
CERTEST

SARS-CoV-2

ONE STEP SARS-CoV-2 Ag CARD
TEST

CERTEST BIOTEC S.L.



For information purposes only



CERTEST SARS-CoV-2

One Step test to detect SARS-CoV-2 antigen in card format/
Prueba de un solo paso para detección de antígeno de SARS-CoV-2 en formato cassette

ENGLISH

INTENDED USE

CerTest SARS-CoV-2 one step card test is a coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of nucleoprotein antigen of SARS-CoV-2 from nasopharyngeal swab samples from patients suspected of COVID-19 infection.

CerTest SARS-CoV-2 card test offers a simple and a highly sensitive screening assay as an aid in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection.

INTRODUCTION

An unseen pneumonia spread swiftly in Wuhan, China, in December 2019. Scientists sequenced and recognized a novel β -coronavirus.

The disease, caused by the Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARS-CoV-2), is called as Coronavirus disease 2019 (COVID-19).

Coronaviruses (CoVs) are RNA, enveloped viruses, with a large genome (29.9 kb), amongst which β -CoVs and α -CoVs can infect mammals. Viruses belonging to the Coronaviridae family have the most abundant membrane protein (M) among other proteins, i.e. spike glycoprotein (S), nucleocapsid protein (N) and an envelope protein (E). Spike glycoprotein (S) is one of the targets of T cell response in the immune system. The S protein also promotes the binding of the virus envelope to the ACE2 receptor and the entry of the virus into the cell target. ACE2 receptors are present in cells of the arteries, veins, smooth muscles, small intestine, alveoli of the lungs, hair follicles, cardiac myofibroblasts, skin, brain, and kidney, thus SARS-CoV-2 could potentially infect these tissues.

Clinical forms of this disease comprise from mild to very severe symptoms: pneumonia, fever and respiratory symptoms are the most frequent. Other symptoms of the viral infection include a sore throat, aches, pains, and shortness of breath. In some cases, runny nose, nausea, and diarrhea also occur.

The outbreak of newly discovered coronavirus begins mainly via discharge from the nose or droplets of saliva, once an infected individual sneezes or coughs, and the estimated time for incubation is within 2 weeks. Due to the high infectious rate of SARS-CoV-2, detection of asymptomatic positive patients is probably one of the key points to controlling the outbreak.

TEST PRINCIPLE

CerTest SARS-CoV-2 is based on the principle of a qualitative immunochromatographic assay for the qualitative detection of SARS-CoV-2 from nasopharyngeal swab samples from patients suspected of COVID-19 infection.

The strip consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against SARS-CoV-2 and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-SARS-CoV-2) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming coloured conjugate complexes.

If the sample is positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugate complex (anti-SARS-CoV-2 monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres), which was previously pre-dried on the absorbent pad. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-SARS-CoV-2 antibodies present on the membrane (test line) capture the coloured conjugate and the red line will be visible. This band is used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no SARS-CoV-2 antigens presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with the red-coloured conjugate complex. The anti-SARS-CoV-2 antibodies present on the membrane (test line) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red line will not appear.

Whether the sample is positive or not, the mixture continues to move across the membrane to the immobilized specific antibodies placed in the control line. The anti-specific protein antibodies present on the membrane will capture control green-conjugate complex and the control line will always appear. The presence of this green line serves as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiration date marked on its sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors. Please remember that COVID-19 infection is very dangerous.



- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provide in the kit are approved for use in the CerTest SARS-CoV-2 test. Do not use any other commercial kit component.
- Sterile swabs provided in the kits should be only used for taking the nasopharyngeal sample collection. They cannot be reuse.
- Do not touch the head of the sterile swabs provided when opening their primary packaging to avoid contamination.
- The presence of yellow lines in the results window (control line zone and test line zone), before using the test, is completely normal and does not imply failure of the test functionality.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- All positive results should be processed following local laws and regulations.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Samples should be process as soon as possible after collection. If this is not possible, the samples can be stored in the refrigerator (2-8 °C) for 8 hours prior to testing.

Specimen preparation (see illustration):

Nasopharyngeal swab method:

1. Remove the swab from its packing.
2. Collect specimen with a sterile swab from one nostril.
3. Insert the swab into the nostril to the nasopharynx, rotating against the wall.
(to ensure swab contains cells as well as mucus).
4. Repeat procedure using other nostril.
5. Process the swab as soon as possible after collecting the specimen.

Follow the test procedure.

Samples previously extracted by transport media:

Even while using direct nasopharyngeal swab is the preferred protocol, the device can be also used with samples from nasopharyngeal swabs previously diluted in transport media such as: VTM, UTM or Saline Buffer.

1. Use the minimum volume of transport media in order to avoid loss in sensitivity. Example: 1.0 mL. Using higher volumes will affect sensitivity of the system.
2. Dilute the extracted sample 1:1 in Reagent SARS-CoV-2 (sample diluent) provided.

