

1. Uso previsto

El test NADAL® COVID-19 Ag es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de antígenos de nucleoproteínas virales del SARS-CoV-2 en muestras nasofaríngeas y orofaríngeas humanas (véase la sección 12 "Limitaciones"). Este test está indicado para el uso como ayuda en el diagnóstico de infecciones por el SARS-CoV-2. Obsérvese que la concentración de antígenos de nucleoproteínas virales puede variar en el curso de la enfermedad y podría ser inferior al punto de corte del test. No se puede descartar la posible infecciosidad de los sujetos de prueba en base a los resultados negativos del test. El procedimiento de test no está automatizado y no requiere una especial formación o cualificación. El test NADAL® COVID-19 Ag ha sido diseñado solo para uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

La COVID-19 (enfermedad del coronavirus) es la enfermedad infecciosa causada por el recientemente descubierto coronavirus SARS-CoV-2. Los síntomas más comunes de la COVID-19 son fiebre, tos seca, fatiga, producción de esputo, dificultad para respirar, dolor de garganta y dolor de cabeza. Algunos pacientes pueden tener mialgia, escalofríos, náuseas, congestión nasal y diarrea. Estos síntomas comienzan gradualmente y son leves en la mayoría de los casos. Algunas personas se infectan pero no desarrollan ningún síntoma y no se sienten mal. La mayoría de las personas (alrededor del 80%) se recupera de la enfermedad sin un tratamiento especial. Aproximadamente una de cada seis personas que se infectan con la COVID-19 enferma gravemente y desarrolla dificultad para respirar. Las personas mayores y las que tienen condiciones preexistentes como hipertensión, problemas cardíacos o diabetes, son más propensas a desarrollar enfermedades graves. Hasta ahora, alrededor del 2% de las personas infectadas han fallecido.

La COVID-19 se transmite a través de las gotitas respiratorias que exhalan las personas infectadas al toser, estornudar o hablar. Estas gotitas pueden ser inhaladas o ingeridas directamente por otras personas o pueden contaminar superficies, que luego pueden ser infecciosas durante varios días. La mayoría de las estimaciones sobre el período de incubación de la COVID-19 oscilan entre 1 y 14 días, durante los cuales las personas podrían ser ya infecciosas sin mostrar síntomas de enfermedad.

3. Principio del test

El test NADAL® COVID-19 Ag es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de antígenos de nucleoproteínas virales del SARS-CoV-2 en muestras nasofaríngeas y orofaríngeas humanas.

Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2, se inmovilizan en la región de la línea de test (T) de la membrana. Se añade una muestra a un tubo de extracción con búfer para liberar los antígenos del SARS-CoV-2. Durante el test, los antígenos extraídos se unen a los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 conjugados con partículas coloreadas y que se encuentran recubriendo la almohadilla para la muestra del casete de test. A continuación, la mezcla migra a lo largo de la membrana cromatográficamente por acción capilar e interactúa con los reactivos. Los complejos son luego capturados por anticuerpos anti-SARS-

CoV-2 en la región de la línea de test (T). El exceso de partículas coloreadas es capturado en la región de la línea de control (C). La presencia de la línea coloreada en la región de test (T) indica un resultado positivo. La ausencia de la línea coloreada en la región de test (T) indica un resultado negativo.

La aparición de una línea coloreada en la región de control (C) sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 test en casetes NADAL® COVID-19 Ag*
- Material adicional suministrado de acuerdo con la 93/42/CEE:

Debido a la posible escasez de suministros de productos médicos accesorios relacionados con la COVID-19, el fabricante del hisopo podría cambiar. Por lo tanto, los hisopos suministrados son de uno de los fabricantes enumerados a continuación.

a) 20 hisopos estériles CE0086



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (representante EU autorizado EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

b) 20 hisopos estériles CE0197



Jiangsu Changfeng Medical Industry Co., Ltd

Touqiao Town, Guangling District, Yangzhou, Jiangsu 225109 China (representante EU autorizado Landlink GmbH, Dorfstraße 2/4, Emmendingen, Germany)

c) 20 hisopos estériles, CE0197



CITOTEST LABWARE MANUFACTURING CO., LTD
No.48, Xinxu Road, Haimen, Jiangsu province (representante EU autorizado WellKang Ltd, 16 Castle St, Dover, CT16 1PW, UK)

- 20 tubos de extracción con tapas cuentagotas incluidas
- 2 botes de búfer (de 7 mL cada uno) **
- 1 soporte para reactivos
- 1 manual de instrucciones

*contiene el conservante azida sódica: <0,1%

**Búfer que contiene los siguientes conservantes: azida sódica: <0,1 mg/mL

No se requiere un etiquetado de riesgos según el Reglamento (CE) Nº 1272/2008 CLP. Las concentraciones están por debajo del umbral de exención.

