

1. Uso Previsto

O teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM é um imunoenensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa de IgG e IgM anti-SARS-CoV-2 em amostras de sangue total, soro ou plasma humano de pacientes sintomáticos (consulte a secção 12 'Limitações'). Note que nos estágios iniciais da infecção (3 a 7 dias depois do início dos sintomas) os IgG e IgM anti-SARS-CoV-2 podem estar abaixo do limite de detecção do teste. Este teste destina-se a ser usado como auxílio no diagnóstico de infecções por SARS-CoV-2 primárias e possivelmente secundárias. O procedimento do teste não é automatizado e não requer treino ou qualificação especial. O teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM foi desenvolvido apenas para uso profissional.

2. Introdução e Significado Clínico

COVID-19 (Doença do Vírus Corona) é a doença infecciosa causada pelo coronavírus SARS-CoV-2 recentemente descoberto. Este novo vírus era desconhecido antes do surto da doença em Wuhan, China, em Dezembro de 2019. Os sintomas mais comuns do COVID-19 são febre, tosse seca, fadiga, produção de expectoração, falta de ar, dor de garganta e dor de cabeça. Alguns pacientes podem ter mialgia, calafrios, náusea, congestão nasal e diarreia. Estes sintomas começam gradualmente e são leves na maioria dos casos. Algumas pessoas são infectadas, mas não apresentam sintomas e não se sentem mal. A maioria das pessoas (cerca de 80%) recupera da doença sem tratamento especial. Aproximadamente uma em cada seis pessoas que são infectadas com COVID-19 fica gravemente doente e desenvolve dificuldade em respirar. Pessoas idosas e pessoas com condições pré-existentes, como hipertensão arterial, problemas cardíacos ou diabetes, têm maior probabilidade de desenvolver doenças graves. Até agora, cerca de 2% das pessoas infectadas morreram.

O COVID-19 é transmitido através de gotículas respiratórias que são exaladas por pessoas infectadas através da tosse, espirros ou conversação. Estas gotículas podem ser inaladas ou ingeridas directamente por outras pessoas ou podem contaminar superfícies, que podem ser infecciosas por vários dias. A maioria das estimativas do período de incubação do COVID-19 varia de 1 a 14 dias, durante os quais as pessoas já podem ser infecciosas sem apresentar sintomas da doença.

3. Princípio do Teste

O teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM é um imunoenensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa de IgG e IgM anti-SARS-CoV-2 em amostras de sangue total, soro ou plasma humano.

Os IgM anti-humanos são pré-revestidos na região da linha de teste 'IgM' e IgG anti-humanos são pré-revestidos na região da linha de teste 'IgG' da membrana. Durante o teste, a amostra reage com antígenos SARS-CoV-2 que são conjugados com partículas coloridas. A mistura então migra ao longo da membrana cromatograficamente por acção capilar e reage com IgM anti-humanos e a IgG anti-humanos na região da linha de teste 'IgM' e 'IgG' da membrana. A presença de uma linha colorida na região da linha de teste 'IgM' e/ou 'IgG' indica um resultado positivo. A ausência de uma linha colorida

na região da linha de teste 'IgM' e/ou 'IgG' indica um resultado negativo.

A formação de uma linha colorida na região da linha de controlo 'C' serve como controlo de procedimento, indicando que um volume adequado de amostra foi adicionado e que ocorreu absorção pela membrana.

4. Reagentes e Materiais Fornecidos

- 25 testes cassete NADAL® COVID-19 IgG/IgM *
- 25 pipetas descartáveis
- 1 tampão (3 mL)**
- 1 folheto informativo

*contendo o conservante azida de sódio: <0,02% (7,5 mg/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 risco é necessária 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 amostras (apropriados para o material da amostra a ser testado)
- Centrifugadora (apenas para amostras de soro ou plasma)
- Compressas com álcool
- Lancetas (apenas para amostras de sangue total por picada no dedo)
- Termorizador

6. Armazenamento e Estabilidade

Os kits de teste devem ser armazenados entre 2 e 30°C até ao prazo de validade indicado. Os testes cassete são estáveis até ao prazo de validade impresso nas embalagens de papel alumínio. Os testes cassete devem permanecer nas embalagens seladas até ao seu uso. Não congele o kit de teste. Não use testes depois do prazo de validade indicado na embalagem. Deve ter cuidado para proteger os componentes do kit de teste contra contaminação. Não use 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 uso profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Leia atentamente o procedimento de teste antes do teste.
- Não use o teste depois do prazo de validade indicado na embalagem.
- Não use componentes do kit de teste se a embalagem principal estiver danificada.
- Os testes são apenas 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 nem misture componentes de diferentes kits de teste.

