pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku. Měl by být používán pouze pro kvalitativní detekci potenciálně neutralizujících protilátek proti SARS-CoV-2 ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy. Ani kvantitativní hodnota ani míra nárůstu koncentrace potenciálně neutralizujících protilátek proti SARS-CoV-2 nemohou být zjištěny tímto kvalitativním testem.
- Test NADAL® COVID-19 S1-NAb detekuje pouze přítomnost potenciálně neutralizujících protilátek proti SARS-CoV-2 ve vzorcích a neměl by být používán jako jediné kritérium pro stanovení, zda došlo k imunitní odpovědi na protein S1 viru SARS-CoV-2.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by měly být veškeré výsledky vyhodnoceny v souvislosti s dalšími klinickými informacemi, které má lékař k dispozici.
- Pokračující přítomnost nebo nepřítomnost protilátek nelze použít k určení úspěchu nebo selhání léčby nebo očkování.
- Výsledky u imunosupresivních pacientů by měly být vyhodnoceny s opatrností.
- Může se objevit tzv. Hook efekt (vysoká koncentrace analytu), při kterém oslabuje barevná intenzita testovací linie, protože se zvyšuje koncentrace neutralizujících protilátek proti SARS-CoV-2. Je-li podezření na Hook efekt, může zředění vzorku zvýšit barevnou intenzitu testovacích linií.

13. Očekávané hodnoty

Reakce lidského imunitního systému na protein S1 viru SARS-CoV-2 souvisí s tvorbou specifických protilátek proti různým epitopům této proteinové podjednotky. Pouze část vytvořených protilátek IgM a IgG má neutralizační účinek na viriony SARS-CoV-2. Protilátky IgG mohou indikovat imunitu. V některých případech se může stát, že protilátky jsou přítomny v detekovatelném množství až dlouho po infekci nebo očkování. V případě dostatečné vrozené nebo dostatečné buněčné imunitní odpovědi je také možná absence detekovatelných protilátek.

14. Výkonnostní charakteristiky

Klinická výkonnost

Diagnostická senzitivita a specificita

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb byl vyhodnocen ve srovnání s mikroneutralizačním testem (mezní titr 1:20) za použití klinických vzorků od uzdravených pacientů i zdravých neočkovávaných jedinců.

Mikroneutralizační test			
	Pozitivní	Negativní	Celkem
Test NADAL® COVID-19 S1-NAb	30	0	30
Pozitivní	30	0	30
Negativní	0	18	18
Celkem	30	18	48

Diagnostická senzitivita: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Diagnostická specificita: >99,9% (84,7% - 100,0%)*

Celková shoda: >99,9% (93,9% - 100,0%)*

*95% interval spolehlivosti

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb byl vyhodnocen ve srovnání s mikroneutralizačním testem (mezní titr 1:20) za použití klinických vzorků od očkovávaných i zdravých neočkovávaných jedinců.

Mikroneutralizační test			
Test	Pozitivní	Negativní	Celkem
NADAL® COVID-19 S1-NAb	30	2**	32
Negativní	0	18	18
Celkem	30	20	50

Diagnostická senzitivita: >99,9% (91,1% - 100,0%)*

Diagnostická specificita: 90,0% (68,3% - 98,8%)*

Celková shoda: 96,0% (86,3% - 99,5%)*

*95% interval spolehlivosti

**Oba falešně pozitivní vzorky obsahovaly nízké koncentrace protilátek a byly identifikovány jako pozitivní pomocí mikroneutralizačního testu při mezním titru 1:10.

Ve studii sérokonverze bylo 15 testovaných subjektů testováno pomocí testu NADAL® COVID-19 S1-NAb před očkováním, 28 dní po první vakcinaci a 12 dní po druhé vakcinaci inaktivovanou vakcína SARS-CoV-2. Před první vakcinací byly všechny testované subjekty negativní. Potenciálně neutralizující protilátky proti proteinu S1 viru SARS-CoV-2 mohly být detekovány pomocí testu NADAL® COVID-19 S1-NAb u 5 testovaných subjektů po první vakcinaci a u všech 15 testovaných subjektů po druhé vakcinaci. Všechny testované vzorky byly potvrzeny pomocí mikroneutralizačního testu.

Specificita testu NADAL® COVID-19 S1-NAb byla vyhodnocena pomocí 208 vzorků séra z června 2019 (před vypuknutím COVID-19). Test NADAL® COVID-19 S1-NAb identifikoval 207 z 208 vzorků jako skutečně negativní a 1 vzorek jako falešně pozitivní (specificita 99,5%).

		Vzorky séra z června 2019
Test NADAL® COVID-19 S1-NAb	Pozitivní	1
Negativní	207	
Celkem	208	

Specificita: 99,5% (97,5% - 99,9%)*

*95% interval spolehlivosti

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb byl vyhodnocen ve srovnání s metodou ELISA za použití klinických vzorků od očkovávaných i zdravých neočkovávaných jedinců.

ELISA			
Test	Pozitivní	Negativní	Celkem
NADAL® COVID-19 S1-NAb	30	0	30
Negativní	0	30	30
Celkem	30	30	60

Diagnostická senzitivita: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Diagnostická specificita: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Celková shoda: >99,9% (95,1% - 100,0%)*

*95% interval spolehlivosti

Analytická výkonnost

Hranice detekce

Hranice detekce testu NADAL® COVID-19 S1-NAb je 50 ng/mL pro neutralizující protitělky proti SARS-CoV-2.

Rev. 1, 2021-03-02 MP

Rozsah měření

Při testování vzorků obsahujících koncentraci neutralizujících protitělek proti SARS-CoV-2 1 mg/mL nebyl pozorován žádný nepříznivý účinek na tvorbu linie T (prozone efekt). Rozsah měření testu je tedy mezi nejméně 50 ng/mL a 1 mg/mL.

Interferující látky

Roztoky následujících potencionálně interferujících látek byly testovány ve 2 testovacích sériích (bez neutralizujících protitělek proti SARS-CoV-2 a obohacené o neutralizující protitělky proti SARS-CoV-2) a nevykázaly žádnou interferenci s testem NADAL® COVID-19 S1-NAb v níže uvedených koncentracích.

