Exdia COVID-19 Ag

One Step Immunoassay for Exdia COVID-19 Ag

For *in vitro* Diagnostic Use

One–step qualitative time-resolved fluorescence immuno-chromatography assay for the detection of COVID-19 antigen in human nasopharyngeal secretion

Manufactured by Precision Biosensor Inc.

1. INTENDED USE

Exdia COVID-19 Ag is a time-resolved fluorescence immunoassay that is used with the Exdia TRF analyzer intended for the qualitative detection of nucleocapsid protein antigen from SARS-CoV-2 in nasopharyngeal swab from individuals who are suspected of COVID-19 by their healthcare provider. The Exdia COVID-19 Ag test identifies SARS-CoV-2 nucleocapsid protein antigen. Antigen is generally detectable in upper respiratory specimens during the acute phase of infection. Positive results indicate the presence of viral antigens but clinical correlation with patient history and other diagnostic information are necessary to determine the status of infection. Positive results do not rule out bacterial infection or co-infection with other viruses. The agent detected may not be the definite cause of disease. Negative results should be treated as presumptive, do not rule out SARS-CoV-2 infection and should not be used as the sole basis for treatment or patient management decisions, including infection control decisions. Negative results should be considered in the context of a patient's recent exposures, history and the presence of clinical signs and symptoms consistent with COVID-19, and confirmed with a molecular assay, if necessary, for patient management. The Exdia COVID-19 Ag is intended for use by trained clinical laboratory personnel specifically instructed and trained *in vitro* diagnostic procedures and individuals similarly trained in point of care settings.

2. SUMMARY AND EXPLANATION

SARS-CoV-2, which causes the disease COVID-19, was first identified in Wuhan, Hubei Province, China, December 2019. The WHO declared that COVID-19 was pandemic on March 11, 2020 and human infection has spread globally with hundreds of thousands of confirmed infections and deaths. The median incubation time is estimated to be approximately 5 days with symptoms estimated to be present 12 days after the infection. The symptoms of COVID-19 are similar to other viral respiratory diseases including fever, cough, shortness of breath.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The Exdia COVID-19 Ag employs the time-resolved fluorescence technology in a sandwich assay design that is used with Exdia TRF analyzer to detect nucleocapsid protein antigen from SARS-CoV-2. This allows for the detection of SARS-CoV and SARS-CoV-2. The test detects, but does not differentiate, between the two viruses. The patient sample is placed in the Reagent tube, where the virus particles in the sample are disrupted, exposing internal viral nucleoproteins. After disruption, the sample is dispensed into the sample well of the test cassette. The present SARS antigens form the immunocomplexes with both the biotinylated and fluorescence nanoparticle-conjugated anti-SARS antibodies during the migration on the cassette membrane. These immunocomplexes bind to streptavidin-immobilized test line resulting in the fluorescent signal. Exdia TRF analyzer will measure the fluorescent signal and display the test results (Positive, Negative, or Invalid).

4. REAGENT AND MATERIALS

Provided

- 20 Test cassettes sealed in pouch with desiccant
- 20 Sterilized nasopharyngeal swabs for sample collection
- 20 Reagent tubes with extraction buffer (0.3 mL/tube)
- 20 Filter caps
- 2 Control swabs
  - 1 COVID-19 Positive control swab
  - 1 COVID-19 Negative control swab
- 1 QR card for calibration (lot-specific)
- 1 Instructions for Use

Required but not provided

- Timer
- Exdia TRF analyzer
- Exdia IQC cassette

5. STORAGE AND STABILITY

The test cassette should be stored at 2℃ ~ 30℃ in the original sealed pouch for the duration of shelf life.

6. PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic and professional use only.
- Handle all specimens as potentially infectious. Proper handling and disposal methods should be established.
- To avoid cross contamination, use a fresh nasopharyngeal swab for each clinical sample tested.
- Do not use test kit if the pouch is damaged or improperly sealed.
- Do not use test kit beyond expiration date.
- Use only the swabs provided. Other swabs may not work properly.
- Extraction buffer contains slightly caustic chemicals. Avoid contact with eyes, sensitive mucous membranes. If the reagent comes in contact with skin or eyes, flush with a large volume of water.
- To avoid contact with contagious agents, wear disposable gloves while handling kit reagents or specimens and thoroughly wash hands afterwards.