- Não coma, beba ou fume na área onde as amostras e os kits de teste são manipulados.
- Use roupas de protecção, como batas de laboratório, luvas descartáveis e protecção ocular quando as amostras estiverem a ser analisadas.
- Manuseie todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Observe as precauções estabelecidas para riscos microbiológicos em todos os procedimentos e directrizes padrão para o descarte apropriado das amostras.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O conhecimento certificado da origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendável que estes produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manipulados de acordo com as precauções de segurança usuais (por exemplo, não ingerir ou inalar).
- A temperatura pode afectar adversamente os resultados do teste.
- 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 IgG/IgM pode ser realizado com 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 embebida em álcool. Deixe secar.
 - Massage a mão, sem tocar no local da punção, esfregando ao longo da mão em direcção à ponta do dedo do meio ou dedo anelar.
 - Perfure a pele com uma lanceta estéril. Limpe a primeira gota de sangue.
 - Esfregue delicadamente a mão, do pulso para a palma da mão, e depois até ao dedo para formar uma gota arredondada de sangue sobre o local da punção.
- O sangue total recolhido por picada no dedo deve ser testado imediatamente.

Amostras de sangue total por punção venosa

Recipientes contendo anticoagulantes, como K₂EDTA, citrato de sódio, citrato de potássio, heparina de sódio, heparina de lítio ou oxalato de sódio devem ser usados 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 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 entre 2 e 8°C.

Não congele amostras de sangue total.

Amostras de Soro e plasma

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

O teste deve ser realizado imediatamente após a recolha da amostra. Não deixe as amostras à temperatura ambiente por períodos prolongados. As amostras de soro e plasma podem

ser armazenadas de 2 a 8°C por até 3 dias. Para armazenamento a longo prazo, as amostras devem ser mantidas a -20°C.

Coloque as amostras à temperatura ambiente antes do teste. As amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e bem misturadas antes do teste. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.

Se as amostras tiverem que ser transportadas, elas devem ser embaladas em conformidade com todos os regulamentos aplicáveis para o transporte de agentes etiológicos.

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

9. Procedimento do Teste

Faça com que os testes, amostras, tampão e/ou controlos atinjam a temperatura ambiente (15-30°C) antes do teste.

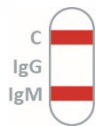
1. Remova o teste cassete da embalagem e use-o o mais rápido possível. Os melhores resultados serão obtidos se o teste for realizado imediatamente após a abertura da embalagem. Rotule o teste cassete com a identificação do paciente ou controlo.
2. Coloque o teste cassete em uma superfície limpa e nivelada.
3. Segurando a pipeta na vertical, extraia a amostra (sangue total/soro/plasma) até ao primeiro alargamento (aproximadamente 10 µL) e adicione-a ao poço da amostra (S) do teste cassete.
Alternativamente, uma micropipeta (10 µL) pode ser usada.
4. Segurando o frasco do tampão na vertical, adicione 2 gotas (aproximadamente 80 µL) do tampão ao poço do tampão (B). **Evite a formação de bolhas de ar.**
5. Inicie o temporizador.
6. Aguarde pelo aparecimento da(s) linha(s) colorida(s). Leia o resultado do teste após 10 minutos. Não interprete o resultado após mais de 20 minutos.



10. Interpretação de Resultados

Positivo para IgM

Uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de controlo 'C' e outra linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'IgM'. O resultado é indicativo de uma infecção primária por SARS-CoV-2.



Positivo para IgG

Uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de controlo 'C' e outra linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'IgG'. O resultado é indicativo de uma possível infecção secundária por SARS-CoV-2.



Positivo para IgG e IgM

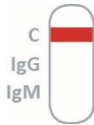
Além da linha de controlo 'C', uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste 'IgM' e outra na região da linha de teste 'IgG'. O resultado é indicativo de uma possível infecção secundária por SARS-CoV-2.



Nota: A intensidade da cor na região da linha de teste 'IgG' e 'IgM' pode variar dependendo da concentração de anticorpos anti-SARS-CoV-2 na amostra. Portanto, qualquer tom de cor na região da linha de teste 'IgG' ou 'IgM' deve ser considerado positivo. Observe que este é apenas um teste qualitativo e não pode determinar a concentração de analito na amostra.

Negativo

Uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de controlo 'C'. Nenhuma linha se desenvolve na região da linha de teste 'IgM' e 'IgG'.

**Inválido**

A linha de controlo 'C' não aparece. Os resultados de qualquer teste que não tenha produzido uma linha de controlo 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 na linha de controlo são um volume insuficiente de amostra, procedimento operacional incorrecto ou testes expirados.