Follow immediately with the point 3 of test procedure



Specimen collection

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- CerTest SARS-CoV-2 card tests
- Reagent SARS-CoV-2 (sample diluent)
- Swabs
- Disposable pipettes
- Testing tubes
- Instructions for use
- Laboratory rack
- CerTest SARS-CoV-2 Positive Control swab +
Instructions for use

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

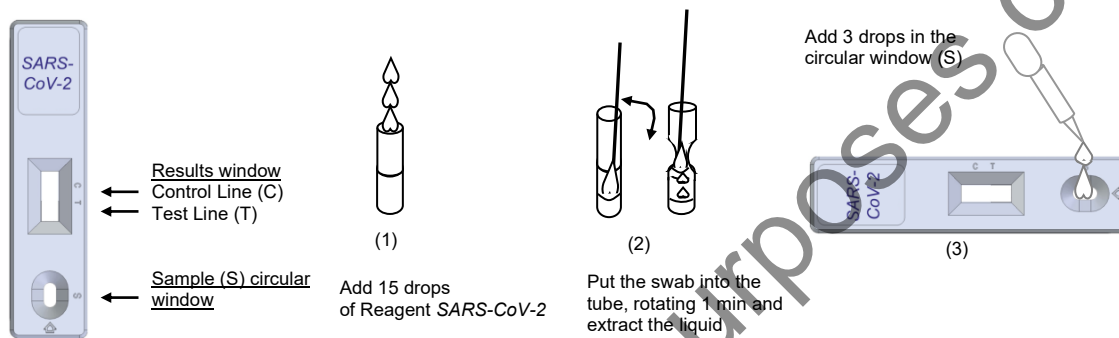
- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

TEST PROCEDURE

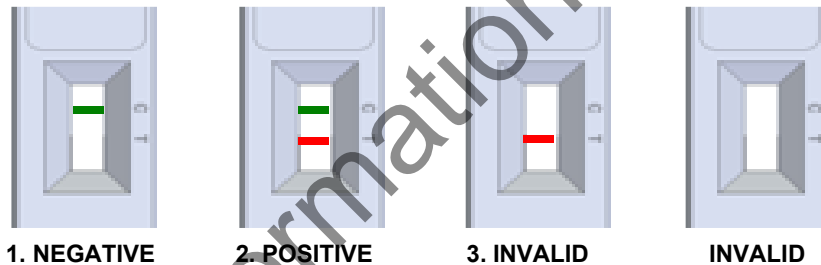
Allow tests, samples and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

1. Add 15 drops (approx. 500µL) (1) Reagent SARS-CoV-2 and immediately put the swab into the tube.
2. Mix the solution by rotating the swab forcefully against the side of the tube at least 1 minute. Best results are obtained when the specimen is vigorously extracted in the solution (2). Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the tube or rotating the swab against the side of the tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
3. Remove the CerTest SARS-CoV-2 card test from its sealed bag just before using it.
4. Use a separate pipette and test for each sample or control. Dispense 3 drops (approx. 120µL) from the testing tube, into the circular window marked with the letter S (3).
5. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.

If the test does not run due to the type of sample, stir the sample added in the sample window (S) with the pipette. If it doesn't work, dispense a drop of Reagent SARS-CoV-2 until seeing the liquid running through the reaction zone.



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



| | SARS-CoV-2 | Interpretation of the results |
|----|------------------|---|
| 1. | - GREEN | There is no SARS-CoV-2 antigen presence in the sample. |
| 2. | + GREEN-RED | There is SARS-CoV-2 antigen presence in the sample. |
| 3. | Any other result | Invalid result, we recommend repeating the assay using the same sample with another test. |

NEGATIVE: Only one GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

INVALID: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.



CERTEST SARS-CoV-2

One Step test to detect SARS-CoV-2 antigen in card format/
Prueba de un solo paso para detección de antígeno de SARS-CoV-2 en formato cassette

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the test line (T) in the results window will vary depending on the concentration of antigen presents in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigen can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

RECOMMENDATIONS

Recommendations World Health Organization: Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays- 11 september 2020.

1. To optimize performance, testing should be conducted by trained operators in strict accordance with the test procedure and within the first 5-7 days following the onset of symptoms.
2. Where possible, all positive samples giving positive results should be transported to laboratories with NAAT capability for confirmatory testing.
3. This test could be used to screen at-risk individuals and rapidly isolate positive cases in NAAT- confirmed COVID-19 outbreaks.
4. To monitor trends in disease incidence in communities.
5. For early detection and isolation of positive cases in health facilities, where there is widespread community transmission.
6. A negative result cannot completely exclude an active COVID-19 infection, repeat testing or preferably confirmatory testing should be performed (NAAT) whenever possible, particularly in symptomatic patients.
7. Even CerTest SARS-CoV-2 test was not validated using samples from asymptomatic contacts of cases, asymptomatic cases have been demonstrated to have viral loads similar to symptomatic cases, so CerTest SARS-CoV-2 could detect as positive.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
2. CerTest SARS-CoV-2 should be used only with nasopharyngeal swab samples. The use of swab specimens taken from other sites or the use of other samples such as saliva, sputum or urine has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper nasopharyngeal specimens must be obtained.
3. The intensity of test line may vary from very strong at high antigens concentration to faint when the antigens concentration is close to the detection limit value of the test.
4. Positive results determine the presence of SARS-CoV-2 antigens. A diagnosis of SARS-CoV-2 infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
5. Positive results do not rule out co-infections with other pathogens.
6. Only VTM, UTM and Saline buffer transport media has been validated with CerTest SARS-CoV-2 test. When using transport media, the test sensitivity can be reduced due to excessive dilution of sample.
7. A negative result is not meaningful because of it is possible the antigens concentration in the nasopharyngeal samples is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation still persist, it is recommended that all negative results undergo confirmatory testing using other method and/or virus identification by cell culture, PCR or other technique.

