

COVID-19 nAb

MÉTODO

Imunocromatografia (Fluorescência)

FINALIDADE

Teste imunocromatográfico rápido por fluorescência para determinação qualitativa de anticorpos neutralizantes anti-SARS-CoV-2 em amostras humanas de soro, plasma e sangue total. Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

SIGNIFICADO CLÍNICO

O coronavírus é um vírus de RNA envelopado que é amplamente distribuído em humanos, outros mamíferos, e pássaros. Os vírus receberam esse nome pela aparência sob um microscópio. Eles são esféricos e sua superfície é coberta com espículas em forma de "coroa". Existem sete tipos de família de vírus coronavírus, incluindo 229E (Alfa coronavírus), NL63 (Alfa coronavírus), OC43 (Beta coronavírus), HKU1 (Beta coronavírus), MERS CoV (Beta coronavírus que causa a Síndrome Respiratória do Oriente Médio ou MERS), SARS CoV (Beta coronavírus que causa síndrome respiratória aguda grave ou SARS) e SARS CoV 2. 229E, NL63, OC43 e coronavírus HKU1 são comuns em todo o mundo e as pessoas são infectadas com eles o tempo todo, mas os outros três são mais recentes e raros. A Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus (SARS CoV) e Síndrome Respiratória no Oriente Médio (MERS CoV) tem origem em doenças zoonóticas e às vezes causam doenças fatais. SARS CoV é o patógeno que causou surtos graves de síndrome respiratória aguda em Guangdong, China, em 2002 e 2003. MERS CoV é o patógeno que causou o surto da síndrome respiratória no Oriente Médio em 2012. SARS CoV 2 isolado do trato respiratório inferior de pacientes com pneumonia inexplicável em Wuhan é um novo tipo de coronavírus pertencente ao gênero β . Tem um envelope, as partículas são redondas ou ovais e o diâmetro é de 60 ~ 140 nm. Suas características genéticas são significativamente diferentes da SARS CoV e MERS CoV. Atualmente, demonstrou-se ter uma homologia de mais de 85% com coronavírus SARS de morcego (Bat-SL-CoVZC45). Quando isolados e cultivados *in vitro*, o SARS CoV 2 pode ser encontrado nas células epiteliais respiratórias humanas em cerca de 96 horas. Sintomas comuns incluem tosse severa, febre e dificuldades respiratórias. Em casos extremos, os pacientes exibem pneumonia, síndrome respiratória aguda grave, falência de órgãos e morte.

Os anticorpos neutralizantes de coronavírus tem como alvo a subunidade S1 da proteína S (spike) do coronavírus e o domínio de ligação ao receptor (RBD), que se liga ao vírus com alta afinidade, bloqueando a ligação do RBD com a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) na superfície das células humanas, para atingir o efeito de neutralizar a virulência do vírus, aliviar os sintomas da doença e reduzir a mortalidade de pessoas infectadas.

FUNDAMENTO

O COVID-19 nAb é um teste semiquantitativo para detecção de anticorpo neutralizante no soro, plasma e sangue total com base no imunoensaio de fluorescência. Através do método de imunodetecção por competição, durante o teste, a amostra se move ao longo da membrana. Se a amostra contiver anticorpos neutralizantes, este se liga ao conjugado marcado com microesferas fluorescentes. Em seguida, o complexo se move pela membrana, mas ele não poderá ser capturado pela ECA2 - Enzima conversora da Angiotensina 2 presente na linha teste. Apenas o conjugado não ligado ao anticorpo presente na amostra se ligará à ECA2.

O anticorpo marcado compete pelo mesmo sítio de ligação do anticorpo presente na amostra. Portanto, a concentração (taxa de inibição) de anticorpo neutralizante presente na amostra é inversamente proporcional a intensidade do sinal de fluorescência capturado na linha T. De acordo com a intensidade de fluorescência do teste e curva padrão (ROC) do produto, a concentração de anticorpo neutralizante na amostra pode ser calculada pelo analisador da família QuickSTAR.

