

COVID-19-CHECK -1

Ref. 200081-4-2-3L (20 tests)/Ref. 200081-4-2-3L-10T (10 tests)

Test rapido immunocromatografico per la rilevazione di anticorpi IgM e IgG del virus SARS-CoV-2 nei campioni di sangue, plasma o siero umani.

I- USO PREVISTO

Il test COVID-19-CHECK-1 deve essere utilizzato per la rilevazione qualitativa degli anticorpi IgM / IgG anti-SARS-CoV-2 nel siero, nel plasma o nel sangue intero. È inteso per essere utilizzato dai professionisti come strumento per valutare lo stato sierologico COVID-19 delle persone e non può essere utilizzato direttamente per diagnosticare un'infezione da coronavirus 2019 (COVID-19).

II- PRINCIPIO

Un nuovo focolaio di malattia simile alla polmonite è apparso in Cina, nella provincia di Hubei, alla fine del 2019 (1). L'agente di questa malattia è stato identificato come una nuova variante zoonotica pan-Betacoronavirus, chiamata SARS-CoV-2, la cui sequenza genomica a lunghezza intera ha mostrato una stretta relazione (96%) con il ceppo di coronavirus simile a SARS di pipistrello BatCov RaTG13 (2). Le vie di trasmissione sono state identificate come contaminazione da goccioline dal naso o dalla bocca durante uno stretto contatto non protetto tra l'infetto e le persone sane (1). Le goccioline di soggetti infetti possono atterrare su oggetti e altre persone possono essere colpite da COVID-19 quando vengono a contatto con questi oggetti.

Alla fine di febbraio 2020, sono stati segnalati casi in 57 paesi con rapido aumento in Iran, Corea del Sud e Italia (3). I dati raccolti sulla malattia mostrano che i sintomi di COVID-19 non sono specifici e che i segni della malattia possono variare da nessun sintomo a grave polmonite e morte in alcuni casi (1). I pazienti più anziani (> 65 anni) con comorbidità e sindrome da difficoltà respiratorie acute sono ad aumento rischio di morte (4, 5). Pazienti con gravi danni cardiovascolari sono stati anche segnalati con livelli in aumento di troponina cardiaca I e creatina chinasi-MB quando infetti (6).

La SARS-CoV-2 può essere rilevata 1 o 2 giorni prima dell'insorgenza dei sintomi nel tratto respiratorio superiore, ma è stata anche segnalata la diffusione virale fino a 24 giorni (7). Il virus può persistere da 7 a 12 giorni in casi moderati e fino a 2 settimane in casi gravi (1). La carica virale nel tampone della gola e nell'espettorato ha raggiunto il picco a circa 5 o 6 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi (8).

Gli anticorpi anti-SARS-CoV-2 possono essere rilevati da 8 a 11 giorni per IgM o da 18 a 21 giorni per IgG (9) dopo essere stati infettati dal virus. Gli anticorpi specifici per SARS-CoV-2 sono diretti contro gli antigeni della proteina spike e principalmente S1 (10).

COVID-19-CHECK-1 è un test di screening immunocromatografico per la rilevazione di anticorpi IgM e IgG diretti a SARS-CoV-2. Può essere utilizzato con campioni di plasma, siero o sangue intero. Il metodo si basa su una miscela ricombinante di antigeni SARS-CoV-2 marcati con particelle d'oro e anticorpi anti-umani IgM e IgG legati alla fase solida della membrana. La fusione multipla di epitopi delle proteine SARSCoV-2 è prodotta sinteticamente in base alle informazioni

genetiche del virus. Questo materiale non è quindi infettivo al 100%.

Mentre il campione scorre attraverso il cuscinetto assorbente, gli anticorpi IgM o IgG anti-SARSCoV-2, quando presenti nel campione, si legano al coniugato ricombinante di antigeni d'oro. Questo complesso migra sulla membrana e si lega ulteriormente agli anticorpi anti-umani IgM (zona Test 1) e / o IgG (zona Test 2) rivestiti sulla zona di reazione producendo distinte bande di colore. In assenza di anticorpi anti-SARS-CoV-2, non c'è linea nella zona di reazione positiva. Il liquido continua a fluire attraverso la membrana per capillarità e produce una banda di colore rosato nella zona di controllo (C), dimostrando che i reagenti funzionano correttamente.

III- COMPONENTI DEL KIT COVID-19-CHECK-1

Ogni kit contiene tutto il necessario per eseguire 10 o 20 test:

- Unità di prova COVID-19-CHECK-1	10	20
- Diluente in un flacone contagocce contenente tampone salino, detergente e sodio azide (NaN ₃ <0,1%)	1,5 mL	3 mL
- Foglio istruzioni	1	1

Materiale necessario ma non fornito:

- Pipetta di precisione o apparecchiature simili per erogare 10 o 20 µL.

