



COVID-19 NAb

Test Rapido (Point-of-Care) Quantitativo per gli Anticorpi Neutralizzanti (Nab) anti COVID-19

Determinazione Quantitativa degli Anticorpi Neutralizzanti (NAb), prodotti a seguito di infezione da SARS-CoV-2 o di vaccinazione verso COVID-19, su campioni di sangue intero, siero o plasma umani



Esclusivamente per uso professionale diagnostico in vitro

Leggere attentamente le istruzioni per l'uso

SCOPO D'USO

“TestNOW® - COVID-19 NAb Test Device” è un Test Rapido Immunocromatografico “in vitro” per la rilevazione quantitativa (con Risultato Digitale) degli Anticorpi Neutralizzanti circolanti (NAb) verso il SARS-CoV-2 che bloccano l'interazione tra il Dominio del Recettore di Legame (Receptor Binding Domain - RBD) della Proteina virale Spike (S) con i Recettori cellulari di Superficie per l'Enzima di Conversione dell'Angiotensina-2 (ACE2). Il **TestNOW® - COVID-19 NAb** rileva gli Anticorpi Neutralizzanti (NAb), nel sangue intero, siero o plasma, i quali neutralizzano l'interazione RBD vs ACE2 dopo l'infezione da SARS-CoV-2 o dopo la vaccinazione per COVID-19.

TestNOW® - COVID-19 NAb è un test POC (Point of Care) quantitativo, su sangue intero periferico, siero o plasma, per verificare l'efficacia della vaccinazione verso il Covid 19 e monitorare longitudinalmente il livello degli anticorpi protettivi (neutralizzanti), per aiutare a determinare la durata dell'immunità.

SOMMARIO

Il coronavirus 2 (SARS-CoV-2, o 2019-nCoV) causa della Sindrome Respiratoria Acuta Severa è un virus ad RNA senso-positivo, con pericapside non segmentato. È responsabile della malattia da coronavirus 2019 (COVID-19), contagiosa negli esseri umani. SARS-CoV-2 presenta diverse proteine strutturali inclusa la proteina spike (S), la proteina dell'envelope (E), la proteina di membrana (M) e di nucleocapside (N). La proteina spike (S) contiene il Receptor Binding Domain (RBD), che è responsabile del riconoscimento del recettore cellulare di superficie, l'Enzima di Conversione dell'Angiotensina-2 (ACE2). È stato dimostrato che la zona RBD della proteina S del Sars-CoV-2 interagisce fortemente con i recettori umani ACE2 portando alla endocitosi ed alla replicazione virale nelle cellule del polmone dell'ospite. L'infezione da SARS-CoV-2 oppure la vaccinazione verso il COVID-19 provocano una risposta immune, che prevede la produzione di anticorpi nel sangue. Gli anticorpi prodotti forniscono protezione verso future infezioni dal virus, poiché restano nel sistema circolatorio per mesi/anni dopo l'infezione e saranno in grado di legarsi velocemente e fortemente al virus patogeno, bloccando l'infiltrazione cellulare e la replicazione. Questi sottogruppi di anticorpi della classe IgG sono denominati Anticorpi Neutralizzanti (NAb).

IL PRINCIPIO DEL TEST

TestNOW® - COVID-19 NAb Il Test utilizza il principio dell'Immunocromatografia. Gli anticorpi anti IgG umane da topo sono immobilizzati sulla membrana di nitrocellulosa nella zona della banda “T” (Test) sulla cassetta. Nel momento in cui il campione migra attraverso la membrana, il coniugato composto da RBD colorato e Orocolloide forma un complesso con gli Anticorpi Neutralizzanti specifici (NAb) verso il SARS-CoV-2, se presenti nel campione in esame.

Questo complesso migra ulteriormente lungo la membrana verso la zona “Test” dove è “catturato” dagli anticorpi anti IgG umane legate alla membrana, portando alla formazione di una banda colorata, che indica un risultato positivo del test. L'intensità della banda colorata nella zona della linea Test dipende dalla concentrazione degli Anticorpi Neutralizzanti presenti nel campione in esame, maggiore è la concentrazione più forte è la colorazione. L'assenza di questa banda colorata indica un risultato negativo del test. Una banda di controllo colorata nella zona “C” (Controllo) apparirà sulla membrana se il test è stato effettuato correttamente, senza alcun legame con la presenza o meno di Anticorpi Neutralizzanti verso il SARS-CoV-2 nel campione in esame.