REAGENTES E MATERIAIS

TEST- Cassete – Conservar entre 2 e 30°C. Não congelar. Cada sachê contém:

A) 01 dispositivo plástico com 01 tira teste contendo:

- Região de controle (C): Anticorpo IgY de cabra anti-galinha

- Região de teste (T): ECA2

- Conjugado: Antígeno RBD 2019-nCoV marcado com ouro coloidal e anticorpo IgY de galinha marcado com microesferas fluorescentes.

B) 01 sachê de sílica

DIL- Diluente – Conservar entre 2 e 30°C. Não congelar. Contém: Solução tampão, estabilizante e conservante.

CARD – Cartão ID – Conservar entre 2 e 30°C. Não congelar.

Materiais necessários não fornecidos no kit:

Analisador da família QuickSTAR, relógio, temporizador ou cronômetro, pipetas, ponteiros e lixo para descarte. Esses materiais podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

PRECAUÇÕES

- Somente para uso de diagnóstico *in vitro* profissional.
- O cassete do kit COVID-19 nAb só funciona nos analisadores da família QuickSTAR.
- Leia atentamente as instruções de uso antes de utilizar o kit.
- Não use kits ou componentes após vencimento da data de validade ou com embalagens danificadas.
- O armazenamento deve ser entre 2 e 30°C, conforme indicado no rótulo do produto. O kit não pode ser congelado, exposto ao sol ou a altas temperaturas. O kit deve ser protegido da umidade.
- Reagentes de kits com mesmo lote ou com números de lotes diferentes não devem ser misturados.
- O Dispositivo de Teste deve ser mantido dentro da embalagem de alumínio até a utilização do teste.
- Evite o fluxo de ar vertical durante a realização do teste. Isso pode afetar o resultado.
- Os cassetes são descartáveis e devem ser tratados como resíduo de risco biológico após o uso. Não podem ser reutilizados.
- Os cassetes não contêm substâncias contaminantes, mas por segurança devem ser tratados como amostras biológicas. Portanto, ao manuseá-los, as normas de biossegurança devem ser respeitadas.

11. O descarte dos reagentes e do material biológico deve ser realizado de acordo com as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental.

12. Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

O kit deve ser armazenado entre 2 e 30°C, protegido da luz solar e da umidade. Não pode ser congelado. A estabilidade (validade) está descrita no rótulo do produto.

ESTABILIDADE DE TRANSPORTE

O transporte deve ser realizado em temperaturas entre 2 e 30°C, conforme condições de conservação do produto. Evitar umidade. Não congelar.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

AMOSTRA

Tipo de Amostra: Soro, Plasma e Sangue Total

Para coleta da amostra de plasma e sangue total, como anticoagulante é recomendado o EDTA, heparina ou citrato de sódio.

Amostras de soro e plasma podem ser armazenadas entre 2 e 8°C por até 7 dias ou abaixo de -20°C por até 30 dias.

O sangue total coletado por venopunção pode ser armazenado entre 2 e 8°C por no máximo 3 dias após a coleta. Não congele amostras de sangue total. Sangue coletado por punção digital deve ser usado imediatamente e não pode ser congelado.

Antes dos testes as amostras devem estar à temperatura ambiente. As amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e bem misturadas antes do teste. Evite congelamento e descongelamento repetido das amostras.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Antes da realização dos testes, as amostras e os reagentes devem estar a temperatura ambiente (15-30°C).

- Consulte o Manual de Operação do analisador da família QuickSTAR para instruções sobre a sua utilização.
- Escolha o modo de teste (Rápido ou Padrão) e preencha as informações referente a amostra.
- Encoste o CARD de identificação do teste na área de identificação RFID. Confira se o lote do CARD e do TEST são coerentes com o que aparece no visor do analisador.
- Retire o cassete - TEST da embalagem de alumínio, coloque sobre uma superfície limpa e nivelada, e identifique.
- Execute a técnica de acordo com o tipo de amostra:
Soro ou Plasma: Pipete 100 μ L de soro ou plasma dentro do poço de amostra.
Sangue Total: Pipete 120 μ L de sangue total dentro do poço de amostra e imediatamente adicione 1 gota do DIL no poço de amostra.
- Faça a leitura de acordo com o modo escolhido:

Teste Rápido: Dispense o cronômetro e aguarde 15 minutos. Após 15 minutos, insira o cassete no analisador e aperte "Teste Rápido" para iniciar a leitura do teste. Em seguida o analisador irá liberar o resultado.

