

Title**Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG
Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01**

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020

Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)

Codice: R-423-25-C-CE e R-423-20-C-CE

VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation – VR-11 ed. 01

1. Scopo dello studio

Il kit POCT *Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)* per la determinazione qualitativa di IgG e IgM anti Coronavirus SARS-CoV-2 responsabili della malattia COVID-19 viene valutato su una casistica di pazienti italiani con campioni raccolti nel periodo di comparsa della epidemia di COVID-19.

Il suo scopo è valutare le prestazioni di sensibilità e specificità clinica del kit POCT *Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)* su campioni clinici italiani a conferma delle prestazioni ottenute su campioni cinesi dall'azienda del gruppo KHB. Scopo del presente report è illustrare i risultati preliminari ottenuti sui campioni di popolazione italiana.

2. Protocollo di studio

Il protocollo di studio prevede l'esecuzione di almeno 200 campioni così suddivisi:

Campione	Numerosità	Requisiti
Stadio clinico iniziale di COVID-19	50	PCR Positiva con datazione
Stadio clinico accertato COVID-19 con iniziale guarigione	50	PCR +/- in base alla datazione e recupero clinico
Prelievi seriali dello stesso paziente COVID-19	5	Siero-conversioni

Title

Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020

Campione	Numerosità	Requisiti
Campioni di pazienti Non COVID-19	200	Analisi di specificità con altre patologie durante e pre-COVID-19

La determinazione di RT-PCR diretta del genoma del virus SARS-CoV-2 e la determinazione del profilo anticorpale specifico sono dati che possono integrarsi, fornendo il primo l'informazione sulla presenza del virus e il secondo il profilo anticorpale specifico per il virus. Per questo ogni campione da tampone naso-faringeo o di aspirato bronco-alveolare è stato testato con un metodo RT-PCR e con il *Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)* per la determinazione qualitativa di IgG e IgM anti Coronavirus SARS-CoV-2.

Sui pazienti è stato eseguito il tampone nasofaringeo e il prelievo di sangue registrando il tempo intercorso fra la comparsa dei sintomi e l'esecuzione del prelievo (range di tempo da -2 a 30 giorni).

3. Informazioni su COVID-19

Nel 2019 il nuovo Coronavirus, recentemente denominato SARS-CoV-2, è stato identificato come agente eziologico della comparsa di polmonite virale, COVID-19.

SARS-CoV-2 appartiene al genere β -coronavirus ed è simile a quello della SARS del 2003 e di MERS del 2012. Il genoma del Coronavirus codifica 4 proteine strutturali che comprendono la proteina Spike (S), le proteine dell'involucro o Envelope (E), la proteina di Membrana (M) e Nucleocapside (N).

Il Sistema immunitario umano produce anticorpi specifici generalmente entro 1-2 settimane dalla prima infezione da nuovo Coronavirus 2019.

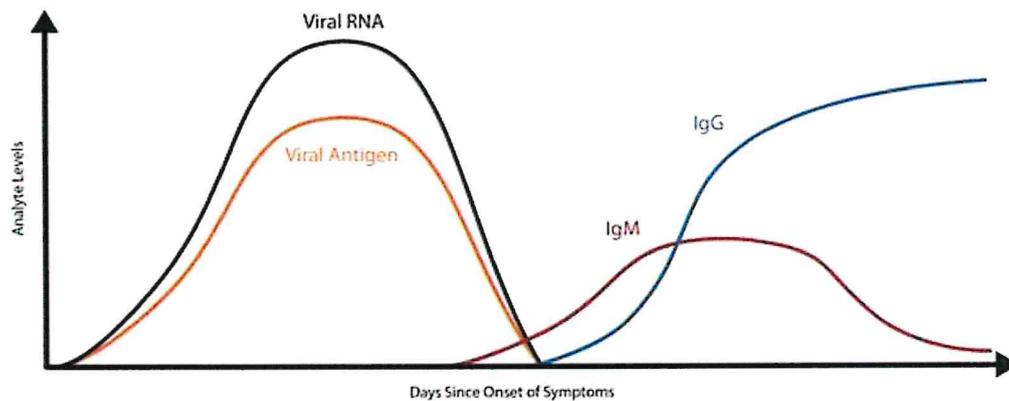
Title

**Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG
Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01**

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020



4. Law references

UNI EN ISO 9001:2015 - Systems for Quality management – Requirements

UNI CEI EN ISO 13485:2016 – Medical Device - Quality management systems - Requirements for regulatory purposes

Directive 98/79/EC of 27th October 1998 concerning in vitro diagnostic medical devices Annex I.A.3; Annex I.B.8.7.h; Annex III.3 11th indent

EN ISO 13612:2002 – Performance evaluation of in vitro diagnostic medical devices

CLSI EP9-A September 2002 - Method comparison and bias estimation using patient samples Second – Edition.