Kyselina acetylsalicylová	200 mg/L
Albumin	20 g/L
Acetaminofen	200 mg/L
Kyselina askorbová	20 g/L
Bilirubin	10 g/L
Kofein	200 mg/L
Ethanol	1%
Kreatin	2 g/L
Kyselina gentisová	200 mg/L
Hemoglobin	10 g/L
Kyselina šťavelová	600 mg/L
Kyselina močová	20 g/L
Triglyceridy	600 mg/L

Křížová reaktivita

Vzorky pozitivní na anti-virus influenza typu A, anti-virus influenza typu B, anti-RSV, anti-adenovirus, HBsAb, anti-syfilis, anti-*H. pylori*, anti-HIV, anti-HCV, HAMA, MERS-CoV a revmatoidní faktory byly testovány za použití testu NADAL® COVID-19 S1-NAb. Při testování pomocí testu NADAL® COVID-19 S1-NAb nebyla zjištěna žádná křížová reaktivita se vzorky. Vzorky pozitivní na protitělky proti SARS-CoV vykazují křížovou reaktivitu s testem NADAL® COVID-19 S1-NAb.

Přesnost

Opakovatelnost

Přesnost byla stanovena testováním 10 replikátů negativních vzorků a vzorků pozitivních na neutralizující protitělky proti SARS-CoV-2.

Reprodukční schopnost

Reprodukční schopnost byla stanovena testováním 5 replikátů pozitivní kontroly, 8 negativních vzorků séra a 5 negativních vzorků plné krve. Testování bylo provedeno 3 uživateli za použití 3 nezávislých šárží testu NADAL® COVID-19 S1-NAb na 3 různých místech po dobu 3 samostatných dnů.

Test NADAL® COVID-19 S1-NAb prokázal přijatelnou opakovatelnost a reprodukovatelnost. Negativní a pozitivní hodnoty byly správně identifikovány v >99% případů.

15. Reference

- Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
- Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res* 2011; 81:85-164.
- Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:181-192.
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.

1. Käyttötarkoitus

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test on lateraalivirtaukseen perustuva kromatografinen immunomääritys mahdollisesti neutralioivien SARS-CoV-2 vasta-aineiden kvalitatiiviseen havaitsemiseen ihmisen kokoveri-, seerumi- tai plasmanäytteistä (katso osio 12 "Rajotuksset"). Testi on tarkoitettu käytettäväksi apuna määritettäessä, onko immuunivaste SARS-CoV-2:n S1-proteiinille tapahtunut. Testausmenetely ei ole automatisoitu, eikä se vaadi erityistä koulutusta tai pätevyttä. NADAL® COVID-19 S1-NAb Test on tarkoitettu vain ammattikäytöön.

2. Juhdanto ja kliininen merkitys

COVID-19 (koronavirustauti) on hiljattain löydetyn SARS-CoV-2 koronaviruksen aiheuttama infektiotauti. COVID-19:n yleisimmatoireet ovat kuume, kuiva yskä, väsymys, yskösten muodostuminen, hengenahdistus, kurkkukipu ja päänsärky. Joillakin potilailla voi esiintyä lihaskipua, viluväristyksiä, pahoinvointia, nenän tukkosuutta ja ripulia. Nämä oireet alkavat vähitellen ja ovat useimmissa tapauksissa lieviä. Jotkut tartunnan saaneet henkilöt eivät saa mitään oireita eikä heillä ole huonovointisuutta. Useimmat henkilöt (noin 80%) paranevat taudista ilman erityistä hoitoa. Arviolta joka kuudes COVID-19-tarttunnan saanut henkilö sairastuu vakavasti ja heille kehittyy hengitystieulkuksia. Läkkiäät henkilöt ja henkilöt, joilla on jo olemassa olevia sairausia, kuten korkea verenpaine, sydänsairaus tai diabetes, sairastuvat todennäköisemmin vakavasti.

COVID-19 välittyy hengitystiepisaroiden kautta sairastuneen henkilön yksissä, avataessa tai puhuessa. Pisarat voivat tarttua suoraan hengittämisen tai niemeisen kautta, tai ne voivat kontaminoida kosketuspintoja, joissa ne säilyvät tarttuvina usean päivän ajan. Useimmat arviot COVID-19:n itämäisästä ovat välillä 1-14 päivää, jonka aikana oireettomat henkilöt voivat olla jo tarttuvia.

3. Testiperiaate

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test on lateraalivirtaukseen perustuva kromatografinen immunomääritys mahdollisesti neutralioivien SARS-CoV-2 vasta-aineiden kvalitatiiviseen havaitsemiseen ihmisen kokoveri-, seerumi- tai plasmanäytteistä.

Anti-IgM- ja anti-IgG-vasta-aineet ovat esipäällystetty membraanin testiviivan alueelle (T). Testaamisen aikana, näyte reagoi piikkiproteiiniantigeenien kanssa, jotka on konjugoitu väripartikkelleilla. Seos kulkeutuu membraanilla kromatografiseesti kapillaarireaktion ainoista ja reagoi membraanin anti-IgM- ja anti-IgG-vasta-aineiden kanssa testiviivan alueella (T). Punaisen viivan läsnäolo testiviivan alueella (T) osoittaa positiivisen tuloksen. Punaisen viivan puuttuminen testiviivan alueelta (T) osoittaa negatiivisen tuloksen.

Värimuutos sinisestä viivasta punaiseksi kontrolliviivan alueella (C) toimii sisäisenä toimintakontrollina, osoittaa etä riittävä näytämäärä on lisätty ja riittävä imetytyminen membraanille on tapahtunut.

4. Reagenssit ja mukana toimitetut materiaalit

- 20 NADAL® COVID-19 S1-NAb testikasettia*
- 20 kapillaariputkeaa

- 1 puskuriliuos "Buffer" (3 mL)**

- 1 pakkausseloste

*sisältää natriumatsidi-säilöntääaineen: <0,02% (7,5 ng/testi)

**Fosfaattipuskuri sisältää seuraavia säilöntääineitä: natriumatsidi: 0,2 mg/mL ja kanamysiiniulsaatti: 0,25 g/L

Varoitusmerkintöjä ei vaadita CLP-asetuksen mukaisesti: (EC) N° 1272/2008; pitoisuudet alittavat vapautustason.

5. Tarvittavat lisämateriaalit

- Näytteenottoastiat (testattavalle näyttemateriaalille soveltuват)
- Sentrifugi (vain seerumi- ja plasmanäytteille)
- Alkoholilappuja
- Lansetit (vain kokoverinäytteille sormenpäästä)
- Ajastin

6. Säilytys ja stabiilius

Testipakkaukset tulee säilyttää 2-30°C lämpötilassa ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka. Testikasetit säilyvät stabiileina foliopakkauksiin painettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka. Testikasetit tulee säilyttää sinetöidyissä foliopakkauksissaan käyttöön asti. Älä pakasta testipakkauksia. Älä käytä pakkauksessa ilmoitetun viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Testipakkauksen komponentit tulee suojata kontaminaatiolta. Älä käytä testipakkauksien komponentteja, mikäli huomaat merkkejä mikrobikontaminaatiosta tai saostumisesta. Annostelutarvikkeiden, säilytystastioiden tai reagenssien biologinen kontaminointuminen voi johtaa epätarkeihin tuloksiin.