EXPECTED VALUES

On January 30, 2020, the World Health Organization declared COVID-19 a public health emergency of international concern. Since the onset of the pandemic, SARS-CoV-2 has affected millions of people, causing thousands of victims worldwide.

Recent studies have shown that the primary viral infection found in symptomatic patients was identical to that seen in asymptomatic patients, suggesting that COVID-19 patients with asymptomatic infections are capable of transmitting SARS-CoV-2. During the incubation period, asymptomatic patients are also likely to transmit the virus to healthy people.

Although SARS-CoV-2 infection can affect people of any age, children and the elderly with asthma are in a higher risk category for the disease. Those with underlying health problems such as cancer, chronic respiratory diseases, cardiovascular diseases, and diabetes are also reported to have a higher chance of developing serious illnesses.





CERTEST SARS-CoV-2

One Step test to detect SARS-CoV-2 antigen in card format/
Prueba de un solo paso para detección de antígeno de SARS-CoV-2 en formato cassette

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity (detection limit)

Detection limit value (typical) of CerTest SARS-CoV-2 is 1.0 ng/mL of SARS-CoV-2 recombinant protein or 1×10^3 TCID₅₀/mL of 2019nCoV/USA-WA1/2020.

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation, with nasopharyngeal samples from people suspected of infection by SARS-CoV-2 virus, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (CerTest SARS-CoV-2, Certest) vs qPCR technique (VIASURE). The results were as follows:

| IC test: CerTest SARS-CoV-2. | qPCR technique | | | Total |
|---------------------------------|----------------|----|-----|-------|
| | | + | - | |
| + | | 26 | 1 | 27 |
| - | | 2 | 233 | 235 |
| Total | | 28 | 234 | 262 |

| CerTest SARS-CoV-2 vs qPCR technique | | |
|--------------------------------------|------------|-------------------------|
| | Mean Value | 95% confidence interval |
| Sensitivity (*) | 92.9% | 76.5–99.1% |
| Specificity | 99.6% | 97.6–100.0% |
| PPV | 96.3% | 81.0–99.9% |
| NPV | 99.1% | 97.0–99.9% |

(*) Taking into account the recommendations for *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays* (11 September 2020) from the WHO, the sensitivity of the test was calculated with nasopharyngeal samples with high viral load (high viral loads is expected in early symptomatic phases of the illness (with the first 5-7 days of illness) in the range of Ag-RDT test detection).

The results showed a high sensitivity and specificity to detect SARS-CoV-2 using CerTest SARS-CoV-2.

Hook Effect

CerTest SARS-CoV-2 test does not show inhibitory hook effect at concentration higher than 100,000xLoD.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of CerTest SARS-CoV-2; no cross reactivity against organism, pathogens, substances that could cause infections:

| | | | |
|--|------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <i>Adenovirus</i> | <i>Entamoeba histolytica</i> | <i>Legionella pneumophila</i> | <i>Salmonella typhimurium</i> |
| <i>Astrovirus</i> | <i>Escherichia coli O157</i> | <i>Listeria monocytogenes</i> | <i>Shigella boydii</i> |
| <i>Bovine Haemoglobin</i> | <i>Giardia</i> | <i>Norovirus GI</i> | <i>Shigella dysenteriae</i> |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | <i>Helicobacter pylori</i> | <i>Norovirus GII</i> | <i>Shigella flexneri</i> |
| <i>Clostridium difficile antigen GDH</i> | <i>Human Calprotectin</i> | <i>Pig Haemoglobin</i> | <i>Shigella sonnei</i> |
| <i>Clostridium difficile Toxin A</i> | <i>Human Haemoglobin</i> | <i>Rotavirus</i> | <i>Streptococcus pneumococcal</i> |
| <i>Clostridium difficile Toxin B</i> | <i>Human Lactoferrin</i> | <i>Respiratory Syncytial Virus</i> | <i>Streptococcus pyogenes</i> |
| <i>Coronavirus strain 229E</i> | <i>Human Transferrin</i> | <i>Salmonella enteritidis</i> | <i>Yersinia Enterocolitica O:3</i> |
| <i>Coronavirus strain NL63</i> | <i>Influenza type A</i> | <i>Salmonella paratyphi A</i> | <i>Yersinia Enterocolitica O:9</i> |
| <i>Coronavirus strain OC43</i> | <i>Influenza type B</i> | <i>Salmonella typhi</i> | |

CerTest SARS-CoV-2 showed some cross reaction with SARS and very low with MERS.



CERTEST SARS-CoV-2

One Step test to detect SARS-CoV-2 antigen in card format/
Prueba de un solo paso para detección de antígeno de SARS-CoV-2 en formato cassette