5. Materiali e Metodo

a. Metodo

La **sensibilità** del kit è stata calcolata sulla base della concordanza con le evidenze cliniche e di laboratorio.

Title

**Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG
Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01**

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020

I criteri per la positività a COVID-19 sono stati almeno 3 delle seguenti evidenze:
cliniche:

- temperatura corporea (BT): $>37.5^{\circ}\text{C}$
- insufficienza respiratoria (Saturazione ematica di $\text{O}_2 < 95\%$)
- evidenze peculiari da polmonite alla TAC

di laboratorio:

- positività alla rilevazione del genoma del Coronavirus SARS-CoV-2 mediante PCR

La **specificità** del kit è stata valutata su campioni considerati negativi per COVID-19 secondo il seguente criterio:

- Campioni di pazienti asintomatici
- Campioni di donatori pre-COVID-19
- Campioni di pazienti positivi per altre patologie e negativi alla rilevazione del genoma del Coronavirus SARS-CoV-2 mediante PCR

Come da protocollo, sui pazienti è stato eseguito il tampone nasofaringeo e il prelievo di sangue registrando il tempo intercorso fra la comparsa dei sintomi e l'esecuzione del prelievo (range di tempo da -2 a 30 giorni). Di particolare rilevanza è questo dato che può essere correlato con i giorni che intercorrono fra la comparsa dei sintomi e la risposta immunitaria.

Sui campioni ottenuti mediante tampone nasofaringeo è stata eseguita la determinazione del virus SARS-CoV-2 mediante metodo PCR, mentre sui campioni di siero è stata eseguita la determinazione degli anticorpi anti-SARS-CoV-2 utilizzando il metodo oggetto del presente studio. Per due pazienti sono disponibili due prelievi a distanza di tempo, per verificare l'eventuale siero-conversione.

Title**Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG
Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01**

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020

b. Materiali

Sono stati utilizzati i kit POCT *Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)* per l'esecuzione di 407 campioni.

6. Risultati

a. Valutazione della specificità

I seguenti campioni provenienti da popolazione italiana sono così suddivisi:

81 sintomatici con risultato PCR negativo, prelevati in febbraio e marzo 2020

3 sintomatici positivi per Influenza B (Flu B)

2 sintomatici positivi per Influenza A (Flu A)

30 asintomatici con risultato PCR negativo, prelevati in marzo 2020

156 donatori di sangue con donazioni antecedenti dicembre 2019

Sul totale di 272 risultati attesi negativi si ottengono i seguenti risultati espressi come dosaggio di IgG, di IgM e totale.

Campioni	Anti-SARS-CoV-2		
	IgG	IgM	Totali
Negativi	270	269	269
Dub/Positivi	2	3	3
Totali	272	272	272
Specificità	99,3%	98,9%	98,9%

In tutti i casi in cui era presente un valore di PCR, il valore era negativo per tutti i campioni. La specificità risulta quindi essere del 99,3% per le IgG, del 98,9% per le IgM e del 98,9% per il totale. Per i campioni discordanti, il dato di PCR, ove presente, risaliva anche a più di 19 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi, e quindi la discordanza potrebbe essere dovuta al tempo intercorso tra l'infezione e il prelievo per il test di PCR.

Title

**Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01**

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020

Di questi campioni negativi ad entrambi i test, alcuni sono positivi per altre sindromi influenzali (3 campioni per Flu B e 3 campioni per Flu A), a conferma dell'assenza di cross-reazioni con altre patologie e quindi dell'elevata specificità.

b. Valutazione della sensibilità

I seguenti campioni provenienti da popolazione italiana sono così suddivisi:

Sul totale di 135 risultati attesi positivi si ottengono i seguenti risultati espressi come dosaggio di IgG, di IgM e totale.

Su 135 campioni refertati come positivi in PCR, la sensibilità è funzione del tempo che intercorre fra la comparsa dei sintomi e la positivizzazione del test sierologico.

Si sono ottenuti i seguenti risultati espressi come dosaggio di IgG, di IgM e totale.