IV- STOCCAGGIO E STABILITÀ

1- Tutti i componenti del kit COVID-19-CHECK-1 devono essere conservati a qualsiasi temperatura compresa tra + 4 ° C e + 30 ° C nella confezione sigillata.

2- **Non congelare i test del kit.**

3- COVID-19-CHECK-1 è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

V- PRECAUZIONI

1- Questo test è progettato esclusivamente per uso diagnostico in vitro e per uso professionale.

2- Leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il test.

3- Manipolare tutti i campioni come se contenessero agenti infettivi. Una volta completata la procedura del dosaggio, smaltire i campioni con cura dopo averli sterilizzati in autoclave per almeno un'ora. In alternativa, possono essere trattati con una soluzione dallo 0,5 all'1% di ipoclorito di sodio per un'ora prima dello smaltimento.

4- Indossare indumenti protettivi come camici da laboratorio e guanti monouso durante il dosaggio dei campioni. Evitare qualsiasi contatto tra mani e occhi o naso durante la raccolta e il test dei campioni.

5- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui vengono manipolati i campioni e i reagenti del kit.

6- Non utilizzare oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

7- Non utilizzare un test da un involucro protettivo danneggiato.



VI- RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1- Il test può essere eseguito con siero, plasma (citrato, EDTA o eparina) o campioni di sangue intero. **Non utilizzare campioni emolizzati.**

2- Il campione deve essere raccolto nelle condizioni standard di laboratorio (in modo asettico in modo da evitare l'emolisi).

3- **È possibile utilizzare campioni di sangue intero con puntura di dito che devono essere testati immediatamente. I campioni di sangue intero venoso devono essere testati entro 4 ore.**

4- Se non testato immediatamente, il campione di plasma / siero deve essere conservato in frigorifero (da + 2 ° C a + 8 ° C) per un massimo di 5 giorni. Se il test viene ritardato per più di 5 giorni (11), il campione deve essere congelato (-20 ° C). Il campione congelato deve essere completamente scongelato, accuratamente miscelato e portato a temperatura ambiente prima del test. Evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti.

5- In caso di opacità, elevata viscosità o presenza di particelle nel campione di siero, è necessario centrifugarlo prima del test.

6- Se i campioni devono essere spediti, devono essere imballati in conformità con le normative relative al trasporto di agenti eziologici.

Nota: Indipendentemente dalla gravità della malattia, si ammette, secondo il metodo COVID-19 (15), che la rilevazione di IgM / IgG è ottimale a partire da 15 giorni dopo la comparsa dei sintomi. Se i campioni vengono raccolti troppo presto, si possono ottenere risultati erroneamente negativi a causa di un livello insufficiente di anticorpi.

VII- PROCEDURA DEL SAGGIO

1- Consentire l'esecuzione di campioni e test COVID-19-CHECK-1 a temperatura ambiente prima del test.

2- Rimuovere l'unità di test dal suo involucro protettivo (strappandolo lungo la divisione) e posizionare su una superficie piana.

3- Etichettare l'unità di test con il nome del paziente o numero di identificazione.

Il pozzetto del campione (▷) è suddiviso in 2 pozzetti secondari identificati con il segno 1 per i campioni di plasma, siero o sangue intero(lato destro) e contrassegnare 2 per il diluente (lato sinistro).

4- Usando una pipetta di precisione, dispensare 10 µL di siero o plasma nel **pozzetto del campione 1**. Se si utilizza sangue intero, dispensare 20 µL nel pozzetto del campione 1 e **attendere che l'intero campione del sangue sia assimilato completamente prima di aggiungere diluente.**

5- Aggiungere 3 gocce (100 µL) di diluente usando il flacone contagocce nel **pozzetto del diluente 2 con un intervallo di 2-3 secondi tra ogni goccia**.

6- Leggere i risultati del test dopo 10-15 minuti dall'aggiunta del diluente.

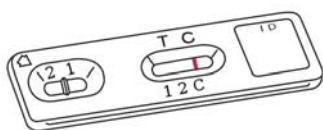
NON INTERPRETARE DOPO 15 MINUTI.

VIII- LETTURA DEI RISULTATI DELLA PROVA

ATTENZIONE: qualsiasi linea visibile nell'area di test che sia forte o debole (anche molto più debole della linea di controllo) dovrebbe essere interpretata come positiva.