Interferences

An evaluation was performed to determine the possible interferences of CerTest SARS-CoV-2; no interferences against the substances tested were detected:

| Potencial interfering substance | Concentration | Result | Potencial interfering substance | Concentration | Result |
|---|---------------------------|----------|--|---------------------------|----------|
| Metronidazole | 3.0 mg/mL | Negative | Loperamide hydrochloride (<i>Fortasec</i>) | 0.15 mg/mL | Negative |
| Ampicillin | 3.0 mg/mL | Negative | Heparin (<i>Hibor</i>) | 350.0 IU/mL | Negative |
| Oseltamivir | $3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL | Negative | Almagato (<i>Almax</i>) | 3.0 mg/mL | Negative |
| Amantadine | 0.3 mg/mL | Negative | Fosfamycin (<i>Monurol</i>) | $3.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL | Negative |
| Ribavirin | 3.0 mg/mL | Negative | Acetylcysteine (<i>Fluimucil</i>) | $3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL | Negative |
| Codeine (<i>Toseina</i>) | 0.2 mg/mL | Negative | Dexketoprofen trometamol (<i>Enantyum</i>) | 0.3 mg/mL | Negative |
| Benzocaine (<i>Angileptol</i>) | $3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL | Negative | Levofloxacin | $3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL | Negative |
| Cloperastine (<i>Flutox</i>) | 0.3 mg/mL | Negative | Ciprofloxacin | 0.3 mg/mL | Negative |
| Carbocisteine (<i>Iniston mucolítico</i>) | $3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL | Negative | Rifampicin (<i>Rifaldin</i>) | 0.3 mg/mL | Negative |
| Loratadine | 0.3 mg/mL | Negative | Phenoxymethylpenicillin potassium | 3.0 mg/mL | Negative |
| Dexchlorpheniramine (<i>Polaramine</i>) | 0.3 mg/mL | Negative | Ambroxol hydrochloride (<i>Mucosan</i>) | 0.3 mg/mL | Negative |
| Ebastine (<i>Ebastel</i>) | 3.0 mg/mL | Negative | Macrogol 3350 (<i>Movicol</i>) | 3.0 mg/mL | Negative |
| Acetyl Salicylic (<i>Adiro</i>) | 0.3 mg/mL | Negative | Lysine Carbocysteinate (<i>Pectox</i>) | $3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL | Negative |
| Ibuprofen (<i>Espidifen</i>) | 0.3 mg/mL | Negative | Hydroxyzine dihydrochloride | 0.3 mg/mL | Negative |
| Paracetamol (<i>Dolocatil</i>) | 5.0 mg/mL | Negative | Lorazepam | $3.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL | Negative |
| Metamizole (<i>Nolotil</i>) | 5.0 mg/mL | Negative | Amoxicillin | 3.0 mg/mL | Negative |
| Prednisone | 0.3 mg/mL | Negative | Mercaptopurine | 0.3 mg/mL | Negative |
| Omeprazole | $2.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL | Negative | | | |

For information purposes only

ESPAÑOL**USO PREVISTO**

CerTest SARS-CoV-2 card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de antígenos de nucleoproteína de SARS-CoV-2 a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos procedentes de pacientes sospechosos de infección por COVID-19.

CerTest SARS-CoV-2 card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad como ayuda en el diagnóstico de infección causada por SARS-CoV-2.

INTRODUCCIÓN

Una neumonía invisible se propagó rápidamente en Wuhan, China, en diciembre de 2019. Los científicos secuenciaron y reconocieron un nuevo coronavirus β . La enfermedad, causada por el virus corona del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2), se denomina enfermedad de coronavirus 2019 (COVID-19).

Los coronavirus (CoV) son ARN, virus envueltos, con un genoma grande (29,9 kb), entre los que los β -CoV y α -CoV pueden infectar a los mamíferos. Los virus que pertenecen a la familia Coronaviridae tienen la proteína de membrana (M) más abundante entre otras proteínas, es decir, la glicoproteína de pico (S), la proteína de la nucleocápside (N) y una proteína de la envoltura (E). La glicoproteína de pico (S) es uno de los objetivos de la respuesta de las células T en el sistema inmunológico. La proteína S también promueve la unión de la envoltura del virus al receptor ACE2 y la entrada del virus en la célula diana. Los receptores ACE2 están presentes en las células de las arterias, venas, músculos lisos, intestino delgado, alvéolos de los pulmones, folículos pilosos, miofibroblastos cardíacos, piel, cerebro y riñón, por lo que el SARS-CoV-2 podría potencialmente infectar estos tejidos.

Las formas clínicas de esta enfermedad comprenden desde síntomas leves hasta muy graves: la neumonía, la fiebre y los síntomas respiratorios son los más frecuentes. Otros síntomas de la infección viral incluyen dolor de garganta, molestias, dolores y dificultad para respirar. En algunos casos, también se presenta secreción nasal, náuseas y diarrea.

El brote de coronavirus recién descubierto comienza principalmente a través de secreciones nasales o gotitas de saliva, una vez que un individuo infectado estornuda o tose, y el tiempo estimado de incubación es de 2 semanas. Debido a la alta tasa de infección del SARS-CoV-2, la detección de pacientes positivos asintomáticos es probablemente uno de los puntos clave para controlar el brote.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest SARS-CoV-2 test es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección cualitativa de antígenos de nucleoproteína de SARS-CoV-2 a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos procedentes de pacientes sospechosos de infección por COVID-19.