5. Materiales adicionales

- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacene los kits a 2-30°C hasta su fecha de caducidad. Los casetes de test se mantienen estables hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Los casetes de test deben permanecer en los envases de aluminio hasta su uso. No congele el kit. No utilice los test después de la fecha de caducidad indicada en el envase. Proteja los componentes del kit de test de cualquier contaminación. No utilice los componentes del kit si hay evidencia de contaminación

microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo suministrado, recipientes o reactivos puede producir resultados incorrectos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento antes de comenzar el test.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice los componentes del kit de test si el envase original está dañado.
- Los test son de un solo uso.
- No añada muestras en la zona de reacción (región de resultados).
- Evite tocar la zona de reacción (región de resultados) para evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo tubo de extracción para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No utilice el búmer si está descolorido o turbio. La decoloración o la turbidez pueden ser un signo de contaminación microbiana.
- No coma, beba o fume en la zona donde se manipulen las muestras y los kits de test.
- Utilice ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos y las directrices estándar para la correcta eliminación de las muestras.
- El procesamiento posterior de las muestras y el manejo de los pacientes deben seguir las directrices y regulaciones locales de la COVID-19.
- El kit de test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por ello, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y seguir las medidas de seguridad habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La temperatura puede afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

Muestra orofaríngea:

- Introduzca suavemente un hisopo estéril en la faringe y recolecte secreciones rozando varias veces el hisopo contra la pared posterior enrojecida de la faringe y los dos pilares amigdalinos. Evite tocar la lengua, los dientes y las encías.

Muestra nasofaríngea:

- Inserte el hisopo en la fosa nasal, paralelo al paladar (no hacia arriba) hasta que encuentre resistencia o la distancia sea equivalente a la existente desde la oreja a la fosa nasal del paciente, indicando el contacto con la nasofaringe.

- Frote y ruede suavemente el hisopo. Deje el hisopo en el lugar durante varios segundos para absorber las secreciones.
- Retire lentamente el hisopo mientras lo gira. Se pueden recolectar muestras de ambas fosas nasales utilizando el mismo hisopo, pero no es necesario recolectar muestras de ambos lados si la punta está saturada con fluido de la primera recolección.

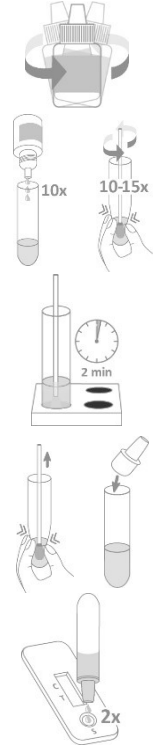
Nota:

- Use solo hisopos de fibra sintética con mangos de plástico. No utilice hisopos de alginato de calcio o con mangos de madera, ya que pueden contener sustancias que inactivan algunos virus e inhiben la realización de nuevos test.
- Las muestras de hisopos deben analizarse lo antes posible una vez recolectadas. Para un mejor funcionamiento del test, utilice muestras recolectadas recientemente.
- Si no se analizan inmediatamente, las muestras de hisopos pueden almacenarse a 2-8°C durante 24 horas después de su recolección.
- No utilice muestras que presenten evidencia de contaminación con sangre, ya que pueden interferir con el flujo de muestras y producir resultados incorrectos.

9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, el búmer y/o los controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar el test.