Teste Padrão: Insira o cassete no analisador e aperte "Teste Padrão" para iniciar a contagem do tempo e posterior leitura do teste. Após 15 minutos, o analisador irá liberar o resultado.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Taxa de Inibição	Resultado
$\leq 30\%$	Negativo / Presença de menos de 30% de anticorpo neutralizante.
$> 30\%$	Positivo / Presença de anticorpo neutralizante em mais de 30%

Obs.: Resultado inválido - Se o valor de fluorescência da linha de controle (linha C) for inferior ao limite de detecção do kit, isso indica que há um processo de operação incorreto ou deterioração dos reagentes. Pegue um novo cartão de teste e execute o teste novamente. Se o problema persistir, pare de usar o lote do produto imediatamente e entre em contato com a In Vitro Diagnóstica.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O kit COVID-19 nAb é somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional e só deve ser usado para a detecção qualitativa de anticorpo neutralizante anti-SARS-CoV-2.
- No estágio inicial da infecção pelo vírus SARS-CoV-2, o anticorpo neutralizante do novo coronavírus não é produzido ou o título é inferior ao limite de detecção, o que levará a um resultado negativo.
- O resultado do teste não deve ser usado como o único de avaliação. Os resultados devem ser avaliados por um médico e confirmado após avaliação de todos os achados clínicos e laboratoriais.
- Os resultados falso-positivos podem vir de reações cruzadas com alguns anticorpos semelhantes no sangue; e epítomos semelhantes de componentes não específicos no sangue, capturando anticorpos marcados com fluorescência.
- Outros fatores podem interferir e causar resultados errôneos. Isso inclui erros na coleta de amostra e execução da técnica.

CONTROLE DE QUALIDADE

Cada cassete do teste contém controle interno que satisfaz os requisitos de controle de qualidade de rotina. Este controle interno é realizado sempre que uma amostra de paciente é testada. Este controle indica que o dispositivo de teste foi inserido e lido corretamente. Um resultado inválido do controle interno causa uma mensagem de erro, indicando que o teste deve ser repetido.

Outros tipos de controles não são fornecidos com este kit. No entanto, recomenda-se que outros controles sejam testados como uma boa prática de laboratório para confirmar o procedimento de teste e verificar o desempenho adequado do teste. Cada Laboratório Clínico deve estabelecer e possuir um programa interno de controle da

qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam seguidos.

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

Sensibilidade e Especificidade Clínica

Para avaliação da sensibilidade e especificidade clínica foram testadas 182 amostras clinicamente conhecidas e confirmadas pela metodologia de PRNT.

	Resultado Esperado	COVID-19 nAb
Amostra Positiva	95	94
Amostra Negativa	87	87
Total de Amostras Testadas	182	

Sensibilidade Clínica: 98,85% - IC 95% (94,27% - 99,97%)

Especificidade Clínica: >99,9% - IC 95% (95,85% - 100%)

Concordância: 99,45% - IC 95% (96,98% - 99,99%)

PRECISÃO

Reprodutibilidade (Intra-Ensaio)

A reprodutibilidade intra-ensaio foram realizadas 10 dosagens consecutivas de 06 amostras (soro, plasma e sangue total) com diferentes taxas de inibição (10 e 40%), dosadas em um único lote. A reprodutibilidade intra-ensaio foi de 100%.

Reprodutibilidade (Inter-Ensaio)

A reprodutibilidade inter-ensaio foram realizadas 10 dosagens consecutivas de 06 amostras (soro, plasma e sangue total) com diferentes taxas de inibição (10 e 40%), dosadas em 3 lotes diferentes. A reprodutibilidade inter-ensaio foi de 100%.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

As seguintes substâncias potencialmente interferentes, até a concentração descrita abaixo, não interferem nos resultados do teste.