La membrana de nitrocelulosa ha sido fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a SARS-CoV-2 en la línea de test (T) en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test con anticuerpos monoclonales de ratón frente a SARS-CoV-2 conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-SARS-CoV-2-microesferas rojas de látex) el cual ha sido secado previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 presentes en la membrana (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá. Estas líneas se usarán para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígenos de SARS-CoV-2 o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 presentes en la membrana (línea de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá. La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada una de las muestras para evitar errores de contaminación. Por favor, recuerde que la infección por COVID-19 es muy peligrosa.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Limpiar los posibles derrames con un desinfectante adecuado.
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest SARS-CoV-2. test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Los hisopos estériles suministrados en los kits deben ser usados solamente para la toma de muestra nasofaríngea. No pueden reutilizarse.
- No tocar la cabeza del hisopo estéril suministrado cuando se saque de su envase primario para evitar contaminación.
- La presencia de líneas amarillentas en la ventana de resultados (zona línea de control y zona línea de test), antes de utilizar el test, es completamente normal y no supone fallo de funcionalidad del test.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.
- Todos los resultados positivos deberían procesarse siguiendo las leyes y regulaciones locales.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

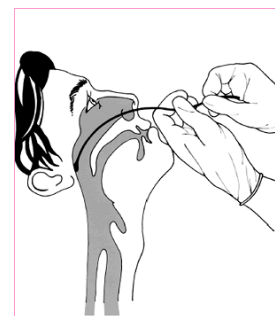
Las muestras deben ser procesadas lo más pronto posible tras su recolección. Si esto no fuera posible las muestras pueden ser almacenadas en el frigorífico (2-8°C) durante 8 horas antes de realizar la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

Método de hisopo nasofaríngeo:

1. Sacar el hisopo de su envase.
2. Tomar la muestra con un hisopo estéril a partir de un orificio nasal.
3. Introducir el hisopo dentro del orificio hacia la nasofaringe, rotando contra la pared. (asegurarse de que el hisopo contenga células así como mocos).
4. Repetir el procedimiento con el otro orificio nasal.
5. Procesar el hisopo tan pronto como sea posible tras la recolección de la muestra.

Seguir apartado de Procedimiento



Toma de muestra

Muestras nasofaríngeas previamente extraídas en medio de transporte:

Incluso cuando el uso de muestras directas de hisopo nasofaríngeo es el protocolo preferido a seguir, el test puede ser utilizado con hisopos de muestras nasofaríngeas previamente diluidas en medios de transporte como: VTM, UTM o Bufer salino.

1. Utilizar el mínimo volumen de medio de transporte para evitar pérdidas en la sensibilidad. Ejemplo: 1.0 mL. El uso de mayores volúmenes afecta a la sensibilidad del sistema.
2. Diluir las muestras extraídas 1:1 en el reactivo SARS-CoV-2 (diluyente de muestra) suministrado en el kit.

Seguir inmediatamente con el punto 3 del apartado Procedimiento

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest SARS-CoV-2 card tests
- Reactivo SARS-CoV-2 (diluyente de muestra)
- Hisopos
- Pipetas desechables
- Tubos de ensayo
- Instrucciones de uso
- Gradilla de laboratorio
- Hisopo CerTest SARS-CoV-2 Positive Control + Instrucciones de uso

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

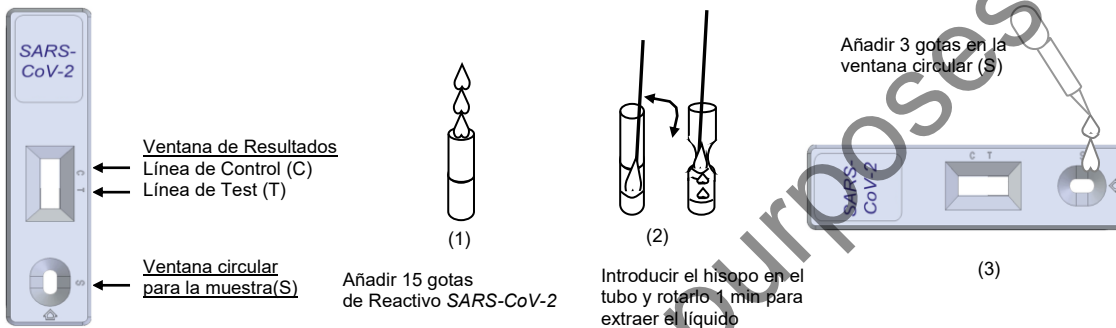
- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

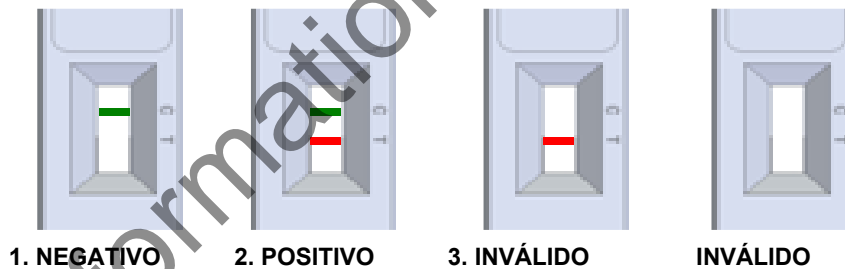
Previamente los tests, las muestras y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

1. Añadir 15 gotas (aprox. 500µL) (1) del Reactivo SARS-CoV-2 y poner inmediatamente el hisopo dentro del tubo.
2. Agitar haciendo rotar el hisopo contra las paredes del tubo para permitir que se mezcle la solución, al menos 1 minuto. Se obtendrán mejores resultados si la muestra es extraída de forma vigorosa (2). Extraer la máxima cantidad del líquido del hisopo presionándolo contra las paredes del tubo hasta que el hisopo quede seco. Tirar el hisopo.
3. Sacar el test CerTest SARS-CoV-2 de su envase en el momento antes de utilizarlo.
4. Usar una pipeta y un test diferente para cada muestra o control. Dispensar 3 gotas (aprox. 120µL) a partir del tubo de ensayo, en la ventana circular marcada con la letra (S) (3).
5. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido al tipo de muestra, agitar con la pipeta la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de Reactivo SARS-CoV-2 hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



| SARS-CoV-2 | | Interpretación de resultados |
|------------|--------------------------|---|
| 1. | - VERDE | No hay presencia de antígeno SARS-CoV-2 en la muestra |
| 2. | + VERDE-ROJO | Hay presencia de antígeno SARS-CoV-2 en la muestra |
| 3. | Cualquier otro resultado | Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test. |