MATERIALE FORNITO

1. **TestNOW® - COVID-19 NAb** Cassetta Test - 25 Cassette/kit
2. Tamponi per diluizione campione - 1 Fl. con 6.5 ml
3. **UniSampler™** Devices - 26 Provette di Raccolta + 26 Capillari
4. RFID Card - 1
5. Istruzioni per l'Uso - 1

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

1. Cronometro
2. Lancette Pungidito di sicurezza
3. Batuffolo con Alcool
4. Guanti monouso e disinfettante
5. Contenitore per rifiuti biologici
6. Micropipette per siero o plasma
7. **RapiRead™** CUBE Reader (marcato CE) – Da acquistare separatamente per la lettura digitale quantitativa

CONSERVAZIONE

1. Conservare le Cassette Test tra 4° e 30°C nella bustina originale, ben chiusa
2. La data di scadenza indicata sulla bustina è legata alle condizioni di conservazione.
3. La Cassetta Test deve restare nella bustina originale, chiusa, fino al momento dell'uso. Dopo l'apertura, la Cassetta Test deve essere utilizzata subito. Non riutilizzare mai la Cassetta Test.

RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE

1. I campioni di sangue intero, siero o plasma devono essere raccolti alle condizioni standard di laboratorio.
2. Deve essere evitata l'inattivazione dei campioni con il calore, potrebbe causare emolisi e denaturazione proteica.
3. Il test mostra le migliori performances su campioni freschi di sangue intero/siero/plasma. Se il test non può essere effettuato immediatamente, il campione di siero/plasma può essere conservato fino a 3 giorni a 2-8°C. per conservazioni più lunghe, il campione di siero/plasma può essere congelato a -20°C per 3 mesi o a -70°C per periodi più lunghi. Congelamenti e scongelamenti ripetuti devono essere evitati.
4. Come conservante può essere addizionata della Sodio Azide fino allo 0,1% senza modificare i risultati.

CONTROLLO DI QUALITA'

1. La banda di controllo "C" è composta da un reagente interno, per la procedura di controllo. La Banda di controllo "C" apparirà se il test è stato effettuato correttamente ed i reagenti del kit sono reattivi.

PROCEDURA PER IL CAMPIONE DI SANGUE INTERO

1. Portare i componenti del kit a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Aprire la bustina e togliere la Cassetta Test. Una volta tolta, la Cassetta Test deve essere usata subito.
3. Identificare la Cassetta Test con l'ID del campione in esame.
4. Lavarsi le mani ed asciugarle accuratamente.
5. Dispensare 5 gocce del Tampone per diluizione campione nella Provetta di Raccolta.
6. Strofinare leggermente l'anulare o il medio della mano non-dominante del paziente da esaminare.
7. Usare la lancetta pungidito di sicurezza per pungere lateralmente il polpastrello prescelto.
8. Raccogliere 10µl di sangue utilizzando il Capillare (vedi le Istruzioni per l'Uso di seguito, punto 4) ed effettuare subito lo step successivo.
9. Dopo aver inserito il Capillare con il campione nella Provetta di Raccolta (punto 5) ed aver agitato 3/4 volte vigorosamente (punto 6), togliere il cappuccio dal Capillare e dispensare 3 gocce di campione diluito nel pozzetto della Cassetta Test (S), attendere 15 minuti, leggere e registrare il risultato con il **RapiRead™** CUBE Reader.

Nota Importante: I risultati ottenuti oltre i 15 minuti dalla dispensazione del campione potrebbero non essere affidabili.

PROCEDURA PER IL CAMPIONE DI SIERO/PLASMA

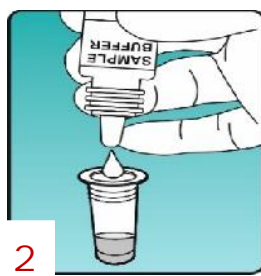
TestNOW® - COVID-19 NAb è stato progettato principalmente per l'uso di sangue intero periferico. Tuttavia è possibile utilizzare anche campioni di siero o plasma. Al posto della raccolta di sangue intero con il Capillare, dispensare 5µl di siero o plasma nella Provetta di Raccolta utilizzando una Micropipetta e seguire le Istruzioni per l'Uso dell'**UniSampler™** Device".