Negativo :

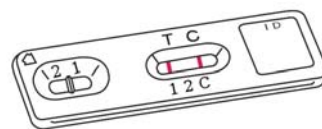
Una banda colorata appare in zona di controllo (C). Il campione non contiene IgM rilevabili né IgG diretto contro la SARS-CoV-2.



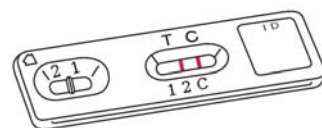
Positivo :

Appaiono due o tre bande di colore (T e C).

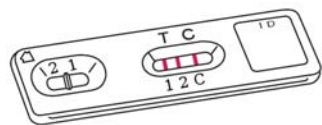
a) Oltre alla banda di controllo (C), appare una linea colorata nella zona T1. Il campione contiene anticorpi IgM specifici per SARS-CoV-2 e indica una primaria / recente infezione.



b) Oltre alla banda di controllo (C), appare una linea colorata nella zona T2. Il campione contiene anticorpi IgG specifici per SARS-CoV-2 e può indicare una secondaria infezione o uno stato avanzato della malattia.



c) Compaiono tre bande di colore nella finestra. Il campione contiene anticorpi IgM e IgG specifici per SARS-CoV-2 e può indicare una attiva/secondaria infezione.



Inconcludente:

Se nella zona di controllo non è visibile una banda di colori distinta (C), il test è inconcludente. Si consiglia, in questo caso, di ripetere il test con un nuovo dispositivo.

Interpretazione dei risultati clinici:

Le indagini cliniche COVID-19 in laboratorio seguono due metodi:

- Rilevazione del coronavirus stesso mediante il metodo RT-PCR (stadio iniziale della malattia).
- Valutazione della risposta immunitaria adattativa del corpo alla presenza del virus (fase successiva della malattia).

Il test COVID-19-CHECK-1 completa RT-PCR nel monitorare la progressione della malattia (13). Per capire il significato clinico dei risultati ottenuti usando COVID-19-CHECK-1, devono essere considerate le seguenti informazioni.

Risultati dei test			Interpretazione clinica
PCR	IgM	IgG	
+	-	-	Il paziente potrebbe essere nel periodo di infezione
+	+	-	Il paziente può essere nella fase iniziale di infezione
+	+	+	Il paziente è nella fase attiva di infezione
+	-	+	Il paziente può essere in ritardo o stadio ricorrente di infezione
-	+	-	Il paziente può essere nella fase iniziale di infezione. La PCR potrebbe essere erroneamente negativa
-	-	+	Il paziente potrebbe aver avuto una passata infezione, e si è ripreso
-	+	+	Il paziente può trovarsi nella fase di recupero di un'infezione o la PCR può essere erroneamente negativa

IX- PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

Secondo le raccomandazioni dell'Autorità sanitaria francese, la sensibilità diagnostica dovrà essere valutata paragonandola al metodo PCR mentre la specificità diagnostica dovrà essere valutata usando campioni raccolti prima dell'epidemia del COVID-19 (14).

Il risultato del test COVID-19-CHECK-1 è considerato essere positivo quando IgM o IgG o entrambi mostrino risultati positivi.

a) Sensibilità diagnostica

Tra i 93 campioni di siero e 12 campioni di sangue intero testati con il metodo PCR, 58 campioni di siero e 12 campioni di sangue intero sono risultati essere positivi. Questi campioni sono stati poi testati con il test rapido COVID-19-CHECK-1. I risultati ottenuti sono riassunti nella tabella 1 sottostante.

		Metodo di riferimento (PCR positivo)		
		Siero	Sangue intero	Total
COVID-19-CHECK-1	IgM+/IgG+	42	1	43
	IgM+/IgG-	1	0	1
	IgM-/IgG+	9	10	19
	Total	52	11	63

Tabella 1

La sensibilità diagnostica è calcolata come segue:

$$\frac{(52+11)}{(58+12)} \times 100 = 90\% \text{ (CI 95\% [77.55 - 96.14]*)}$$

b) Specificità diagnostica

100 campioni di siero ben documentati raccolti prima di Settembre 2019 sono stati usati ai fini di questo studio. 71 campioni di siero sono stati raccolti da individui sani e 29 campioni sono stati ottenuti da individui con patologie (marcatori di tumori con alti livelli di concentrazione).