CERTEST SARS-CoV-2

*One Step test to detect SARS-CoV-2 antigen in card format/
Prueba de un solo paso para detección de antígeno de SARS-CoV-2 en formato cassette*

NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados del test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

RECOMENDACIONES

Recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) con respecto al uso de detección de antígenos para SARS-CoV-2: Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays- 11 september 2020.

1. Para optimizar el rendimiento de la prueba, éstas se deben realizar por personal entrenado y deben ser realizadas siguiendo estrictamente el procedimiento del test y dentro de los 5-7 días posteriores al inicio de los síntomas.
2. Siempre que sea posible, las muestras positivas que den resultados positivos deben enviarse a laboratorios con capacidad para realizar test de amplificación de ácido nucleico para su confirmación.
3. Esta prueba podría usarse para detección de individuos en riesgo y aislar rápidamente casos positivos en brotes de COVID-19 confirmados por técnicas de amplificación de ácido nucleico.
4. Para monitorear la tendencia en incidencia de enfermedad en comunidades.
5. Para la detección temprana y aislamiento de casos positivos en los centros de salud, donde existe una transmisión comunitaria generalizada.
6. Un resultado negativo no puede excluir por completo una infección activa por COVID-19, siempre que sea posible, se debe repetir el test o preferiblemente realizar la prueba de amplificación de ácido nucleico, especialmente en pacientes asintomáticos.
7. Aunque la prueba CerTest SARS-CoV-2 no fue validada usando muestras de personas asintomáticas, se ha demostrado que los casos asintomáticos tienen cargas virales similares a los casos sintomáticos, por lo que CerTest SARS-CoV-2 podría detectarlos como positivos.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
2. CerTest SARS-CoV-2 debería utilizarse sólo con muestras de hisopos nasofaríngeos. El uso de muestras tomadas de otros sitios o el uso de otras muestras como saliva, esputos u orina no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras nasofaríngeas.
3. La intensidad de la línea del test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.
4. Los resultados positivos determinan la presencia de antígenos de SARS-CoV-2. Un diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 debería evaluarse por un especialista considerando todos los hallazgos clínicos y de laboratorio basándose en la correlación entre estos resultados y las observaciones clínicas.
5. Los resultados positivos del test no descartan co-infecciones con otro patógenos.
6. Solamente los medios de transporte: VTM, UTM y buffer salino han sido validados con CerTest SARS-CoV-2 test, la utilización de los medios de transporte pueden reducir la sensibilidad del test por la dilución excesiva de muestra.
7. Un resultado negativo no se puede considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en muestras nasofaríngeas sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, se recomienda que los resultados negativos se confirmen mediante otro método y/o identificación del virus por cultivo celular, PCR u otra técnica.



VALORES ESPERADOS

El 30 de enero de 2020, la Organización Mundial de la Salud declaró al COVID-19 una emergencia de salud pública de importancia internacional. Desde el inicio de la pandemia, el SARS-CoV-2 ha afectado a millones de personas y ha causado miles de víctimas en todo el mundo.

Estudios recientes han demostrado que la infección viral primaria encontrada en pacientes sintomáticos fue idéntica a la observada en pacientes asintomáticos, lo que sugiere que los pacientes con COVID-19 con infecciones asintomáticas son capaces de transmitir SARS-CoV-2. Durante el período de incubación, los pacientes asintomáticos también pueden transmitir el virus a personas sanas.

Aunque la infección por SARS-CoV-2 puede afectar a personas de cualquier edad, los niños y los ancianos con asma se encuentran en una categoría de mayor riesgo de contraer la enfermedad. Aquellos con problemas de salud subyacentes como cáncer, enfermedades respiratorias crónicas, enfermedades cardiovasculares y diabetes también tienen una mayor probabilidad de desarrollar enfermedades graves.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección (típico) de CerTest SARS-CoV-2 es 1.0 ng/mL de proteína recombinante de SARS-CoV-2 o 1×10^3 TCID₅₀/mL con 2019nCoV/USA-WA1/2020.

Sensibilidad y especificidad clínica

Una evaluación, con muestras nasofaríngeas de personas sospechosas de infección por el virus SARS-CoV-2, se llevó a cabo comparando los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico (CerTest SARS-CoV-2, Certest) frente a técnica qPCR (VIASURE). Los resultados se muestran a continuación:

| | | Técnica PCR | | |
|---------------------------------|-------|-------------|-----|-------|
| | | + | - | Total |
| IC test: CerTest SARS-CoV-2. | + | 26 | 1 | 27 |
| | - | 2 | 233 | 235 |
| | Total | 28 | 234 | 262 |

| CerTest SARS-CoV-2 vs técnica qPCR | | |
|------------------------------------|-------------|----------------------------|
| | Valor Medio | 95% intervalo de confianza |
| Sensibilidad (*) | 92.9% | 76.5–99.1% |
| Especificidad | 99.6% | 97.6–100.0% |
| VPP | 96.3% | 81.0–99.9% |
| VPN | 99.1% | 97.0–99.9% |

(*) Teniendo en cuenta las recomendaciones de la OMS *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays (11 September 2020)*, la sensibilidad del test fue calculada con muestras nasofaríngeas con alta carga viral (la carga viral alta se espera en las primeras fases en las que aparecen síntomas de la enfermedad (en los 5-7 primeros días de enfermedad) en el rango de detección de los Ag-RDT).