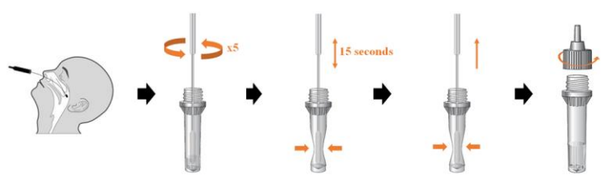
7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- To collect the nasopharyngeal swab sample, carefully insert the swab into the nostril that presents the most secretion under visual inspection. Keep the swab near the septum floor of the nose while gently pushing the swab into the posterior nasopharynx. Rotate the swab several times then remove it from the nasopharynx.
- The samples should be collected under the standard laboratory conditions.
- Samples should be tested immediately after collection.
- Refrigerated or frozen specimen should be brought to room temperature (20℃ ~ 30℃) and be homogeneous prior to testing.

※ Use of VTM (viral transport media) or UTM (universal transport media) may result in decreased test sensitivity due to dilution, and the direct testing of swab from the patient is highly recommended.

8. TEST PROCEDURE AND PROTOCOL

- Collect specimen according to the instructions in "**SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**".
- Test cassette and sample should be brought to room temperature (20℃ ~ 30℃) prior to testing.
- Remove the test cassette from the sealed pouch immediately before use. Label the cassette with patient or control identification.
- Open the Reagent tube and discard the tube cap.
- Insert the collected swab into the Reagent tube and rotate the swab against the inner wall of the tube for several times (more than five times). Plunge the swab up and down in the extraction buffer while squeezing the sides of the tube for 15 seconds.
- Remove the swab while squeezing the sides of the tube to extract the maximum amount of liquid from the swab. Properly discard the swab.
- Close the Reagent tube containing the sample firmly using the Filter cap.
- Invert the Reagent tube and hold the tube vertically (approximately 1 inch above sample well of the test cassette). While holding middle part of the tube, squeeze gently to dispense two drops of the sample into the sample well of the test cassette.
- The test cassette should be analyzed by the Exdia TRF analyzer following the instructions in the manual. The test cassette will be analyzed at the different preset times after applying the samples. If the test result is strong positive, the analyzer will immediately determine the result as positive. If the test result is positive at near cutoff level or negative, the result will be determined at 20 min after applying the sample. In skip mode, read the results at 20 minutes (19.5 min ~ 20.5 min).



< Regarding VTM or UTM >

If the previously collected samples in VTM or UTM must be used for Exdia COVD-19 Ag, minimal dilution of the sample is recommended. Mix previously collected samples in VTM/UTM to the extraction buffer at a one to one ratio (mixing volume is 300 μL each). After mixing for 1 minute, close the Filter cap, and follow the subsequent test procedure.

9. INTERPRETATION OF RESULTS

Exdia COVID-19 Ag results are interpreted as qualitative method by Exdia TRF analyzer. The qualitative results are displayed as Negative or Positive or Invalid based on the measured fluorescence intensity of test and control line. If the test result is Invalid, a new test should be performed with a new test cassette.

10. LIMITATIONS

- The test is for professional and *in vitro* diagnostic use only.
- Use of VTM or UTM may result in decreased test sensitivity due to dilution, and direct testing of swab is highly recommended.
- As with all antigen tests, performance may decrease with the number of days after symptom onset.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be made based on the results of a single test. The test result should be used in conjunction with other clinical information such as clinical signs and symptoms and other test results to diagnose SARS-CoV-2 infection. Confirmation of test results should only be made by a physician along with clinical symptoms and laboratory findings.
- This test detects both viable (live) and non-viable SARS-CoV and SARS-CoV-2 virus. Test performance depends on the amount of virus (antigen) in the sample and may not correlate with viral culture results performed on the same sample.
- A negative test result may occur if the level of antigen in a sample is below the detection limit of the test or if the sample was collected or transported improperly.
- Failure to follow the test procedure may adversely affect test performance and/or invalidate the test result.
- Test results must be evaluated in conjunction with other clinical data available to the physician.
- Positive test results do not rule out co-infection with other pathogens.
- Positive test results do not differentiate between SARS-CoV and SARS-CoV-2.
- Negative results, from patients with symptom onset beyond five days, should be treated as presumptive and confirmation with a molecular assay, if necessary, for patient management, may be performed.