7. Varoituset ja varotoimet

- Vain ammattimaiseen *in-vitro*-diagnostiseen käyttöön.
- Lue käytööhjeet huolellisesti ennen testin suorittamista.
- Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Älä käytä testipakkauksen osia, jos pääpakkauks on vaurioitunut.
- Testit ovat vain kertakäyttöö.
- Älä lisää näytettä reaktioalueelle (tulosalue).
- Kontaminaation välttämiseksi, älä koske reaktioalueeseen (tulosalue).
- Vältä näytteiden ristikontaminaatio käyttämällä aina uutta näytteenottoastiaa jokaiselle näytteelle.
- Älä vaihda tai sekoita eri testipakkausten komponentteja.
- Älä käytä puskuriliusta, mikäli sen väri on muuttunut tai sameutunut. Muuttunut väri tai sameutuminen voivat olla merkkejä mikrobikontaminaatiosta.
- Älä syö, juo tai tupako alueella, jossa näytteitä ja testipakkauksia käsitellään.
- Käytä suojaravusteita, kuten laboratoriottakkia, kertakäytökseen ja suojalaseja käsitellessäsi näytteitä.
- Käsittele kaikia näytteitä mahdollisina tarttalähteinä. Noudata mikrobiologisia vaaroja koskevia varotoimia testaamisen aikana ja noudata asianmukaisia määräyksiä koskien näytteiden hävittämistä.
- Testipakkauksia sisältää eläinperäisiä tuotteita. Sertifioitu tieto alkuperästä ja/tai eläinten terveydellisestä tilasta ei täyssin takaa tarttuvien taudinaiheuttajien poissaoloa. Nämä ollen on suositteltavaa, että näitä tuotteita käsitellään

mahdollisesti tartuttavina sekä noudattaen asianmukaisia varotoimia (esim. älä niele tai hengitä).

- Lämpötilahtelut voivat vaikuttaa haitallisesti testituloksiin.
- Määritysen herkkyys voi heiketä, mikäli näytteitä ja reagensseja ei tuoda huoneenlämpöön ennen testausta. Epätarkka tai vääränlainen näytteenotto, säilytys tai kuljetus voivat aiheuttaa väärä negatiivisia testituloksia.
- Käytetyt testausmateriaalit tulee hävittää paikallisten säännösten mukaisesti.

8. Näytteenotto ja valmistelu

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test voidaan suorittaa käyttääen kokoverta (laskimoveri tai sormenpää), seerumia tai plasmaa.

Kerätäksesi kokoverinäytteen sormenpäästä:

- Pese potilaan käsi saippualla ja lämpimällä vedellä, tai puhdista käyttäen alkolihilappua. Anna käden kuivua.
- Hiero kättä kohti keskisormen tai niemetön sormenpäästä välittäen koskemasta pistokohtaan.
- Pistä käyttäen sterilää lansettia. Pyyhi ensimmäinen veripisara pois.
- Hiero kättä hellavaraisesti ranteesta kohti kämmentä ja sitten sormea kohti saadaksesi pyöreän veripisaran pistokohtaan.

Sormenpäästä kerätyt kokoverinäytteet tulee testata välittömästi.

Laskimokokoverinäytteet

Antikoagulantteja, kuten K₂EDTA:ta, natriumsitraattia, natriumhepariinia tai litiumhepariinia sisältäviä näytteenottotuplia tulisi käyttää laskimokokoveri- tai plasmanäytteiden valmistelussa.

Testaus tulisi suoritata välittömästi näytteen keräämisen jälkeen. Älä jätä näytteitä huoneenlämpöön pitkäksi aikaa.

Mikäli testi aiotaan suorittaa 2 päivän sisällä näytteen keräämisestä, laskimokokoverinäyte tulee säilyttää 2–8°C lämpötilassa.

Älä pakasta kokoverinäytteitä.

Seerumi- ja plasma näytteet

Erota seerumi tai plasma verestä mahdollisimman pian hemolysin välittämiseksi. Käytä vain kirkkaita, hemolysoitumattomia näytteitä.

Testaus tulee suorittaa välittömästi näytteen keräämisen jälkeen. Älä jätä näytteitä huoneenlämpöön pitkäksi aikaa. Seerumi- ja plasmanäytteet voidaan säilyttää 2–8°C lämpötilassa 3 päivän ajan. Pidempiaikaisia säilytystä varten, näytteet tulee säilyttää -20°C lämpötilassa.

Anna näytteiden lämmetä huoneenlämpöisiksi ennen testaamista. Pakastettujen näytteiden tulee olla täysin sulaneita sekä hyvin sekoitettuja ennen testausta. Sulatettuja näytteitä ei saa jäädyttää uudelleen.

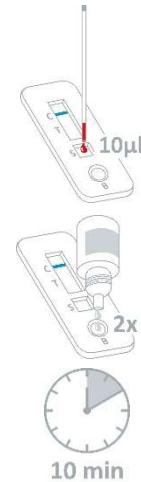
Mikäli näytteitä aiotaan kuljettaa, ne tulee pakata noudattaen kaikkia paikallisia etiologisten aineiden kuljettamista koskevia säännöksiä.

Ikteeriset, lipeemiset, hemolytyiset, lämpökäsitellyt ja kontaminointienäytteet voivat johtaa epätarkoihin testituloksiin.

9. Testin suorittaminen

Tuo testit, näytteet, puskuriliuos ja/tai kontrollit huoneenlämpöön (15–30°C) ennen testaamista.

- Poista testikasetti foliopakkauksesta ja käytä mahdollisimman pian. Parhaat tulokset saadaan, kun testi suoritetaan välittömästi foliopakkauksen avaamisen jälkeen. Merkitse testikasettiin potilaan tai kontrollin tiedot.
- Aseta testikasetti puhtaalle ja tasaiselle alustalle.
- Pidä pipettiä pystysuorassa, ota näytettä (kokoveri/seerumi/plasma) täytyräjään asti (noin 10 µL) ja lisää näyte testikasetin näyteaukkoon (S). Vaihtoehtoisesti, mikropipettiä (10 µL) voidaan käyttää.
- Pidä pispalaa puskuriliuospullossa pystysuorassa ja lisää 2 tippaa (noin 80 µL) puskuriliuosta puskurin aukkoon (B). Vältä ilmakuplien muodostumista.
- Käynnistä ajastin.
- Odota punaisten viivojen muodostumista. Lue testitulos tasan 10 minuutin kuluttua. Älä tulkitse testitulosta enää 20 minuutin jälkeen.