Los resultados mostraron que CerTest SARS-CoV-2 presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar SARS-CoV-2.

Efecto Hook

CerTest SARS-CoV-2 test no mostró efecto Hook inhibitorio a concentraciones mayores de 100,000xLoD.



CERTEST SARS-CoV-2

One Step test to detect SARS-CoV-2 antigen in card format/
Prueba de un solo paso para detección de antígeno de SARS-CoV-2 en formato cassette

Reacciones cruzadas

Se llevó a cabo una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de CerTest SARS-CoV-2; no se detectó reacción cruzada con organismos, patógenos, sustancias que podrían causar infecciones:

| | | | |
|--|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Adenovirus</i> | <i>Entamoeba histolytica</i> | <i>Legionella pneumophila</i> | <i>Shigella dysenteriae</i> |
| <i>Astrovirus</i> | <i>Escherichia coli O157</i> | <i>Listeria monocytogenes</i> | <i>Shigella flexneri</i> |
| <i>Calprotectina humana</i> | <i>Giardia</i> | <i>Norovirus GI</i> | <i>Shigella sonnei</i> |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | <i>Helicobacter pylori</i> | <i>Norovirus GII</i> | <i>Streptococcus pneumococcal</i> |
| <i>Clostridium difficile antigen GDH</i> | <i>Hemoglobina bovina</i> | <i>Rotavirus</i> | <i>Streptococcus pyogenes</i> |
| <i>Clostridium difficile Toxin A</i> | <i>Hemoglobina de cerdo</i> | <i>Salmonella enteritidis</i> | <i>Transferrina humana</i> |
| <i>Clostridium difficile Toxin B</i> | <i>Hemoglobina humana</i> | <i>Salmonella paratyphi A</i> | <i>Virus Respiratorio Sincitial</i> |
| <i>Coronavirus strain 229E</i> | <i>Influenza tipo A</i> | <i>Salmonella typhi</i> | <i>Yersinia Enterocolitica O:3</i> |
| <i>Coronavirus strain NL63</i> | <i>Influenza tipo B</i> | <i>Salmonella typhimurium</i> | <i>Yersinia Enterocolitica O:9</i> |
| <i>Coronavirus strain OC43</i> | <i>Lactoferrina humana</i> | <i>Shigella boydii</i> | |

CerTest SARS-CoV-2 muestra algo de reacción cruzada con SARS y muy baja con MERS.

Interferencias

Se llevó a cabo una evaluación para determinar posibles interferencias de CerTest SARS-CoV-2.; no se detectó interferencia con ninguna de las sustancias probadas:

| Potencial sustancia interferente | Concentración | Resultados | Potencial sustancia interferente | Concentración | Resultados |
|---|----------------------------|------------|--|----------------------------|------------|
| Metronidazole | 3.0 mg/mL | Negativo | Loperamide hydrochloride (<i>Fortasec</i>) | 0.15 mg/mL | Negativo |
| Ampicillin | 3.0 mg/mL | Negativo | Heparin (<i>Hibor</i>) | 350.0 IU/mL | Negativo |
| Oseltamivir | 3.0·10 ⁻² mg/mL | Negativo | Almagato (<i>Almax</i>) | 3.0 mg/mL | Negativo |
| Amantadine | 0.3 mg/mL | Negativo | Fosfamycin (<i>Monurol</i>) | 3.0·10 ⁻³ mg/mL | Negativo |
| Ribavirin | 3.0 mg/mL | Negativo | Acetylcysteine (<i>Fluimucil</i>) | 3.0·10 ⁻² mg/mL | Negativo |
| Codeine (<i>Toseina</i>) | 0.2 mg/mL | Negativo | Dexketoprofen trometamol (<i>Enantyum</i>) | 0.3 mg/mL | Negativo |
| Benzocaine (<i>Angileptol</i>) | 3.0·10 ⁻² mg/mL | Negativo | Levofloxacin | 3.0·10 ⁻² mg/mL | Negativo |
| Cloperastine (<i>Flutox</i>) | 0.3 mg/mL | Negativo | Ciprofloxacin | 0.3 mg/mL | Negativo |
| Carbocisteine (<i>Iniston mucolítico</i>) | 3.0·10 ⁻² mg/mL | Negativo | Rifampicin (<i>Rifaldin</i>) | 0.3 mg/mL | Negativo |
| Loratadine | 0.3 mg/mL | Negativo | Phenoxymethylpenicillin potassium | 3.0 mg/mL | Negativo |
| Dexchloropheniramine (<i>Polaramine</i>) | 0.3 mg/mL | Negativo | Ambroxol hydrochloride (<i>Mucosan</i>) | 0.3 mg/mL | Negativo |
| Ebastine (<i>EbasteI</i>) | 3.0 mg/mL | Negativo | Macrogol 3350 (<i>Movicol</i>) | 3.0 mg/mL | Negativo |
| Acetyl Salicylic (<i>Adiro</i>) | 0.3 mg/mL | Negativo | Lysine Carbocysteinate (<i>Pectox</i>) | 3.0·10 ⁻² mg/mL | Negativo |
| Ibuprofen (<i>Espidifen</i>) | 0.3 mg/mL | Negativo | Hydroxyzine dihydrochloride | 0.3 mg/mL | Negativo |
| Paracetamol (<i>Dolocatil</i>) | 5.0 mg/mL | Negativo | Lorazepam | 3.0·10 ⁻³ mg/mL | Negativo |
| Metamizole (<i>Nolotil</i>) | 5.0 mg/mL | Negativo | Amoxicillin | 3.0 mg/mL | Negativo |
| Prednisone | 0.3 mg/mL | Negativo | Mercaptopurine | 0.3 mg/mL | Negativo |
| Omeprazole | 2.0·10 ⁻³ mg/mL | Negativo | | | |