ISTRUZIONI PER L'USO DEI DISPOSITIVI **UniSampler™**



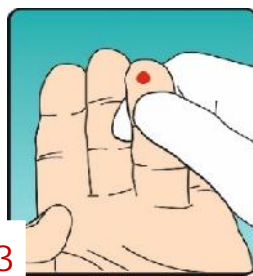
1

I dispositivi UniSampler™ sono composti da una Provetta di Raccolta (a sinistra) e un Capillare con Tappo (a destra).



2

Dispensare 5 gocce di Tampone per Campioni dal flacone nella Provetta di Raccolta.



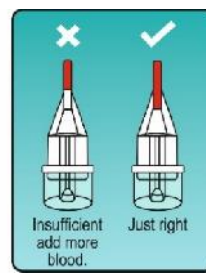
3

Con una Lancetta Pungidito pungere un polpastrello e far uscire del sangue.



4

Delicatamente poggiare la punta del Capillare al punto di fuoriuscita delle gocce di sangue. Per capillarità, lasciare riempire il capillare con 10µl di sangue, poi fermarsi.

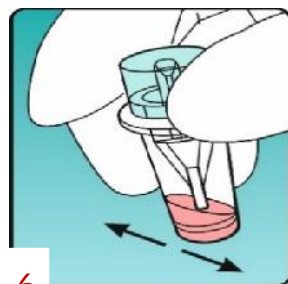


Insufficient add more blood. Just right



5

Inserire il Capillare a fondo nella Provetta di Raccolta e premere per chiudere saldamente.



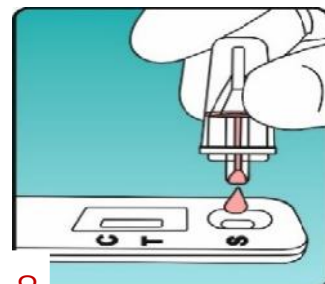
6

Agitare vigorosamente il dispositivo UniSampler™ così composto per 3-4 volte, fino a completo mescolamento del sangue con il Tampone contenuto nella Provetta di Raccolta.



7

togliere il Tappo dell'UniSampler™



8

ruotare sottosopra l'UniSampler™ e premere delicatamente fino a dispensare 3 gocce di sangue pre-mescolato nel pozzetto di campionamento (S) della Cassetta Test.

Procedura di Lettura **RapiRead™** CUBE READER



1. Controllare il “Corretto Orientamento” della Cassetta Test, come mostrato sull’Adattatore per Cassette Test e per RapiRead™ CUBE Reader.



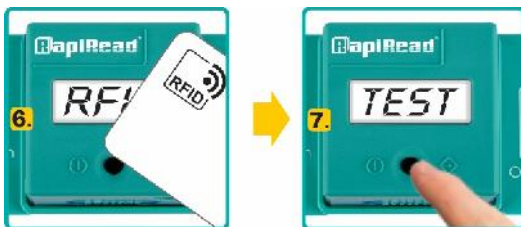
2. Posizionare l’Adattatore sopra la Cassetta Test.

3. Posizionare il **RapiRead™** sull’Adattatore.



4. Avviare il **RapiRead™** premendo il pulsantino nero. Il Lettore effettuerà un “Self-Test”, durante questa fase lo schermo mostra “WAIT” (attendere). Dopo l’emissione di un segnale acustico, lo schermo mostra la parola “ON”. Per effettuare una lettura, premere ancora per un secondo il pulsantino nero.

5. Lo schermo mostra la parola “RFID”.



6. Poggiare la Card RFID Lotto-Specifica, fornita con il kit, sul lato superiore del **RapiRead™**. Saranno così caricati automaticamente, dalla Card RFID al **RapiRead™**, i dati di Calibrazione Lotto-specifici del test COVID-19 NAb.

7. Dopo l’emissione di un segnale acustico, lo schermo mostra la parola “TEST”. Premere il pulsantino nero, lo schermo del lettore mostra la parola “RUN”.