10. Tulosten tulkinta

Positiivinen

Sininen viiva kontrolliviivan alueella (C) muuttuu punaiseksi. Toinen punainen viiva muodostuu testiviivan alueelle (T).



Huoma: Värin voimakkkuus testiviivan alueella (T) voi vaihdella riippuen SARS-CoV-2 neutraloivien vasta-aineiden pitoisuudesta näytteessä. Nämä ollen kaikki värisävyt testiviivan alueella (T) tulee tulkita positiiviseksi. Huomaa, että tämä on kvalitatitivinen testi eikä sillä voida määrittää analytitin pitoisuutta näytteessä.

Negatiivinen

Sininen viiva kontrolliviavan alueella (C) muuttuu punaiseksi. Viivaa ei muodostu testiviavan alueelle (T).



Mitätön

Kaikkien testien tulokset, joiden yhteydessä sininen viiva kontrolliviavan (C) alueella pysyy osittain tai kokonaan sinisenä ilmoitetun lukuajan puitessa, tulee hylätä. Lue käyttöohjeet huolellisesti uudelleen ja toista testi uudella testikasetilla. Mikäli ongelma jatkuu, lopeta testien käyttö välittömästi ja ota yhteys myyjään.

Riittämötön näyttemäärä, väärä testin suoritustapa tai vanhentuneet testit ovat yleisimpä syitä kontrolliviivan epäonnistumiselle.



11. Laaduntarkkailu

Testikasetti sisältää sisäänrakennetun toimintakontrollin:

Sinisestä punaiseksi muuttuva viiva kontrollivivan alueella (C) on testin sisäinen toimintakontrolli. Sillä varmistetaan riittävä näytämääri, oikea suoritustekniikka ja näytteen riittävä imetyminen membraanille.

Hyvä laboratoriokäytäntö (GLP) suosittelee käyttämään ulkoisia kontrollimateriaaleja testipakkauksen oikeanlaisen toiminnan varmistamiseksi.

12. Rajoitukset

- NADAL® COVID-19 S1-NAb Test on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen *in-vitro*-diagnostiseen käyttöön. Sitä tulee käyttää ainoastaan mahdollisesti neutraloivien SARS-CoV-2 vasta-aineiden kvalitatiiviseen havaitsemiseen ihmisen kokoveri-, seerumi- tai plasmanäytteistä. Mahdollisesti neutraloivien SARS-CoV-2 vasta-aineiden kvantitatiivista määriä tai pitoisuuden nousua ei voida määrittää tällä kvalitatiivisella testillä.
- NADAL® COVID-19 S1-NAb Test havaitsee ainoastaan mahdollisesti neutraloivien SARS-CoV-2 vasta-aineiden läsnäolon näytteessä, eikä sitä tule käyttää ainoana perusteena määritettäessä, onko immuunivaste SARS-CoV-2:n S1-proteiinille tapahtunut.
- Kuten kaikkien diagnostisten testien kanssa, kaikki tulokset tulee tulkittaa ottaen huomioon muut lääkärin saatavilla olevat kliniset tiedot.
- Vasta-aineiden jatkuvaa läsnä- tai poissaoloa ei voida käyttää arvioitaessa hoidon tehokkuutta.
- Immunosuppressiopilaiden tuloksia tulee tulkitta erityisen huolellisesti.
- Korkean pitoisuuden hook-efekti, jossa testivivojen voimakkuus heikkenee neutraloivien SARS-CoV-2 vasta-aineiden pitoisuuden nostessa, on mahdollinen. Jos hook-efektiä epäillään, näytteiden laimentaminen voi lisätä värivivojen voimakkuutta.

13. Odotusarvot

Ihmisen immuunijärjestelmän vaste SARS-CoV-2:n S1-proteiinille liittyv spesifisten vasta-aineiden muodostumiseen sen proteiinialayksikön eri epitopeepja vastaan. Vain osalla muodostuneista IgM- ja IgG-vasta-aineista on SARS-CoV-2-virioneja neutraloiva vaikutus. IgG-vasta-aineet voivat tarkoittaa immuniteettia. Kuitenkin, joissakin tapauksissa vasta-aineet voivat olla havaittavissa vasta pitkän ajan päästä tartunnan tai rokotuksen jälkeen. Riittävän synnynnäisen tai surveläitteisen immuunivasteen tapauksessa havaittavien spesifisten vasta-aineiden puuttuminen on mahdollista.

14. Suoritusominaisuudet

Kliininen suorituskyky

Diagnostinen herkkyys ja tarkkuus

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test arvioitiin verrattuna mikroneutralisaatiomääritykseen (titterin raja-arvo 1:20) käytäen kliinisiä näytteitä parantuneilta potilailta sekä terveiltä, rokottamattomilta henkilöiltä.

		Mikroneutralisaatiomääritys		
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test		Positiivinen	Negatiivinen	Yhteensä
	Positiivinen	30	0	30
	Negatiivinen	0	18	18
	Yhteensä	30	18	48

Diagnostinen sensitiivisyys: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Diagnostinen spesifisyys: >99,9% (84,7% - 100,0%)*

Kokonaishätipitävyys: >99,9% (93,9% - 100,0%)*

*95% luottamusväli

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test arvioitiin verrattuna mikroneutralisaatiomääritykseen (titterin raja-arvo 1:20) käytäen kliinisiä näytteitä rokotetuista sekä terveiltä, rokottamattomilta henkilöiltä.

		Mikroneutralisaatiomääritys		
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test		Positiivinen	Negatiivinen	Yhteensä
	Positiivinen	30	2**	32
	Negatiivinen	0	18	18
	Yhteensä	30	20	50

Diagnostinen sensitiivisyys: >99,9% (91,1% - 100,0%)*

Diagnostinen spesifisyys: 90,0% (68,3% - 98,8%)*

Kokonaishätipitävyys: 96,0% (86,3% - 99,5%)*

*95% luottamusväli

**Kummassakin väärässä positiivisessa näytteessä oli alhaiset vasta-aineepitoisuudet, ja ne tunnistettiin positiivisiksi käyttäen mikroneutralisaatiomääritystä titterin raja-arvolta 1:10.