Tra i 100 campioni di siero, 97 di essi hanno mostrato risultati negativi e 3 campioni sono risultati positivi quando sono stati testati con il test COVID-19-CHECK-1. I risultati ottenuti sono sintetizzati nella tabella 2 come di seguito:

COVID-19-CHECK-1	Negative	97
	IgM+/IgG+	2
	IgM+/IgG-	1
	IgM-/IgG+	0
	Total	100

Table 2

La specificità diagnostica viene calcolata come segue:

$$\frac{97}{100} \times 100 = 97\% \text{ (CI 95\% [91,06 - 99,61]*)}$$

L'accordo generale è calcolato come segue:

$$\frac{(63+97)}{(70+100)} \times 100 = 94.12\% \text{ (CI 95\% [89.08 - 97.18]*)}$$

* CI 95%: 95% intervallo di sicurezza.

Tutti gli studi sono stati eseguiti in Francia usando campioni di siero ben documentati provenienti dall'Europa.

c) Reazioni incrociate e specificità analitica

20 campioni di siero ognuno contenente un alto livello di anticorpi sia di CMV (Cytomegalovirus), EBV (Epstein-Barr virus) o Dengue e 18 campioni di siero aventi alti livelli di anticorpi che sono stati testati alla Chikungunya. Le reazioni incrociate si sono verificate in 3 casi per CMV, 1 caso per EBV e 1 per Chikungunya mentre nessuna reazione si è verificata per Dengue.

Campioni arricchiti con anti-INFLUENZA A (H₁N₁), anti-INFLUENZA A (H₃N₂), anti-INFLUENZA B (Yamagataceppo) o anticorpi anti-RSV (virus respiratorio sinciziale) non hanno mostrato alcuna reazione incrociata.

d) Interferenze

Il test COVID-19-CHECK-1 non è immunodosaggio antigene a sandwich che utilizza una coppia di anticorpi, cioè un anticorpo immobilizzato sulla fase solida e un altro anticorpo coniugato con oro colloidale, ma è un immunodosaggio sierologico immune-cattura per la rilevazione di anticorpi IgM e / o IgG che reagiscono con l'antigene specifico SARS-CoV-2 (proteina ricombinante) accoppiata all'oro colloidale. Perciò non è possibile alcuna interazione tra i diversi componenti "attivi" del test.

1) HAMA

Una diversa diluizione di campioni di siero altamente positivi HAMA (anticorpi umani antimurini) tipo 1 e tipo 2 sono stati testati in triplicati utilizzando il test rapido COVID-19-CHECK-1. Non è stata osservata nessuna reazione incrociata ne per i risultati di IgM ne di IgG.

2) RF

Un campione di siero contenente un alta concentrazione di 4,000 IU/mL RF è stato testato in triplicato usando il test rapido COVID-19-CHECK-1. Non è stata osservata nessuna reazione incrociata ne per i risultati di IgM ne di IgG.

3) Anticoagulanti

4 campioni di siero (1 negativo e 3 positivi) iniettati con 40 mg/mL di citrato, 14 IU/mL di eparina e 2 mg/mL di EDTA sono stati testati in 4 replicati ciascuno utilizzando il test rapido COVID-19-CHECK-1. Citrato, eparina e EDTA non hanno mostrato nessun effetto ne per IgM ne per IgG quando sono stati comparati i risultati ottenuti utilizzando lo stesso campione senza anticoagulanti.

4) Bilirubina e trigliceridi

3 campioni di siero (1 negativo e 2 positivi) iniettati sia con bilirubina (0,3 g/L) o trigliceridi (10 g/L) sono stati testati utilizzando il test rapido COVID-19-CHECK-1.

I risultati mostrano che bilirubina e trigliceridi non interferiscono fino a concentrazioni rispettivamente di 0,3 g/L e 10 g/L.

e) Effetto Matrix

10 campioni di siero positivi e 10 negativi addizionati di globuli rossi da campioni di sangue intero negativo sono stati testati usando il test rapido COVID-19-CHECK-1. Nessuna differenza nei risultati per IgM o IgG è stata osservata tra il siero e la matrice di sangue intero.

f) Ripetibilità intra-lotto

30 replicati di ciascuno dei 3 campioni di siero analizzati per PCR (1 campione negativo, 2 campioni positivi per IgM e / o IgG) sono stati eseguite. Tutti i risultati ottenuti sono corretti e conformi ai risultati attesi. La ripetibilità all'interno del lotto è del 100%.

g) Riproducibilità interlotta

3 campioni di sangue intero negativi, 3 campioni di siero negative e 5 campioni di siero positive sono stati ciascuno testate con 3 sistemi di lotti differenti di COVID-19-CHECK-1.

I campioni negativi e positivi sono stati correttamente identificati nel 100% dei casi.

