

Manuale d'Istruzione

REF C20028

Italiano

Test rapido per la determinazione qualitativa degli anticorpi neutralizzanti anti-SARS-CoV-2 in campioni di sangue intero, siero o plasma umano
Per uso diagnostico esclusivo in vitro (IVD)

USO

Anticorpi Neutralizzanti anti-SARS-CoV-2 (Sangue intero/Siero/Plasma) è un test immunocromatografico rapido su card per la ricerca qualitativa di anticorpi neutralizzanti diretti contro il virus SARS-CoV-2 in campioni di sangue intero, siero o plasma umano quale ausilio diagnostico in grado di rilevare la presenza di tali anticorpi.

SOMMARIO

SARS-CoV-2 appartiene al genere β dei Coronavirus. COVID-19 è una malattia infettiva respiratoria acuta. Il genere umano è generalmente suscettibile. Attualmente, i pazienti infettati dal nuovo coronavirus sono la principale fonte di contagio; anche le persone infette asintomatiche possono essere una fonte infettiva. Sulla base delle attuali indagini epidemiologiche, il periodo di incubazione è compreso tra 1 e 14 giorni, principalmente da 3 a 7 giorni. Le manifestazioni principali includono febbre, stanchezza e tosse secca. In alcuni casi si riscontrano congestione nasale, naso che cola, mal di gola, mialgia e diarrea.

Anticorpi Neutralizzanti anti-SARS-CoV-2 (Sangue intero/Siero/Plasma) è un test rapido che utilizza una combinazione di microparticelle di oro colloidale rivestite di antigene proteico Spike per la rilevazione di anticorpi neutralizzanti diretti contro SARS-CoV-2 nel sangue intero, siero o plasma umano.

PRINCIPIO DEL METODO

Anticorpi Neutralizzanti anti-SARS-CoV-2 (Sangue intero/Siero/Plasma) è un test immunologico qualitativo su membrana immunocromatografica, per la rilevazione di anticorpi neutralizzanti anti-SARS-CoV-2 nel sangue intero, siero o plasma. In questa procedura analitica, il reagente di cattura degli anticorpi neutralizzanti è immobilizzato nella zona della linea del test presente sulla membrana immunocromatografica inserita all'interno della card (supporto di reazione). Dopo che il campione è stato aggiunto al pozzetto contrassegnato con S (pozzetto del campione) ed il buffer (tamponi di estrazione) dispensato nel pozzetto B presente sulla card, la miscela reagisce con le particelle rivestite di antigene proteico Spike adese alla membrana immunocromatografica. Questa miscela migra cromatograficamente lungo la lunghezza della membrana stessa e interagisce con il reagente di cattura degli anticorpi neutralizzanti immobilizzato in corrispondenza della linea T (Test). Se il campione contiene anticorpi neutralizzanti il SARS-CoV-2, nella zona della linea T apparirà una linea colorata, indicante un risultato positivo. Se il campione non contiene anticorpi neutralizzanti il SARS-CoV-2, non apparirà una linea colorata in tale zona, indicando un risultato negativo. Quale controllo procedurale, una linea colorata apparirà sempre nella regione della linea del Controllo (C), indicando che è stato aggiunto il volume appropriato di campione e che si è regolarmente verificato l'adsorbimento della miscela sulla membrana.

REAGENTI

Il supporto di reazione (card, in sacchetto sigillato individuale) contiene una membrana immunocromatografica con adese particelle di oro colloidale coniugate con l'antigene proteico virale specifico Spike, in grado di catturare selettivamente gli anticorpi neutralizzanti qualora presenti nel campione da analizzare

PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico professionale *in vitro*.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui vengono manipolati i campioni o i kit.
- Trattare tutti i campioni come se contenessero agenti infettivi.
- Osservare le precauzioni stabilite contro i rischi microbiologici durante tutta la procedura e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Indossare indumenti protettivi come camici da laboratorio, guanti monouso e protezione per gli occhi durante il dosaggio dei campioni.
- I test, i campioni ed il materiale potenzialmente contaminato utilizzati devono essere smaltiti secondo le disposizioni di legge vigenti.
- L'umidità e la temperatura possono influire negativamente sui risultati.

CONSERVAZIONE e STABILITA'

Il kit può essere conservato a temperatura ambiente o refrigerato (2-30°C). La card è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione sigillata. La card deve rimanere nel sacchetto sigillato fino al momento dell'uso.

NON CONGELARE. Non utilizzare oltre la data di scadenza.