Serokonversiotutkimuksessa 15 koehenkilöä testattiin NADAL® COVID-19 S1-NAb Testillä ennen rokotusta, 28 päivää ensimmäisen rokotuksen jälkeen ja 12 päivää toisen rokotuksen jälkeen inaktivoidulla SARS-CoV-2-rokotteella. Ennen ensimmäistä rokotusta kaikki koehenkilöt olivat negatiivisia. Mahdollisesti neutraloivia vasta-aineita SARS-CoV-2:n S1-proteiinista vastaan voitiin havaita NADAL® COVID-19 S1-NAb Testillä viidellä koehenkilöllä ensimmäisen rokotuksen jälkeen ja kaikilla 15 koehenkilöllä toisen rokotuksen jälkeen. Kaikki testatut näytteet vahvistettiin käyttämällä mikroneutralisaatiomääritystä.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Testin spesifisyys arvioitiin 208 seeruminäytteellä kesäkuulta 2019 (ennen COVID-19-epidemialla). NADAL® COVID-19 S1-NAb Test tunnisti 208:sta näytteestä 207 oikeaksi negatiiviseksi ja yhden näytteen vääräksi positiiviseksi (spesifisyys 99,5%).

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test		Seeruminäytteet kesäkuulta 2019 alkaen
	Positiivinen	1
	Negatiivinen	207
	Yhteensä	208

Spesifisyys: 99,5% (97,5% - 99,9%)*

*95% luottamusväli

NADAL® COVID-19 S1-NAb Testiä arvioitiin verrattuna ELISA-menetelmään käyttäen rokottetujen sekä terveiden, rokottamattomien henkilöiden kliinisiä näytteitä.

		ELISA		
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test		Positiivinen	Negatiivinen	Yhteensä
	Positiivinen	30	0	30
	Negatiivinen	0	30	30
	Yhteensä	30	30	60

Diagnostinen sensitiivisyyys: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Diagnostinen spesifisyyys: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Kokonaishätipitävyys: >99,9% (95,1% - 100,0%)*

*95% luottamusväli

Analyyttinen suorituskyky

Havaitsemisraja

NADAL® COVID-19 S1-NAb Testin havaitsemisraja on 50 ng/mL SARS-CoV-2 neutraloiville vasta-aineille.

Mittausalue

Haitallista vaikutusta T-viivan muodostumiseen (prozone-ilmiö) ei havaittu, kun testattiin näytteitä, jotka sisältivät SARS-CoV-2 neutraloivia vasta-aineita jopa 1 mg/mL:n pitoisuksina. Näin ollen testin mittausalue on vähintään 50 ng/mL ja 1 mg/mL välillä.

Häiritsevä yhdisteet

Seuraavien mahdollisesti häiritsevien aineiden liuokset testattiin kahdessa testisarjassa (ilman SARS-CoV-2 neutraloivia vasta-aineita ja neutraloivilla SARS-CoV-2 vasta-aineilla spiikattuina), eivätkä ne häirinneet NADAL® COVID-19 S1-NAb Testiä alla luetelluilla pitoisuksilla.

Asetylysalisylihappo	200 mg/L
Albumiini	20 g/L
Asetaminofeeni	200 mg/L
Askorbiinihappo	20 g/L
Bilirubiini	10 g/L
Kofeiini	200 mg/L
Etanolti	1%
Kreatiini	2 g/L
Gentisiinihappo	200 mg/L
Hemoglobiini	10 g/L
Oksaalihappo	600 mg/L
Virtsahappo	20 g/L
Triglyseridit	600 mg/L

Ristireagoivuus

Anti-influenssa A -virus, anti-influenssa B -virus, anti-RSV, antiadenovirus, HBsAb, anti-syphilis, anti-*H. pylori*, anti-HIV, anti-HCV, HAMA, MERS-CoV ja reumatekijät -positiiviset näytteet testattiin NADAL® COVID-19 S1-NAb Testillä. Ristireagoivuutta näytteiden kanssa ei havaittu testataessa NADAL® COVID-19 S1-NAb Testillä. Anti-SARS-CoV-positiiviset näytteet osoittavat ristireagoivuutta NADAL® COVID-19 S1-NAb Testin kanssa.

Tarkkuus

Toistettavuus

Toistettavuus määritettiin testaamalla 10 replikaattia negatiivisista näytteistä ja näytteistä, jotka olivat positiivisia SARS-CoV-2 neutraloiville vasta-aineille.

Uusittavuus

Uusittavuus määritettiin testaamalla 5 positiivisen kontrollin replikaattia, 8 negatiivista seeruminäytettä ja 5 negatiivista

kokoverinäytettä. Testauksen suoritti 3 operaattoria käytten 3 eri NADAL® COVID-19 S1-NAb testierää, 3 eri sijainnissa 3 eri päivänä.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test osoitti hyväksyttävän toistettavuuden ja uusittavuuden. Negatiiviset ja positiiviset arvot tunnistettiin oikein >99% kerroista.

15. Lähteet

1. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
2. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res* 2011; 81:85-164.
3. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:181-192.
4. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.

Rev. 1, 2021-03-02 OL

1. Avsedd användning

NADAL® COVID-19 S1-NAb-test är en lateral flödeskromatografisk immunanalys för kvalitativ detektion av potentiellt neutraliseraende antikroppar mot SARS-CoV-2 i prover av humant helblod, serum eller plasma (se avsnitt 12 "Begränsningar"). Detta test är avsett att användas som ett hjälpmedel för att avgöra om ett immunsvår mot S1-proteinet i SARS-CoV-2 har inträffat. Testproceduren är inte automatiserad och kräver ingen särskild utbildning eller kvalificering. NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet är endast avsedda för professionellt bruk.

2. Introduktion och klinisk betydelse

COVID-19 (Corona Virus Disease) är en infektionssjukdom orsakad av det nyligen upptäckta coronavuset SARS-CoV-2. De vanligaste symptomen på COVID- 19 är feber, torrhosta, trötthet, sputumproduktion, andnöd, halsont och huvudvärk. En del patienter kan uppleva musklevärk, frossa, illamående, nästäppa och diarré. Dessa symptom uppträder gradvis och är i de flesta fall milda. En del mäniskor blir smittade men utvecklar inga symptom och känner sig inte dåliga. De flesta mäniskor (cirka 80%) återhämtar sig från sjukdomen utan särskild behandling. Cirka en av sex personer som smittas av COVID-19 blir allvarligt sjuka och utvecklar andningssvårigheter. Äldre mäniskor och personer med tidigare kända diagnoser såsom högt blodtryck, hjärproblem eller diabetes är mer benägna att utveckla en allvarlig sjukdom.