1. Coloque un tubo de extracción limpio etiquetado con la identificación del paciente o de control en el área designada del soporte para reactivos.
2. Mezcle suavemente el búmer girando cuidadosamente la botella.
3. Sujutando el bote de búmer verticalmente y sin tocar el borde del tubo, añada 10 gotas al tubo de extracción.
4. Inserte el hisopo con la muestra recolectada en el tubo. Gire el hisopo y apriételo 10-15 veces contra la pared del tubo para extraer los antígenos contenidos en el mismo.
5. Deje reposar la solución durante 2 minutos.
6. Retire el hisopo apretándolo firmemente contra el tubo para liberar la mayor cantidad de líquido posible. Elimine el hisopo según las directrices para el tratamiento de agentes infecciosos.
7. Retire el casete de test de su envase de aluminio y utilícelo lo antes posible. Los mejores resultados se obtendrán si el test se realiza inmediatamente después de abrir el envase. Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control.
8. Coloque el casete de test sobre una superficie limpia y plana.
9. Ajuste una tapa cuentagotas al tubo de extracción, invierta el tubo y transfiera 2 gotas de la solución extraída al



pocillo de muestras (S) del casete de test.

10. Active el cronómetro.

11. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) coloreada(s). Lea el resultado del test después de 15 minutos exactamente. No interprete los resultados después de más de 15 minutos.



15 min

10. Interpretación del resultado

Positivo:

Aparecen dos líneas coloreadas en la zona de resultados. Aparece una línea en la región de control (C) y la otra en la región de test (T).



Nota: la intensidad del color en la región de la línea de test (T) puede variar dependiendo de la concentración de antígenos de nucleoproteínas virales del SARS-CoV-2 en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de test (T) se debe considerar resultado positivo. Recuerde que este test solo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito presente en las muestras.

Negativo:

Solo aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece ninguna línea coloreada en la región de la línea de test (T).



No válido

No aparece la línea de control (C). Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. Si esto sucede, revise el procedimiento y repita el test con un nuevo casete. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete de test contiene un control interno del procedimiento:

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido adecuado, que la membrana se ha empapado suficientemente y que la técnica del procedimiento ha sido correcta.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)* recomiendan el uso de materiales de control externo para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

• El test NADAL® COVID-19 Ag solo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*. Debe utilizarse únicamente para la detección cualitativa de antígenos de nucleoproteínas virales del SARS-CoV-2 en muestras

nasofaríngeas y orofaríngeas humanas. Este test cualitativo no determina ni la cantidad ni el aumento o disminución en la concentración de antígenos de nucleoproteínas virales del SARS-CoV-2.

- El test NADAL® COVID-19 Ag solo detecta la presencia de antígenos de nucleoproteínas virales del SARS-CoV-2 en las muestras y no se debe utilizar como único criterio para el diagnóstico de COVID-19.
- Tanto los virus viables como los no viables del SARS-CoV-2 pueden ser detectados usando el test NADAL® COVID-19 Ag.
- Al igual que con todos los test de diagnóstico, los resultados obtenidos se deben interpretar conjuntamente con otra información clínica de la que disponga el médico.
- A lo largo de la infección por SARS-CoV-2, la concentración de antígenos de nucleoproteínas virales puede caer por debajo del punto de corte del test.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar test adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye en ningún momento la posibilidad de una infección por el SARS-CoV-2 y debe ser confirmado mediante un ensayo molecular.

13. Valores esperados

Las partículas virales del SARS-CoV-2 están normalmente presentes en las vías respiratorias de los pacientes con COVID-19. Un resultado positivo del test puede indicar una infección aguda. Las concentraciones de virus en las muestras de hisopos nasofaríngeas y orofaríngeas pueden variar a lo largo de la enfermedad y podrían caer por debajo del límite de detección de los test rápidos, aunque los pacientes sigan mostrando síntomas. Por el contrario, el virus podría seguir siendo detectable durante largos períodos de tiempo incluso en pacientes convalecientes. No se puede descartar la posible infectiosidad de los sujetos de test en base a los resultados negativos de las pruebas.