11. Controlo de Qualidade

Um controle de procedimento interno está incluído no teste cassete:

Uma linha colorida que aparece na região da linha de controlo 'C' é considerada um controle de procedimento interno. Isto confirma um volume de amostra suficiente, a absorção adequada da membrana e uma 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 IgG/IgM é apenas para uso profissional de diagnóstico *in-vitro*. Deve ser utilizado para a detecção qualitativa de anticorpos anti-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 anti-SARS-CoV-2 podem ser determinados com este teste qualitativo.
- O teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM detecta apenas a presença de anticorpos anti-SARS-CoV-2 em amostras e não deve ser usado como único critério para o diagnóstico de COVID-19.

- Como em todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis para o médico.
- No início da doença, a concentração de IgM anti-SARS-CoV-2 pode estar abaixo do limite de detecção do teste.
- A presença ou ausência continuada de anticorpos não pode ser usada para determinar o sucesso ou falha da terapia.
- Os resultados de pacientes imunossuprimidos devem ser interpretados com precaução.
- Um resultado de teste positivo também pode ocorrer em caso de resultados de PCR negativos porque os anticorpos ainda estão presentes no sangue após a doença e podem ser detectados.
- Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, recomenda-se testes adicionais usando outros métodos clínicos. Um resultado negativo nunca exclui a possibilidade de uma infecção por SARS-CoV-2.

13. Valores Esperados

A infecção primária por SARS-CoV-2 é caracterizada pela presença de IgM detectáveis 3-7 dias depois do início dos primeiros sintomas. Uma possível infecção por SARS-CoV-2 secundária é caracterizada por níveis elevados de IgG SARS-CoV-2. Na maioria dos casos, os níveis de IgM também são elevados. Níveis persistentes de IgG em amostras após infecções por SARS-CoV-2 podem causar resultados de teste positivos, mesmo que o patógeno não possa mais ser detectado por PCR.

14. Características de Desempenho**Desempenho clínico****Sensibilidade e especificidade do diagnóstico**

O teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM foi avaliado usando amostras clínicas cujo estatuto foi confirmado de acordo com o *Chinese Novel Coronavirus Pneumonia Diagnosis and Treatment Plan (versão 7)*. A tabela seguinte demonstra os resultados combinados das linhas de teste IgG e IgM (negativo: IgG e IgM; positivo: IgM e/ou IgG)

Teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM	Diagnósticos clínicos confirmados		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	80	3
Negativo	5	368	373
Total	85	371	456

Sensibilidade do diagnóstico: 94,1% (86,8% - 98,1%)*

Especificidade do diagnóstico: 99,2% (97,7% - 99,8%)*

Concordância geral: 98,2% (96,6% - 99,2%)*

*intervalo de confiança de 95%

Substâncias de interferência

Amostras negativas para SARS-CoV-2 testadas com as seguintes substâncias interferentes não mostraram interferência com o teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM.

Acetaminofeno	200 mg/L
Ácido acetilsalicílico	200 mg/L
Albumina	20 g/L
Ácido ascórbico	20000 mg/L
Bilirrubina	10000 mg/L
Cafeína	200 mg/L
Creatina	2000 mg/L

Etanol	1%
Ácido gentísico	200 mg/L
Hemoglobina	10000 mg/L
Ácido oxálico	600 mg/L
Ácido úrico	20 mg/mL

Reactividade cruzada

Amostras positivas para o tipo A do vírus anti-influenza, tipo B do vírus anti-influenza, anti-RSV, anti-adenovírus, anti-HBsAg, anti-*T. pallidum*, anti-*H. pylori*, anti-HIV, anti-HCV e HAMA foram testadas usando o teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM. Não foi observada reactividade cruzada com as amostras quando testadas usando o teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM. Não é de excluir que SARS-CoV, MERS-CoV e os espécimes positivos do factor reumatóide podem mostrar reactividade cruzada com o NADAL® COVID-19 IgG/IgM Test.

Precisão

Repetibilidade e reprodutibilidade

A precisão foi estabelecida testando 10 replicados de amostras negativas e anti-SARS-CoV-2 IgG/IgM positivas. A repetibilidade foi estabelecida dentro do estudo de reprodutibilidade. O teste foi realizado usando 3 lotes independentes do teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM.

O teste NADAL® COVID-19 IgG/IgM demonstrou repetibilidade e reprodutibilidade aceitáveis. Os valores negativos e positivos foram identificados correctamente > 99% das vezes.

15. Referências

1. World Health Organization (WHO). WHO Statement Regarding Cluster of Pneumonia Cases in Wuhan, China. Beijing: WHO; 9 Jan 2020.
2. World Health Organization (WHO). Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). WHO; 28 Feb 2020
3. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res* 2011;81:85-164.
4. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:181-192.
5. Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.