X- LIMITAZIONI

1- La procedura COVID-19-CHECK-1 e l'interpretazione dei risultati devono essere seguiti da vicino. Questo test è progettato per rilevazione di anticorpi per SARS-CoV-2 nel siero umano, plasma e sangue intero. Qualsiasi risultato derivato dal dosaggio di altri fluidi corporei e dal dosaggio di siero, plasma o del sangue intero potrebbe non essere interpretato, in base ai criteri attuali. Quindi, altri fluidi corporei e campioni riuniti non possono essere analizzati usando COVID-19-CHECK-1.

2- Per pazienti asintomatici o quando i segni non sono chiaramente interpretabili ma si sospetta un caso COVID-19, è consigliato di ripetere il test, in caso di primo risultato negativo, 2 o 3 settimane dopo (11) o di eseguire un test PCR.

3-La reazione immunologica degli individui dipenderà dalla gravità della malattia. Infezioni blande condurranno a bassi livelli di anticorpi, cioè linee di test deboli mentre infezioni gravi porteranno ad alti livelli di anticorpi, ovvero linee di test marcate.

4- Come per qualsiasi procedura diagnostica, il medico dovrebbe valutare i dati ottenuti usando questo kit alla luce dell'altre informazioni cliniche disponibili.

5- COVID-19-CHECK-1 è un test qualitativo che non può essere usato per determinare la concentrazione dell'anticorpo anti-SARS-CoV-2 né il tasso di aumento del livello di anticorpi.

6- Un eccesso di biotina (vitamina B8) può abbassare la linea di controllo di intensità del colore o addirittura portare alla scomparsa della linea di controllo se il livello di concentrazione di biotina è molto alto.

7- L'infezione da SARS-CoV-2 nelle donne in gravidanza può aumentare rischi per la salute di madri e bambini durante la gravidanza (12).

8- Nella fase iniziale della malattia, il livello di IgM potrebbe essere inferiore ai livelli rilevabili.

9- La presenza o assenza di anticorpi non può essere utilizzata per determinare il successo o il fallimento di un trattamento medico.

10- I risultati nei pazienti immunosoppressi devono essere interpretati con cautela e hanno bisogno di una consulenza medica.

11- Se il test è negativo e i sintomi clinici persistono, sono consigliati test aggiuntivi con altri metodi clinici. Un risultato negativo non preclude la possibilità di infezione da SARS-CoV-2.

XI- BIBLIOGRAFIA

1- **Report of the WHO-China Joint Mission** on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). 16-24 February 2020.

2- **LI X, Zai J, Zhao Q, et al**, "Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-Cov-2", J. Med Virol, 2020, 1-10.

3- **Novel coronavirus (COVID-19)**; Information for clinicians Australian Government Department of Health. 2020.

4- **Yang X, Yu Y, Shu H et al**. "Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study", Lancet Respir. Med.;, 2020, 1-7.

5- **Zhang J, Dong X, Cao Y et al**, "Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China", Allergy, 2020, 1-12.

6- **Zheng Y, Ma Y, Zhang J and Xie X**. "COVID-19 and the cardiovascular system". Cardiology, 2020, www.nature.com/nrcardio.

7- **Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S et al**. "Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore". JAMA, 2020

8- **Zhang Z, Chen D, Xia Y et al**. "Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples". 2020 www.thelancet/infection Vol 20, E1-E7.

9- **Lee N, Li C, Tsai H et al**. "A case of COVID-19 and pneumonia returning from Macau in Taiwan: Clinical course and anti-SARS-CoV-2 IgG dynamic". J. of Microbiology, Immunology and Infection. 2020, 1-3.

10- **Okba NM, Müller MA, Li W, Wang C et al**. "SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients". 2020, MedRxiv, 1-10.



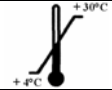


11- Dépistage en laboratoire des cas suspects d'infection humaine par le nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV). Lignes directrices provisoires du 17 janvier. O.M.S., 2020, 1-7.

12- **Liu Y, Chen H, Tang K and Guo Y**. "Clinical manifestations and outcome of SARS-CoV-2 infection during pregnancy". J. of infection. 2020.

13- **Zhao, J, Yuan Q, Wang H et al**. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. Clinical Infectious Diseases, ciaa344, 2020.

14 - Cahier des charges définissant les modalités d'évaluation des performances des tests sérologiques détectant les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2. HAS. Avril 2020.

15- Place des tests sérologiques dans la stratégie de prise en charge de la maladie COVID-19. Rapport évaluation HAS. Mai 2020.

	Leggere le istruzioni prima dell'uso		Diagnostica in vitro
	Limitazioni della temperatura		Non riutilizzare
	Produttore		



Prodotto da VEDALAB - France