14. Características del rendimiento

Rendimiento clínico

Sensibilidad y especificidad de diagnóstico

El test NADAL® COVID-19 Ag se evaluó con muestras clínicas cuyo estado se confirmó mediante RT-PCR. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Test NADAL® COVID-19 Ag	RT-PCR		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	150	0	150
Negativo	37	161	198
Total	187	161	348

Sensibilidad de diagnóstico: 80,2% (73,9% - 85,3%)*

Especificidad de diagnóstico: >99,9% (97,7% - 100%)*

Concordancia general: 89,4% (85,7% - 92,2%)*

Sensibilidad para las muestras de PCR fuertemente positivas con un valor Ct de ≤30 es del 97,6% (93,1% - 99,2%)*

*95% de intervalo de confianza

Límite de detección

El límite de detección del test NADAL® COVID-19 Ag es de $2 \times 10^{2.4}$ TCID₅₀/mL y se determinó con un control de SARS-CoV-2 con un título de virus conocido.

El límite de detección del test NADAL® COVID-19 Ag es de 0,4 ng/mL para la nucleoproteína recombinante del SARS-CoV-2.

Sustancias interferentes

Se evaluaron las siguientes sustancias, normalmente presentes en las muestras respiratorias o introducidas artificialmente en el tracto respiratorio, en las concentraciones que se indican a continuación y no mostraron ninguna interferencia con el test NADAL® COVID-19 Ag.

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
3 sprays nasales de OTC	10%	Éter glicerilo de guayacol	20 mg/mL
3 enjuagues bucales de OTC	10%	Mucina	1%
3 soluciones en gotas para la garganta de OTC	10%	Mupirocina	250 µg/mL
4-acetamido-phenol	10 mg/mL	Oximetazolina	10 mg/mL
Ácido acetilsalicílico	20 mg/mL	Fenilefrina	10 mg/mL
Albuterol	20 mg/mL	Fenilpropa-nolamina	20 mg/mL
Clorfeniramina	5 mg/mL	Relenza® (zanamivir)	20 mg/mL
Dexametasona	5 mg/mL	Rimantadina	500 ng/mL
Dextrometorfano	10 mg/mL	Tamiflu® (oseltamivir)	100 mg/mL
Difenhidramina	5 mg/mL	Tobramicina	40 mg/mL
Succinato de doxilamina	1 mg/mL	Triamcinolona	14 mg/mL
Flunisolida	3 mg/mL		

Reacciones cruzadas

Se analizaron las muestras enriquecidas con los siguientes patógenos usando el test NADAL® COVID-19 Ag:

HCoV-HKU1, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-229E, virus del sarampión, *Streptococcus pneumoniae*, virus de Epstein-Barr, *Bordetella parapertussis*, Influenza A (H1N1) pdm09, Influenza A (H3N2), Influenza A (H5N1), Influenza A (H7N9), Influenza A (H7N7), Influenza B linaje Victoria, Influenza B linaje Yamagata, *Haemophilus influenzae*, *Candida albicans*, *tuberculosis micobacteriana*, virus respiratorio sincitial, adenovirus, virus parainfluenza tipo 1, 2, 3, metapneumovirus humano, rinovirus, coxsackievirus tipo A16, norovirus, virus de las paperas, *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumonia*, *Chlamydia pneumonia*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus* grupo C, *Staphylococcus aureus*.

No se observaron reacciones cruzadas con las muestras cuando se analizaron con el test NADAL® COVID-19 Ag.

Precisión

Repetibilidad y reproducibilidad

La precisión se estableció analizando 10 réplicas de controles negativos, débilmente positivos y altamente positivos.

La reproducibilidad se estableció analizando controles triplicados de controles negativos, débilmente positivos y altamente positivos. Los test fueron realizados por 3 operadores utilizando 3 lotes independientes de test NADAL® COVID-19 Ag en 3 diferentes lugares en 5 días distintos.

El test NADAL® COVID-19 Ag demostró una repetibilidad y reproducibilidad aceptables. Los valores negativos y positivos se identificaron correctamente en más del 99% de los casos.

15. Referencias

1. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – ninth update, 23 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
2. Cui J, Li F, Shi ZL, Origin and evolution of pathogenic coronaviruses, *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:181-192.
3. He, X., Lau, E.H.Y., Wu, P. et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* 26, 672–675 (2020).
4. Su S, Wong G, Shi W, et al, Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses, *TrendsMicrobiol* 2016;24:490-502.
5. Weiss SR, Leibowitz JL, Coronavirus pathogenesis, *Adv Virus Res* 2011; 81:85-164.

Rev. 1, 2020-08-24 GP