COVID-19 överförs via droppsmitta till exempel då man hostar, nyser eller pratar med en smittad person. Dessa droppar kan inandas direkt av andra mäniskor eller kontaminerar ytor och föremål som kan vara smittsamma i flera dagar. De flesta uppskattningar av inkubationsperioden för COVID-19 sträcker sig från 1 till 14 dagar, varav mäniskor redan kan vara smittbärare utan att uppvisa sjukdomssymptom.

3. Testprincip

NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet är en lateral flödeskromatografisk immunanalys för kvalitativ detektion av potentiellt neutraliseraende antikroppar mot SARS-CoV-2 i humant helblod, serum eller plasmaprover.

Membranet har förbelagts med anti-IgM- och anti-IgG-antikroppar i testlinjeregionen (T). Under testningen reagerar provet med spike-protein antigener konjugerade till färgade partiklar. Blandningen migrerar längs membranet genom kapillärverkan och reagerar med anti-IgM- och anti-IgG-antikroppar i testlinjeområdet (T) på membranet. Närvaron av en färgad linje i testlinjeområdet (T) indikerar ett positivt resultat. Frånvaron av en färgad linje i testlinjeområdet (T) indikerar ett negativt resultat.

Bildandet av en färgad linje i kontrolllinjeområdet (C) fungerar som en procedurkontroll, vilket indikerar att rätt mängd provmaterial har tillsatts och membranvätning har uppstått.

4. Reagenser och övrigt material

- 20 NADAL® COVID-19 S1-NAb testkassetter*
- 20 kapillärrör
- 1 buffert "Buffer" (3 mL)**
- 1 bruksanvisning

*innehåller konserveringsmedlet sodiumazid: <0.02% (7,5 mg/test)

**fosfatbuffert innehållande följande konserveringsmedel: sodiumazid: 0,2 mg/mL och kanamycinsulfat: 0,25 g/L

Ingen faromärkning krävs enligt CLP förordningen (EG) № 1272/2008. Koncentrationerna ligger under tröskelvärdet.

5. Utterligare material som behövs

- Provtagningsbehållare (lämpligt för provmaterial som ska testas)
- Centrifug (endast för serum- eller plasmaprov)
- Alkoholkuddar
- Lansetter (endast för fingerstick helblodsprov)
- Tidtagarur

6. Förvaring & hållbarhet

Testkitten bör förvaras vid 2-30°C fram till det angivna utgångsdatumet. Testkassetterna är stabila fram till utgångsdatumet som finns tryckt på folieförpackningen. Testkassetterna bör förvaras i den förseglade folieförpackningen fram till användning. Frys inte testkitten. Använd inte testet efter det angivna utgångsdatumet som anges på förpackningen. Försiktighet bör vidtas för att skydda test och kitkomponenterna från kontaminering. Använd inte testet om det finns bevis på mikrobiell kontaminering eller utfällning. Biologisk kontaminering av doseringsutrustning, behållare eller reagenser kan leda till falska resultat.

7. Varningar och försiktighetsåtgärder

- Endast för professionellt *in-vitro*-diagnostisk användning.
- Läs noggrant igenom testproceduren innan testning.
- Använd inte testet efter att utgångsdatumet på förpackningen har passerat.
- Använd inte testet om folieförpackningen är skadad.
- Testerna är endast för engångsbruk.
- Tillsätt inte provmaterial i reaktionsområdet (resultatområde).
- För att undvika kontamination bör inte reaktionsfältet (resultatfältet) vidröras.
- Undvik korskontaminering av prover genom att använda en ny provuppsamlingsbehållare för varje prov som erhållits.
- Ersätt eller blanda inte komponenter från olika testkit.
- Använd inte bufferna om den är missfärgad eller grumlig. Missfärgning eller grumlighet kan vara ett tecken på mikrobiell kontaminering.
- Ät, drick eller rök ej i området där provexemplar och testkit hanteras.
- Bär skyddsklädsel som exempelvis laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon när proverna analyseras.
- Hantera samtliga prov som om de skulle innehålla smittsamma ämnen. Observera fastställda försiktighetsåtgärder mot mikrobiologiska risker genom hela proceduren och standardlinjerna för en korrekt avfallshantering av prov.
- Testkittet innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierad kunskap om djurs ursprung och/eller sanitära tillstånd garanterar inte fullständigt främvaro av överförbara patogena ämnen. Det rekommenderas därför att dessa

produkter behandlas som potentiellt infektiösa och hanteras i enlighet med vanliga säkerhetsåtgärder (t.ex., skall de inte intas eller inandas).

- Temperatur kan påverka testresultaten negativt.
- Låt prover och reagenser uppnå rumstemperatur före testning. Underlätenhet att följa steget kan minska analysens sensitivitet. Felaktig eller olämplig provinsamling, förvaring eller transport kan ge falskt negativa testresultat.
- Använt testmaterial ska kasseras enligt lokala regleringar.

8. Provtagnings och förberedelser

NADAL® COVID-19 S1-NAb testet kan utföras med helblod (från venipunktur eller fingerstick), serum eller plasma.

Att samla helblodsprover från fingerstick:

- Tvätta patientens hand med tvål och varmt vatten eller rengör med en alkoholkudde. Låt det torka.
- Massera handen utan att röra vid punkteringsplatsen genom att massera handen och uppåt mot fingertoppen på mitt- eller ringfingret.
- Punktera huden med en steril lancett. Torka bort första droppen blod.
- Massera försiktigt handen från handleden till handflatan till fingret för att bilda en rundad bloddropp över punkteringsplatsen.

Helblodsprover från fingerstick bör testas omedelbart.

Venipunktur helblodsprover

Behållare som innehåller antikoagulantia såsom K₂EDTA, natriumcitrat, heparinnatrium eller litiumheparin bör användas för framställning av venöst helblod eller plasmaprover.

Testning bör utföras omedelbart efter provtagning. Lämna inte prover i rumstemperatur under längre perioder.

Om testet ska genomföras inom 2 dagar efter provinsamling, ska helblod som samlats in genom venipunktur förvaras vid 2-8°C.

Frys inte helblodsprover.

Serum- och plasmaprover

Separera serum eller plasma från blod så snabbt som möjligt för att undvika hemolys. Använd endast klara, icke-hemolyserade prover.

Testning bör utföras omedelbart efter provtagningen. Lämna inte proverna vid rumstemperatur under längre perioder. Serum- och plasmaprover kan förvaras vid 2-8°C i upp till 3 dagar. För långvarig förvaring bör proverna förvaras vid -20°C.