8. Dopo il trasferimento dei dati, inizia quindi la misura quantitativa.

9. A seconda del livello di Anticorpi Neutralizzanti (NAb) presente nel campione, sullo schermo viene mostrato il titolo degli anticorpi come Valore Numerico in $\mu\text{g/ml}$ seguito dal Risultato, contemporaneamente all’emissione di un segnale acustico:

Range di NAb	Risultato
< 0.8 $\mu\text{g/ml}$	NEGATIVO
0.8 – < 5.0 $\mu\text{g/ml}$	BASSO +
5.0 – < 10.0 $\mu\text{g/ml}$	MEDIO +
10.0 $\mu\text{g/ml}$	ALTO +

CALIBRAZIONE DEL TEST

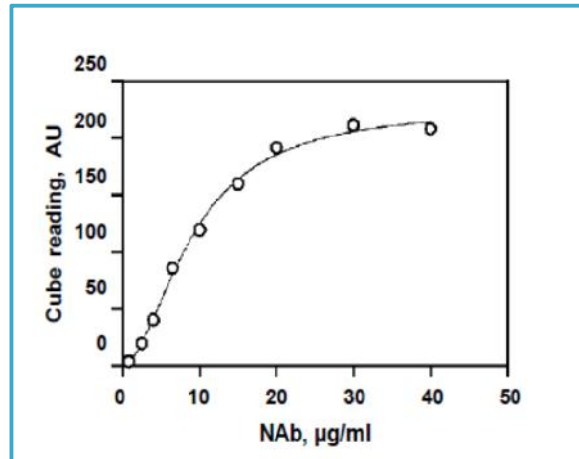
TestNOW® - COVID-19 NAb Il Test è stato standardizzato verso il Calibratore di Anticorpi Neutralizzanti specifici del SARS-CoV-2 disponibile sul mercato.

LA CURVA STANDARD UTILIZZATA DAL RapiRead™ CUBE READER

Una curva standard tipica è mostrata nella figura a destra.

La lettura in AU è automaticamente convertita in µg/ml dal

RapiRead™ Reader



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il lettore **RapiRead™ CUBE** determina automaticamente il risultato finale del test, tramite la comparazione delle AU per ogni campione esaminato verso una curva di calibrazione prestabilita. I risultati degli Anticorpi Neutralizzanti sono espressi in µg/ml (concentrazione degli Anticorpi Neutralizzanti anti SARS-CoV-2 in µg/ml Unit). I risultati ottenuti con il **TestNOW® - COVID-19 NAb** vanno interpretati come segue:

Titolo di Anticorpi Neutralizzanti (Risultato Numerico in µg/ml)	Risultato	Interpretazione	Livello di Immunità
< 0.8 µg/ml	NEGATIVO	Negativo per Anticorpi Neutralizzanti SARS-CoV-2	NESSUNA IMMUNITA'
0.8 – < 5.0 µg/ml	BASSO +	Positivo per Anticorpi Neutralizzanti SARS-CoV-2	BASSA IMMUNITA'
5.0 – < 10.0 µg/ml	MEDIO +	Positivo per Anticorpi Neutralizzanti SARS-CoV-2	MEDIA IMMUNITA'
10.0 µg/ml	ALTO +	Positivo per Anticorpi Neutralizzanti SARS-CoV-2	ELEVATA IMMUNITA'

CARATTERISTICHE E PERFORMANCES

Gli studi clinici e di comparazione con l'RT-PCR ed il metodo Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG, sono stati condotti su campioni positivi e negativi in convalescenza:

		Campioni di Riferimento Positivi al test Elisa per Anticorpi neutralizzanti (NAb)	Campioni di Riferimento Negativi al test Elisa per Anticorpi neutralizzanti (NAb)
	Numero di campioni	100	75
TestNOW® - COVID-19 NAb	Positivi	100	1
	Negativi	0	74

Sensibilità Clinica = $100 / 100 = 100.00\%$ (CI 95%: 96.38% - 100.00%)

Valore Predittivo Positivi (PPV) = $100 / (100 + 1) = 99.01\%$

Specificità Clinica = $74/75 = 98.67\%$ (CI 95%: 92.79% - 99.97%)

Valore Predittivo Negativi (NPV) = $74 / (74 + 0) = 100.00\%$

Accuratezza:

Rapporto di Confidenza Totale: $(100+75) / (100+1+75) * 100 = 99.43\%$

Valutazione del Titolo di NAb POST VACCINAZIONE al COVID-19:

16 persone che hanno ricevuto il vaccino verso il COVID-19 prodotti da Pfizer o Moderna sono stati testati con il test **TestNOW® - COVID-19 NAb**, 2 settimane dopo la 1^a e 2^a somministrazione, i titoli di Anticorpi Neutralizzanti (NAb) ottenuti sono mostrati di seguito:

Soggetto N.	Sample	Tipo di Vaccino per COVID-19	Titolo NAb (µg/ml)			
			2 Sett. dopo 1° inoculo	Risultato	2 Sett. Dopo 2° inoculo	Risultato
1	Sangue intero	Pfizer	9.0	MEDIO +	26.0	ALTO +
2	Sangue intero	Pfizer	7.6	MEDIO +	26.5	ALTO +
3	Sangue intero	Pfizer	1.5	BASSO +	14.8	ALTO +
4	Sangue intero	Pfizer	1.8	BASSO +	15.2	ALTO +
5	Sangue intero	Pfizer	1.5	BASSO +	14.3	ALTO +
6	Sangue intero	Pfizer	4.6	BASSO +	22.5	ALTO +
7	Sangue intero	Pfizer	7.0	MEDIO +	29.6	ALTO +
8	Sangue intero	Pfizer	2.0	BASSO +	18.4	ALTO +
9	Sangue intero	Pfizer	3.9	BASSO +	25.0	ALTO +
10	Sangue intero	Pfizer	3.9	BASSO +	21.0	ALTO +
11	Sangue intero	Pfizer	1.9	BASSO +	24.5	ALTO +
12	Sangue intero	Pfizer	1.3	BASSO +	16.2	ALTO +
13	Sangue intero	Pfizer	2.1	BASSO +	19.2	ALTO +
14	Sangue intero	Moderna	5.1	MEDIO +	21.4	ALTO +
15	Sangue intero	Moderna	7.8	MEDIO +	22.1	ALTO +
16	Sangue intero	Moderna	5.7	MEDIO +	15.4	ALTO +
			Mean = 4.2	62.5% BASSO + 37.5% MEDIO +	MEDIA = 20.7	100% ALTO +

Studio effettuato su campioni di siero/plasma autologhi e campioni di sangue intero:

Il test **TestNOW® - COVID-19 NAb** è stato testato con 10 campioni negativi + 10 positivi di siero/plasma autologo di pazienti in convalescenza e di sangue intero. Sono stati ottenuti risultati coerenti a conferma che siero, plasma e sangue intero possono essere utilizzati senza alcun problema con il test **TestNOW® - COVID-19 NAb**.

PRECISIONE DEL TEST

È stato condotto uno studio su 30 campioni di plasma Negativi, Bassi, Medi e Alti Positivi su 3 lotti diversi ed in duplicato, da parte di 3 Tecnici diversi, con test effettuati in una giornata. I risultati mostrano il 100% di concordanza, senza alcun errore da parte umana.

LIMITE DI RILEVAMENTO (LOD)

Il limite di Rilevazione (LOD) del test **TestNOW® - COVID-19 NAb** verso il Calibratore specifico per gli Anticorpi Neutralizzanti per SARS-CoV-2 è 0.8 µg/ml.

SPECIFICITA' DEL TEST:

1. Verso altre patologie infettive

Il **TestNOW® - COVID-19 NAb** è stato testato su campioni di pazienti contagiati dalle seguenti malattie infettive: Virus dell'Influenza A, Virus dell'Influenza B, Adenovirus, Rotavirus e Mycoplasma Pneumonia. Tutti i campioni non hanno mostrato alcuna reazione crociata con il **TestNOW® - COVID-19 NAb**.

2. Verso sostanze presenti nel Sistema Circolatorio

Il **TestNOW® - COVID-19 NAb** è stato testato su campioni con elevati livelli di Fattore Reumatoide (RF), Bilirubina, Trigliceridi ed Emoglobina. I risultati hanno mostrato che queste sostanze non hanno alcun effetto sulla Specificità del test, fino alle concentrazioni di seguito indicate:

Fattore Reumatoide: 80 IU/ml

Bilirubina: 342 µmol/L

Trigliceridi: 37 mmol/L

Emoglobina: 10 mg/ml

3. Studi di Interferenza verso i farmaci più comuni

Le seguenti sostanze, alle concentrazioni indicate, sono state aggiunte a controlli negativi, bassi, medi e alti positivi, per raggiungere le concentrazioni definite. Ogni sostanza, ad ogni livello di controllo, è stata testata in triplicato utilizzando un unico lotto di