Bilirrubina	350 µmol/L
Triglicérides	40 mmol/L
Hemoglobina	2 g/L
Fator Reumatóide	1000 UI/mL
HAMA	600 ng/mL

REATIVIDADE CRUZADA

Nenhuma reatividade cruzada foi observada com amostras contendo:

Patógenos	Espécie	Concentração Testada
H1N1 (2009)	A-H1N1-2009	10 ⁶ pfu/mL
Vírus da influenza H1N1 sazonal	A-H1N1	10 ⁶ pfu/mL
Vírus influenza H3N2	A-H3N2	10 ⁶ pfu/mL
Vírus da gripe aviária H5N1	A-H5N1	10 ⁶ pfu/mL
Vírus da gripe aviária H7N9	A-H7N9	10 ⁶ pfu/mL
Influenza B Yamagata	B-Yamagata	10 ⁶ pfu/mL
Influenza B Victoria	B-Victoria	10 ⁶ pfu/mL
Vírus sincicial respiratório tipo A	RSV-A2	10 ⁶ pfu/mL
Vírus sincicial respiratório tipo B	RSV-B	10 ⁶ pfu/mL
Rinovírus A	HRV-9 VR-489	10 ⁶ pfu/mL
Rinovírus B	HRV-52	10 ⁶ pfu/mL
	VR-1162	
	HRV-3	
Rinovírus C	VR-1113	10 ⁶ pfu/mL
	HRV-16	
Adenovírus tipo 1	VR-283	10 ⁶ pfu/mL
Adenovírus tipo 2	HAdV-1 VR-1	10 ⁶ pfu/mL
Adenovírus tipo 3	HAdV-2 VR-846	10 ⁶ pfu/mL
Adenovírus tipo 4	HAdV-3	10 ⁶ pfu/mL
Adenovírus tipo 5	HAdV-4 VR-1572	10 ⁶ pfu/mL
Adenovírus tipo 7	HAdV-5 VR-1578/1516	10 ⁶ pfu/mL
Adenovírus tipo 55	HAdV-7 VR-7	10 ⁶ pfu/mL
Adenovírus tipo 55	HAdV-55	10 ⁶ pfu/mL
Enterovírus A	CV-A10	10 ⁶ pfu/mL
Enterovírus B	Echovirus 6	10 ⁶ pfu/mL
Enterovírus C	CV-A21	10 ⁶ pfu/mL
Enterovírus D	EV-D68	10 ⁶ pfu/mL
Epstein-Barr vírus	HHV-4 VR-1492	10 ⁶ pfu/mL
Vírus do Sarampo	MV VR-24	10 ⁶ pfu/mL
Citomegalovírus humano	HMPV	10 ⁶ pfu/mL
Rotavírus	RV VR-2018	10 ⁶ pfu/mL
Norovírus	NOR	10 ⁶ pfu/mL
Vírus da caxumba	MuV VR-106	10 ⁶ pfu/mL
Vírus Varicela-Zoster	VZV VR-1367	10 ⁶ pfu/mL
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	39505	10 ⁷ pfu/mL
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	VR-2282	10 ⁷ pfu/mL

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat.	Reagente	Volume	Nº Teste
709-25	TEST DIL CARD	25 x 1 unid. 1 x 1,5 mL 1 x 1 unid.	25

REFERÊNCIAS

- Guidelines for Diagnosis and Treatment of SARS-CoV-2 Infected Pneumonia (7th Edition), The National Health Commission of the People's Republic of China.
- CDC - Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
- In Vitro Diagnóstica - Dados de arquivos.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.
Telefone: **31-3067-6400** E-mail: invitroms@invitro.com.br

Fabricante: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053.

Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31-3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela - CRF 4463

ANVISA: 10303460510 Classe de risco: III

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:



Atenção, ler a instrução de uso



Número de lote



Somente para diagnóstico de uso in vitro



Cuidado



Armazenar entre 2-30°C



Não reutilizar



Testes por kit



Catálogo



Validade



Fabricante