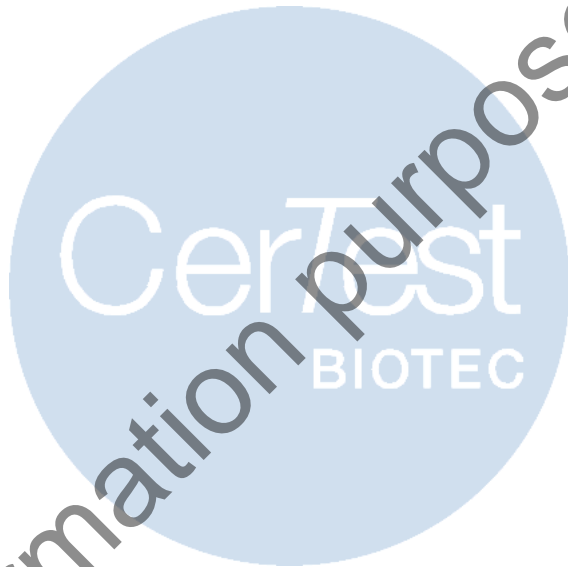
REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. Palestino, G.; García-Silva, I.; González-Ortega, O. and Rosales-Mendoza, S. **Can nanotechnology help in the fight against COVID-19? Expert Review of Anti-infective Therapy.** <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1776115>. Jun. 2020.
2. Moeis MR.; Rahayu AP.; Ihsani N. and Pertiwi W. **Coronavirus-SARS-CoV-2: Biology and Problems in rRT-PCR Detection.** *Borneo Journal of Pharmacy.* Vol. 3; special Issue 1:136-145. Jun. 2020. <https://doi.org/10.33084/bjop.v3iSpecial-1.1429>
3. Arnedo-Pena, A.; Sabater-Vidal, S.; Meseguer-Ferrer, N.; Pac-Sa, M. R.; Mañes-Flor, P.; Gascó-Laborda, J. C.; Larrea, R. M.; Tirado-Balaguer, M. D.; Romeu-García, M. A.; Gil-Fortuño, M.; Safont-Adsuará, L.; Blasco, A.; Gomila-Sar, B.; Moreno-Muñoz, M. R. and Bellido-Blasco, J. **COVID-19 secondary attack rate and risk factors in household contacts in Castellon (Spain): Preliminary report.** *Revista Enfermedades Emergentes.* 2020;19(2):64-70.
4. Younes, N.; Al-Sadeq, D. W.; AL-Jighefee, H.; Younes, S.; Al-Jamal, O.; Daas, H. I.; Yassine, H. M. and Nasrallah, G. K. **Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2.** *Viruses (Multidisciplinary Digital Publishing Institute).* 12 (6): 582. <https://doi.org/10.3390/v12060582>. May. 2020.
5. Rincón, A.; Moreso, F.; López-Herradón, A.; Fernández-Robres, M.A.; Cidraque, I.; Nin, J.; Méndez, O.; López, M.; Pájaro, C.; Satorra, A.; Stuard, S. and Ramos, R. **The keys to control a coronavirus disease 2019 outbreak in a haemodialysis unit.** *Clinical Kidney Journal.* 2020: 1–8.
6. Fragkou, P. C.; Papaevangelou, V.; Antoniadou, A.; Kavvatha, D.; Ploussi, A.; Pantazis N.; Sirmpilantze, T.; Psarrakis, C.; Pournaras, S. A.; Tsioufas, S. and Kelekis, A. **Preliminary Data of a Quantitative Point of Care Test for SARS-CoV-2 Antibodies From Greece.** *In vivo.* 34: xxx-xxx (2020).
7. Ezhilan, M.; Suresh, I. and Nesakumar, N. **SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2: A Diagnostic Challenge.** *Measurement.* 168 (2021): 108335. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108335>. Aug. 2020.
8. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance. 11 September 2020. World Health Organization.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

| | | | | | | | |
|-----|--|---|---|----------------------------|--|------------------------------|--|
| IVD | <i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i> | Keep dry Almacenar en lugar seco | Use by Fecha de caducidad | Manufacturer Fabricante | LOT | Batch code Número de lote | |
| i | Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso | Temperature limitation Limitación de temperatura | Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test | DIL | Sample diluent Diluyente de muestra | REF | Catalogue number Número de referencia |
| X | Do not re-use No reutilizar | CE | CE marking/ Marcado CE | | | | |

For information purposes only



CerTest
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es



F-368 rev00