TestNOW® - COVID-19 NA

Istamina Idrocloridato:	1.5 mg/mL	Interferon-	150 µg/mL	Zanamivir	426 ng/mL
Ribavirin	6 mg/L	Oseltamivir	46.9 mg/L	Peramivir	132.7 µg/mL
Lopinavir	3.2 mg/mL	Ritonavir	159 µg/mL	Arbidol	2.0 µg/mL
Levofloxacina	9.2 mg/L	Azithromicina	9.2 mg/L	Ceftriaxone	240 mg/L
Meropenem	200 mg/mL	Tobramicina	12 mg/L		

I risultati mostrano che questi farmaci non presentano alcuna interferenza sulla Specificità del test

PRECAUZIONI

1. **Esclusivamente per Uso Professionale, diagnostico in vitro.**
2. Non utilizzare oltre la data di scadenza indicata.
3. Non utilizzare il prodotto se la bustina della Cassetta Test fosse danneggiata o aperta.
4. Maneggiare i campioni come potenzialmente infettivi.
5. Seguire le procedure standard di laboratorio e le linee guida per la sicurezza nel maneggiare materiali potenzialmente infettivi. Quando il test è completato, mettere i campioni in autoclave a 121°C per almeno 20 min. oppure in trattamento con Sodio Ipcloorito allo 0,5% per 1-2 ore.

LIMITI

1. Sebbene il test sia molto accurato nel rilevare il titolo degli Anticorpi Neutralizzanti, può essere presente una bassa incidenza di risultati errati. Nel caso si presentino risultati discutibili, si rendono necessari ulteriori test clinici.
2. Come per tutti i test diagnostici, una diagnosi clinica definitiva non deve essere basata sui risultati di un singolo test ma deve essere effettuata dal medico dopo tutte le possibili ricerche cliniche e di laboratorio.

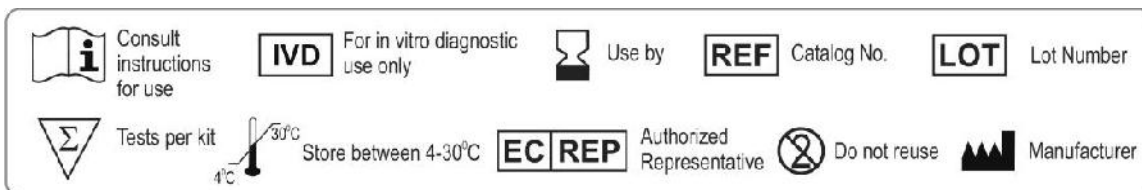
BIBLIOGRAFIA

1. Standardization of vaccines for coronavirus disease (COVID-19); 12 January 2021
<https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/standardization-of-vaccines-for-coronavirus-disease-covid-19>
2. Eric Lau et al. Neutralizing antibody titers in SARS-CoV-2 infections; Nature, vol 12, 63 (2021)
3. Chinese Center for Disease Control and Prevention (2020) Public protection guidelines for Novel coronavirus pneumonia, People's Medical Publishing House (PMPH).
4. ZHOU Peng, YANG Xinglou. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature, 2020.
5. XUE Xiongyan, ZHU Changlin, HUANG Shaozhen, Inactivation of 2019 new coronary virus before antibodies detection by different methods. Journal of Southern Medical University, 2020.
6. SHI Heshui, HAN Xiaoyu, FAN Yanqing. Radiologic Features of Patients with 2019-n Co V Infection. Journal of Clinical Radiology, 2020.
7. NCCLS. 1991. National Committee for Clinical Laboratory Standard. Internal Quality
8. Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory. NCCLS Publication C3-A3.
9. NCCLS. 1997. National Committee for Clinical Laboratory Standard. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory. NCCLS Publication C3-A3.

VALIDITA' MASSIMA: 18 Mesi

2021-04-ver-2

INDICE DEI SIMBOLI



Affimedix, Inc.
3556 Investment Boulevard
Hayward, California 94545, USA
Fax: (510) 398-8132
info@affimedix.com - www.affimedix.com

EC	REP
-----------	------------

Qarad EC-REP BV.
Pas 257
2440 Geel
Belgium
www.qarad.com