Ta fram prover till rumstemperatur före testningen. Frysta prover skall tinas helt och blandas väl före testning. Proverna ska inte frysas och tinas upprepade gånger.

Om prover ska transporteras bör de förpackas i enlighet med bestämmelser för transport av etiologiska ämnen.

Ikteriska, lipemiska, hemolyserade, värmebehandlade och kontaminerade prover kan leda till felaktiga testresultat.

9. Testprocedur

Låt tester, provmaterial, buffert och/eller kontroller nå rumstemperatur (15-30°C) före testutförandet.

1. Ta bort testkassetten från foliepåsen och använd den så snabbt som möjligt. De bästa resultaten kommer att erhållas om testet utförs omedelbart efter öppnandet av foliepåsen. Märk testkassetten med patient- eller kontrollidentifikation.

2. Placera testkassetten på en ren och jämn yta.

3. Håll kapillärröret vertikalt, fyll provet (helblod/serum/plasma) upp till påfäyllningslinjen (cirka 10 µL) och överför det till provbrunnen (S) på testkassetten.

Alternativt kan en mikropipett (10 µL) användas.

4. Håll bufferflaskan vertikalt, tillsätt 2 droppar buffert (cirka 80 µL) i bufferbrunnen (B). Undvik att luftbubblor bildas.

5. Starta timern.

6. Vänta på att de färgade linjerna framträder. Läs testresultatet efter exakt 10 minuter. Tolka inte resultatet efter mer än 20 minuter.



10. Tolkning av resultat

Positivt

Den blå linjen i kontrolllinjeområdet (C) blir röd. En annan röd linje utvecklas i testlinjeregionen (T).



Obs: Färgintensiteten i testlinjeregionen (T) kan variera beroende på koncentrationen av neutraliseringsevigheten mot SARS-CoV-2 i provet. Därför bör varje färgnyans i testlinjeområdet (T) avläsas som positivt. Observera att detta endast är ett kvalitativt test och att det kan inte bestämma analytkoncentrationen i provet.

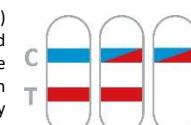
Negativt

Den blå linjen i kontrolllinjeregionen (C) blir röd. Ingen linje utvecklas i testlinjeregionen (T).



Ogiltigt

Resultat från test som inte genererar en blå linje i kontrolllinjeregionen (C) eller att linjen förblir delvis blå vid den angivna avläsningstiden måste kasseras. Läs igenom proceduren och upprepa testet med en ny testkassett. Om problemet kvarstår, sluta omedelbart att använda testkassetten och kontakta din distributör.



O tillräcklig provvolym, felaktig procedurteknik eller utgångna test är de troligaste orsakerna till fel på kontrolllinjen.

11. Kvalitetskontroll

En intern procedurkontroll ingår i testkassetten:

Linjen som ändrar från blått till rött i kontrollinjregionen (C) betraktas som en intern procedurkontroll. Den bekräftar tillräcklig volym av prov, adekvat fuktning av membranet och korrekt procedurkontroll.

God laboratoriepraxis (GLP) rekommenderar att använda externa kontrollmaterial för att säkerställa att testkittet fungerar korrekt.

12. Begränsningar

- NADAL® COVID-19 S1-NAb Testet är endast för professionellt *in-vitro*-diagnostiskt bruk. Testet ska endast användas för kvalitativ detektion av potentiellt neutralisande antikroppar mot SARS-CoV-2 i humant helblod, serum eller plasmaprover. Varken det kvantitativa värdet eller ökningsgraden i koncentrationen av potentiellt neutralisande antikroppar mot SARS-CoV-2 kan bestämmas genom detta kvalitativa test.
- NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet detekterar endast förekomsten av potentiellt neutralisande antikroppar mot SARS-CoV-2 i prover och bör inte användas som det enda kriteriet för att bestämma om ett immunsvar mot S1-proteinet i SARS-CoV-2 har inträffat.
- Som vid alla diagnostiska test ska samtliga resultat tolkas i kombination med annan klinisk information som finns tillgänglig för läkaren.
- Den fortsatta närvaren eller fränvaron av antikroppar kan inte användas för att bestämma framgången eller misslyckandet av behandlingen.
- Resultaten från immunsupprimerade patienter bör tolkas med försiktighet.
- En "high-dose hook" effekt kan uppstå då färgintensiteten på testlinjerna minskar när koncentrationen av neutralisande antikroppar mot SARS-CoV-2 ökar. Om en high-dose hook effekt misstänks kan utspädningen av prover öka testlinjens färgintensitet.

13. Förväntade värden

Svaret från det humana immunsystemet till S1-proteinet i SARS-CoV-2 är kopplat till bildande av specifika antikroppar mot olika epitoper i denna proteindelenhet. Endast några av de bildade IgM- och IgG-antikropparna har en neutralisande effekt på SARS-CoV-2-virioner. IgG-antikroppar kan indikera immunitet. I vissa fall kan det vara så att antikroppar finns i detekterbara mängder först en tid efter det att infektionen eller vaccinationen har inträffat. Vid fall av tillräckligt medfött och tillräckligt cellulärt immunsvar är det också möjligt att detektera antikroppar.

14. Prestandaegenskaper

Klinisk prestanda

Diagnostisk sensitivitet och specificitet

NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet utvärderades i jämförelse med en mikronutraliseringssanalys (cut-off titer 1:20) med användning av kliniska prover från återhämtade patienter såväl som friska, icke-vaccinerade individer.

Mikronutraliseringssanalys			
	Positivt	Negativt	Totalt
NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Positivt	30	0
	Negativt	0	18
	Totalt	30	18

Diagnostisk sensitivitet: >99,9% (90,5% - 100,0%)*
 Diagnostisk specificitet: >99,9% (84,7% - 100,0%)*
 Översiktlig överenskommelse: >99,9% (93,9% - 100,0%)*

* 95% konfidensintervall

NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet utvärderades i jämförelse med en mikronutraliseringssanalys (cut-off titer 1:20) med användning av kliniska prover från såväl vaccinerade som friska, icke-vaccinerade individer.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Mikronutraliseringssanalys		
	Positivt	Negativt	Totalt
	30	2**	32
	0	18	18
	Totalt	30	20

Diagnostisk sensitivitet: >99,9% (91,1% - 100,0%)*
 Diagnostisk specificitet: 90,0% (68,3% - 98,8%)*
 Översiktlig överenskommelse: 96,0% (86,3% - 99,5%)*

* 95% konfidensintervall

** Båda falskt positiva proverna innehöll låga antikropsskoncentrationer och identifierades som positiva med hjälp av mikronutraliseringssanalysen vid en cut-off-titer på 1:10.