RACCOLTA del CAMPIONE e PREPARAZIONE

1. Il test rapido Anticorpi Neutralizzanti anti-SARS-CoV-2 può essere eseguito utilizzando sangue intero, siero o plasma. È possibile raccogliere sangue o plasma intero con provette contenenti eparina o citrato.
2. Per raccogliere/analizzare campioni di sangue intero dal polpastrello (vedi figura)
 - Lavare la mano del paziente con sapone e acqua tiepida o pulire con un tampone imbevuto di alcol. Lasciare asciugare.
 - Massaggiare la mano senza toccare il sito della puntura strofinando la mano verso la punta del dito medio o anulare.
 - Pungere il polpastrello con una lancetta sterile.
 - Eliminare la prima goccia di sangue.
 - Strofinare delicatamente la mano dal polso, al palmo, al dito per formare una goccia di sangue arrotondata sul sito della puntura.
3. Dispensare il campione di sangue intero dal polpastrello nel pozzetto S della card utilizzando un contagocce, un capillare o una micropipetta da 10 μ l. Il contagocce fornito con il test eroga circa 10 μ l in una goccia anche se viene aspirato più sangue nel contagocce o nel capillare.
- Il sangue intero raccolto dal polpastrello deve essere analizzato immediatamente
3. Per raccogliere campioni di siero o plasma (vedi figura)
 - Separare il siero o il plasma dal sangue il prima possibile, mediante centrifugazione, per evitare l'emolisi. Utilizzare solo campioni limpidi e non emolizzati. Il test deve essere eseguito immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per periodi prolungati. I campioni di siero e plasma possono essere conservati a 2-8 °C per un massimo di 3 giorni. Per la conservazione a lungo termine, i campioni devono essere conservati a -20 °C. Il sangue intero raccolto tramite prelievo in vena deve essere conservato a 2-8 °C se il test deve essere eseguito entro 2 giorni dalla raccolta. Non congelare i campioni di sangue intero.
 - Portare i campioni a temperatura ambiente prima del test. I campioni congelati devono essere completamente scongelati e risospesi prima del test. I campioni non devono essere congelati e scongelati ripetutamente. Qualora i campioni dovessero essere spediti, devono essere imballati secondo le disposizioni di legge vigenti per il trasporto di agenti infettivi.

MATERIALI nella CONFEZIONE (KIT)

Card (supporti di reazione)	Contagocce o tubi capillari
Tampone di estrazione	Manuale d'Istruzione
Materiali necessari ma non provvisti	
Provette per raccolta del campione	Centrifuga (per siero/plasma)
Micropipette	Lancette (solo per prelievo dal polpastrello)
Timer	

PROCEDURA ANALITICA

Prima di iniziare la seduta analitica lasciare che la card, il campione, il tampone e / o i controlli raggiungano la temperatura ambiente (15-30 °C).

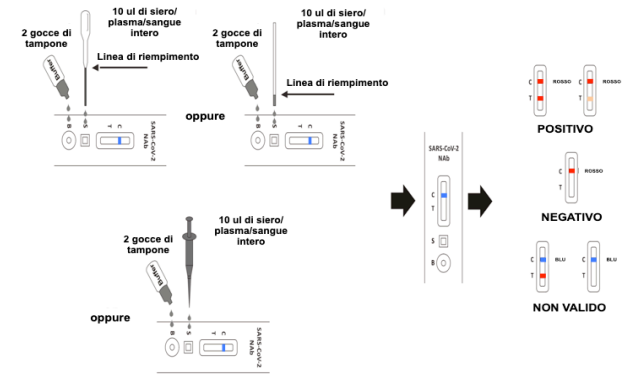
1. Rimuovere la cassetta del test dal sacchetto sigillato e utilizzarla entro un'ora.
2. Posizionare la cassetta test su una superficie pulita e piana.
3. Per campioni di siero, plasma o sangue intero da prelievo venoso:

Per usare un contagocce / capillare:

- tenere il contagocce / capillare verticalmente, aspirare il campione fino alla linea di riempimento (circa 10 μ l) e trasferire il campione nel pozzetto del campione (S) della cassetta del test, quindi aggiungere 2 gocce di tampone (circa 80 μ l) nel pozzetto del tampone (B) e avviare il timer. Evitare di intrappolare bolle d'aria nel pozzetto del campione.

Per utilizzare una micropipetta:

- pipettare e dispensare 10 μ l di campione nel pozzetto del campione (S) della cassetta del test, quindi aggiungere 2 gocce di tampone (circa 80 μ l) al pozzetto del tampone (B) e avviare il timer.
- 4. Attendere che compaiano le linee colorate. Il risultato del test dovrebbe essere letto a 10 minuti. Non interpretare il risultato dopo 20 minuti



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

(Far riferimento alla figura)

POSITIVO*: Vengono visualizzate due linee. La linea colorata nell'area della linea di controllo (C) cambia da blu a rosso e altre linee colorate dovrebbero apparire nell'area della linea di test (T).

***NOTA: L'intensità del colore nella regione della linea del test varia a seconda della concentrazione di anticorpi neutralizzanti contro SARS-CoV-2 nel campione. Pertanto, qualsiasi sfumatura di colore nella zona della linea del test deve essere considerata positiva.**

NEGATIVO: la linea colorata nell'area della linea di controllo (C) cambia da blu a rossa. Nessuna linea appare nella zona della linea di test (T).