Campioni	Anti-SARS-CoV-2		
	IgG	IgM	Totale
Negativi	49	68	43
Dub/Positivi	86	67	92
Totale	135	135	135
Sensibilità	63,7%	49,6%	68,1%

Scorpendo i dati in base a fasce di tempo entro cui si positivizzano i risultati si ottengono i seguenti dati:

> 5 giorni	Anti-SARS-CoV-2		
	IgG	IgM	Totale
Negativi	31	49	25
Dub/Positivi	84	66	90
Totale	115	115	115
Sensibilità	73,0%	57,4%	78,3%

Title

**Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01**

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020

> 10 giorni	Anti-SARS-CoV-2		
	IgG	IgM	Totale
Negativi	11	23	5
Dub/Positivi	57	45	63
Totale	68	68	68
Sensibilità	83,8%	66,2%	92,6%

> 15 giorni	Anti-SARS-CoV-2		
	IgG	IgM	Totale
Negativi	5	14	2
Dub/Positivi	32	23	35
Totale	37	37	37
Sensibilità	86,5%	62,2%	94,6%

Più dettagliatamente, nella tabella seguente si riportano le % di positività anticorpale sulla base del tempo intercorrente fra comparsa dei sintomi e il prelievo, raggruppati per fasce di tempo:

Da (giorni)	A (giorni)	Pos IgG/IgM N°	Pos PCR N°	Sensibilità %
0	5	1	20	5,0%
6	10	29	48	60,4%
11	15	27	31	87,1%
16	20	39	41	95,1%

Dei due campioni con prelievo seriale ed entrambi positivi alla PCR, uno da negativo al terzo giorno si positivizza al quattordicesimo giorno e l'altro da negativo al settimo giorno si positivizza al diciassettesimo giorno.

A supporto di questi dati, in un precedente studio eseguito sulla popolazione cinese, con lo stesso prodotto per la determinazione di IgG/IgM si sono ottenuti i seguenti risultati (non è disponibile il dato di tempo dalla comparsa dei sintomi):

su 316 campioni negativi, 310 risultano negativi ottenendo una specificità del 98,1%.

Title**Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG
Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01**

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020

Su 59 campioni positivi, 56 risultano positivi ottenendo una sensibilità del 94,9%.

Nella tabella seguente è riportato il riepilogo dei dati di sensibilità e specificità dello studio cinese.

	PCR +	PCR -
IgM/IgG+	56	6
IgM/IgG-	3	310
Totale	59	316

7. Conclusioni

Il presente metodo per la determinazione di IgG/IgM anti-SARS-CoV-2 POCT *Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)*, eseguito su 407 campioni di popolazione italiana, presenta dati di specificità del 99,3% (270/272) e di sensibilità variabile sulla base della distanza temporale dalla comparsa dei sintomi. La sensibilità è 95,1 % sulla popolazione italiana a oltre 16 giorni dall'inizio dei sintomi.

In funzione del tempo di comparsa dei sintomi, la positivizzazione anticorpale aumenta all'aumentare del tempo.

In un altro studio sulla popolazione cinese, la specificità del metodo è del 98,1% e la sensibilità del 94,9%.

Il presente documento riporta i dati eseguiti su due popolazioni per un totale di 782 campioni testati.

8. Discussione

Considerando l'elevata specificità del test, nel caso di un dato positivo si potrebbe ipotizzare di procedere alla determinazione del tampone naso-faringeo per verificare l'eventuale residua presenza del virus e quindi la contagiosità del soggetto (soggetti asintomatici).

Il principale uso diagnostico immediato che si intravede è la valutazione nel tempo sui soggetti esposti al rischio di contagio da SARS-CoV-2, mentre per il futuro post-

Title

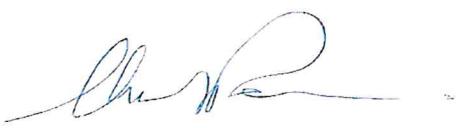
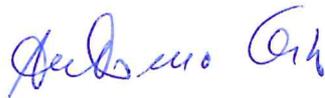
**Product: POCT Diagnostic Kit for SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody (Colloidal Gold)
VALIDATION REPORT- Clinical Evaluation
Ed 01**

Originated by:

Clinical Affairs Department

April 7, 2020

pandemia, il test potrà essere impiegato per la valutazione dei soggetti che hanno sviluppato immunità per SARS-CoV-2 e quindi per definire la copertura della popolazione.

Written by: C. Pasini (Clinical Affairs)		Date: 08/04/2020
Controlled by: E. Ciabattoni (Clinical Affairs)		Date: 08/04/2020
Approved by: A. Cervo (Technical Director)		Date: 08/04/2020