I en serokonversionsstudie testades 15 testpersoner med NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet före vaccination, 28 dagar efter den första vaccinationen och 12 dagar efter den andra vaccinationen med ett inaktivert SARS-CoV-2-vaccin. Före den första vaccinationen var alla försökspersoner negativa. Potentiellt neutralisande antikroppar mot S1-proteinet i SARS-CoV-2 kunde detekteras med hjälp av NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet hos 5 testpersoner efter den första vaccinationen och hos alla 15 testpersonerna efter den andra vaccinationen. Alla testade prover bekräftades med hjälp av mikronutraliseringssanalysen.

Specificiteten för NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet utvärderades med 208 serum prover från juni 2019 (före COVID-19-utbrottet). NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet identifierade 207 av 208 prover som sanna negativa och 1 prov som falskt positivt (specificitet 99,5%).

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	Serumprover från juni 2019	
	Positivt	Negativt
	1	207
	Totalt	208

Specificitet: 99,5% (97,5% - 99,9%)*

* 95% konfidensintervall

NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet utvärderades med en ELISA-metod med användning av kliniska prover från vaccinerade såväl som friska, icke-vaccinerade individer.

NADAL® COVID-19 S1-NAb Test	ELISA		
	Positivt	Negativt	Totalt
	30	0	30
	0	30	30
	Totalt	30	30

Diagnostisk sensitivitet: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Diagnostisk specificitet: >99,9% (90,5% - 100,0%)*

Översiktlig överenskommelse: >99,9% (95,1% - 100,0%)*

* 95% konfidensintervall

Analytisk prestanda

Dektionsgräns

Dektionsgränsen för NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet är 50 ng/mL för neutraliseraende antikroppar mot SARS-CoV-2.

Mätintervall

Ingen negativ effekt på T-linjebildningen (prozoneeffekt) observerades vid testning av prover innehållande en koncentration av neutraliseraende antikroppar mot SARS-CoV-2 så höga som 1 mg/mL. Således ligger mätområdet för testet mellan minst 50 ng/mL och 1 mg/mL.

Interfererande ämnen

Lösningar av följande potentiellt interfererande ämnen testades i två testserier (utan neutraliseraende antikroppar mot SARS-CoV-2 och spetsade med neutraliseraende antikroppar mot SARS-CoV-2) och visade ingen störning med NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet vid de koncentrationer som anges nedan.

Acetylsalicylsyra	200 mg/L
Albumin	20 g/L
Acetaminofen	200 mg/L
Askorbinsyra	20 g/L
Bilirubin	10 g/L
Koffein	200 mg/L
Etanol	1%
Kreatin	2 g/L
Gentisinsyra	200 mg/L
Hemoglobin	10 g/L
Oxalsyra	600 mg/L
Urinsyra	20 g/L
Triglycerider	600 mg/L

Korsreaktivitet

Anti-influensa A-virus, anti-influensa B-virus, anti-RSV, anti-adenovirus, HBsAb, anti-syfilis, anti-H. pylori, anti-HIV, anti-HCV, HAMA, MERS-CoV och reumatoidfaktorer positiva prover testades med NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet. Ingen korsreaktivitet med proverna observerades vid testning med NADAL® COVID-19 S1-NAb Test. Anti-SARS-CoV-positiva prover visar korsreaktivitet med NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet.

Precision

Repeterbarhet

Precisionen fastställdes genom att testa 10 replikat av negativa prover och prover som var positiva för neutralisering av antikroppar mot SARS-CoV-2 .

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten fastställdes genom att testa 5 replikat av en positiv kontroll, 8 negativa serumprover och 5 negativa helblodprover. Testning utfördes av 3 aktörer med 3 oberoende NADAL® COVID-19 S3-NAb testpartier på 3 olika platser under 3 separata dagar.

NADAL® COVID-19 S1-NAb-testet visade acceptabel repeterbarhet och reproducerbarhet. De negativa och positiva värdena identifierades korrekt >99% av tiden.

15. Referenser

1. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
2. Weiss SR, Leibowitz JL, *Coronavirus pathogenesis*, *Adv Virus Res* 2011; 81:85-164.

3. Cui J, Li F, Shi ZL, *Origin and evolution of pathogenic coronaviruses*, *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:181-192.
4. Su S, Wong G, Shi W, et al, *Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses*, *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.

Rev. 1, 2021-03-02 KS

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	in-vitro-Diagnostika	in-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Dispositivo medico-diagnostico <i>in-vitro</i>	Tylko do diagnostyki <i>in-vitro</i>
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Numéro de lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczająco na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkity	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käytöohjejutta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning nøye
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in-vitro</i>	tarkoituksellinen lääkeaine	Medicinteknik produkt avsedd för <i>in-vitro</i> -diagnostik	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> -diagnostiek	Medicinsk udstyr til <i>in-vitro</i> -diagnostik	<i>in-vitro</i> diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperatur-begränsning	Temperatuurlimitet	Temperatur-begrænsning	Temperatur begrensning
	Código do lote	Kód šarže	Erakoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode	Merking
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebujte do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogové číslo	Luetelonnumero	Listnummer	Catalogus nummer	Bestillingens nummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Volendo voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrekkelig for<n> tester

Our Teams**Germany:****Regensburg**

Tel: +49 941 290 10-0
 Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0
 Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29
 Free Tel: 0800 291 565
 Fax: +49 290 10-50
 Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18
 Free Tel –UK: 0808 234 1237
 Free Tel –IRE: 1800 555 080
 Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240
 France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720
 Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82
 Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux, Tel: 800 211 16
 Lux, Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759
 Free Tel: 900 938 315
 Fax: +49 941 290 10-50
 Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34
 Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44
 Free Tel: 00 800 491 15 95
 Fax: +49 941 290 10-50
 Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735
 Tel, Verde: 800 849 230
 Fax: +49 941 290 10-50
 Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600
 Free Tel: 0800 0222 890
 Fax: +31 70 30 30 775
 Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries:**Denmark**

Tel: +31 703075 605
 Free Tel: 808 887 53

Finland

Tel: +31 703075 606
 Free Tel: 0800 918 263
 Free Fax: 0800 918 262

Norway

Tel: +31 703075 605
 Free Tel: 800 16 731

Sweden

Tel: +31 703075 605
 Free Tel: 020 79 09 06

nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany
www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com
 Tel: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1