NON VALIDO: la linea di controllo (C) è ancora completamente o parzialmente blu e non riesce a cambiare completamente da blu a rosso. Un volume di tampone insufficiente o tecniche procedurali errate sono le ragioni più probabili del mancato viraggio cromatico della linea di controllo. Rivedere le sequenze analitiche e ripetere la procedura utilizzando una nuova card. Se il problema persiste, interrompere immediatamente l'utilizzo del kit e contattare il distributore locale.

CONTROLLO DI QUALITA'

Un controllo procedurale interno è incluso nel test. La linea colorata che appare nella regione della linea di controllo (C) dimostra un controllo procedurale interno valido, a conferma di un adeguato assorbimento della membrana, **virando dal colore blu al rosso**. Materiale per Q.C. non viene fornito con questo kit; tuttavia, si raccomanda di testare controlli positivi e negativi certificati come buona pratica di laboratorio per confermare la procedura del test e per verificare la corretta esecuzione.

LIMITAZIONI del METODO

Il presente test rapido per anticorpi neutralizzanti SARS-CoV-2 (sangue intero/siero/plasma) è formulato esclusivamente per uso diagnostico in vitro. Il test deve essere utilizzato per la rilevazione di anticorpi neutralizzanti contro SARS-CoV-2 solo in campioni di sangue intero, siero o plasma umano. I risultati del test rapido per anticorpi neutralizzanti SARS-CoV-2 (sangue intero/siero/plasma) non devono essere utilizzati come unico parametro per diagnosticare o escludere la presenza di anticorpi neutralizzanti per SARS-CoV-2. La continua presenza o assenza di anticorpi neutralizzanti non può essere utilizzata per determinare il successo o il fallimento della terapia. I risultati da pazienti immunosoppressi devono essere interpretati con cautela. Come per tutti i test diagnostici, i risultati devono essere interpretati congiuntamente ad altre informazioni cliniche a disposizione del medico. **Il presente test rapido per anticorpi neutralizzanti SARS-CoV-2 non deve mai essere utilizzato per lo screening del sangue da donatori (sacche per emotrasfusione).**

PRESTAZIONI del METODO

20 campioni confermati positivi per la presenza di anticorpi neutralizzanti utilizzando il test di microneutralizzazione su sangue di pazienti convalescenti sono stati valutati in parallelo con il presente metodo.

150 campioni confermati negativi per anticorpi neutralizzanti utilizzando il test di microneutralizzazione su sangue di individui sani sono stati valutati in parallelo con il presente metodo

Item	Microneutralization Assay (MNA)			Risultati totali
	Risultato	Positivo	Negativo	
TEST Anticorpi Neutralizzanti anti-SARS-CoV-2	Positivo	19	1	20
	Negativo	1	149	150
Risultati totali		20	150	170

Sensibilità relativa: $19 / (1+19) = 95.0\%$ (95%*CI: 75.1%-99.9%);

Specificità relativa: $149 / (149+1) = 99.3\%$ (95%*CI: 96.3%-100.0%);

Accuratezza: $(19+149) / (19+1+149) = 98.8\%$ (95%*CI: 95.8%-99.9%);

*CI = intervallo di confidenza della media.

Crossreattività

Il presente metodo è stato testato su campioni positivi per il virus anti-influenzale A, anti-influenzale B, anti-RSV, anti-Adenovirus, HBsAb, anti-Syphilis, anti-H.pylori, anti-HIV, anti-HCV e HAMA. I risultati non hanno mostrato reattività crociata. È stata osservata una certa reattività crociata con campioni positivi per l'anticorpo SARS-CoV e il fattore reumatoide.

Sostanze potenzialmente interferenti

Le seguenti sostanze potenzialmente interferenti sono state aggiunte a campioni negativi che positivi per la presenza di anticorpi neutralizzanti anti-SARS-CoV-2

Analiti	Concentrazione	Risultati	
		Campioni negativi	Campioni positivi
Acetaminofene	20 mg/dL	Negativo	POSITIVO
Caffeina	20 mg/dL	Negativo	POSITIVO
Albumina	2 g/dL	Negativo	POSITIVO
Ac. acetilsalicilico	20 mg/dL	Negativo	POSITIVO
Acido gentisico	20 mg/dL	Negativo	POSITIVO
Etanolo	1%	Negativo	POSITIVO
Acido ascorbico	2g/dL	Negativo	POSITIVO
Creatina	200mg/dl	Negativo	POSITIVO
Bilirubina	1g/dL	Negativo	POSITIVO
Emoglobina	1000mg/dl	Negativo	POSITIVO
Acido ossalico	60mg/dL	Negativo	POSITIVO
Acido urico	20mg/ml	Negativo	POSITIVO

Nessuna delle sostanze sopra elencate, alle concentrazioni indicate, ha interferito con il test

BIBLIOGRAFIA

- 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.

Indice dei simboli

	Consultare le istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentante autorizzato
	Esclusivamente per uso diagnostico <i>in vitro</i>		Data di scadenza		Monouso
	Conservare a 2-30 °C		Numero lotto		N. catalogo

Codici di Riordino:

C20028 Anticorpi Neutralizzanti anti-SARS-CoV-2 20 determinazioni



Bio Plastic Sas – 00100 Roma