11. QUALITY CONTROL

The presence of fluorescence band in the control area of the window acts as an internal control to ensure an adequate volume of sample has been added. In the absence of this control band, the associated test result is invalid and the sample must be retested. Good laboratory practice recommends quality control to ensure proper test performance. External positive and negative control swabs are supplied in the test. The COVID-19 positive control swab contains SARS-CoV-2 nucleoprotein antigen. The positive and negative control swabs must be regularly run. If the quality control procedures in your laboratory require more frequent use of controls to verify the test results, follow your laboratory-specific procedures. The regular testing of Exdia TRF analyzer using Exdia IQC cassette is recommended depending on the laboratory practice. If the test result is questionable for any reason, contact the customer support.

12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

12-1. Clinical performance study

The clinical performance of the Exdia COVID-19 Ag was established with a study using ninety-nine (99) previously characterized frozen nasopharyngeal swabs originally collected in transport media.
The Exdia COVID-19 Ag demonstrated the positive percent agreement (PPA) of 93.9% and negative percent agreement (NPA) of 98.0% when compared to an EUA RT-PCR method (Allplex™ 2019-nCoV Assay, Seegene).

		RT-PCR (Allplex™ 2019-nCoV Assay)		
		POS	NEG	Total
Exdia COVID-19 Ag	POS	46	1	47
	NEG	3	49	52
	Total	49	50	99

- Positive Percent Agreement (PPA, %) = (46/49) x 100 = 93.9% (Wilson 95% CI: 83.5-97.9)
- Negative Percent Agreement (NPA, %) = (49/50) x 100 = 98.0% (Wilson 95% CI: 89.5-99.6)

Based on the positive percent agreement study, the results were further evaluated according to RT-PCR threshold cycle (Ct) values.

PCR Ct (RdRp gene)	Sample number	Number of positive of Exdia COVID-19 Ag (PPA, %)	Wilson 95% CI
Ct ≤ 20	6	6 (100)	61.0-100
20 < Ct ≤ 30	34	33 (97.1)	85.1-99.5
Ct > 30	9	6 (66.7)	35.4-87.9

12-2. Supportive contrived performance study

Due to the limited availability of direct swabs, spiking of heat-inactivated virus into negative nasopharyngeal swab was performed to simulate the direct swab testing procedure and performance. Thirty nasopharyngeal swabs were spiked with approximately 50 µL of a virus dilution. Each ten (10) specimens were respectively spiked with 1x LoD (7.55 x 10^2 $TCID_{50}$/mL), 2x LoD (1.5 x 10^3 $TCID_{50}$/mL), and 3x LoD (2.27 x 10^3 $TCID_{50}$/mL) of virus. The spiked swabs were added to the Exdia COVID-19 extraction solution concurrently to thirty nasopharyngeal swabs from thirty different individuals. Thirty (30) negative nasopharyngeal swabs from thirty different individuals were also tested. The table below presents the data for this study:

Sample type	Sample number	Number of Positives/Number of Tested
Negative (unspiked)	30	0/30
1x LoD	10	10/10
2x LoD	10	10/10
3x LoD	10	10/10

- Positive Percent Agreement (PPA, %) = (30/30) x 100 = 100% (Wilson 95% CI: 88.6-100)
- Negative Percent Agreement (NPA, %) = (30/30) x 100 = 100% (Wilson 95% CI: 88.6-100)

12-3. Limit of Detection (LoD)

The Limit of Detection (LOD) of Exdia COVID-19 Ag was determined using serial dilution of heat-inactivated SARS-CoV-2 (Zeptometrix, Isolate: USA-WA1/2020). The material was supplied frozen at a concentration of 1.51 x 10^6 $TCID_{50}$/mL. The study to determine the Exdia COVID-19 Ag LOD was designed to reflect the assay procedure when using direct swab. Nasopharyngeal swab was spiked with approximately 50 µL of virus dilution in saline. The spiked nasopharyngeal swab was added to the Reagent tube with extraction buffer according to the test procedure.

The test consisted of two steps for LoD determination:

Tentative LoD screening

10-fold serial dilution of the heat-inactivated virus were made, and they were tested in 5 replicates. The concentration demonstrating 5 of 5 positives were chosen to be 7.55 x 10^2 $TCID_{50}$/mL. And 2-fold serial dilution was further performed and tested to estimate LoD.

LoD confirmation

The sample dilution with a final concentration of 7.55 x 10^2 $TCID_{50}$/mL was tested further. Twenty (20) of twenty (20) results were found to be positive. Based on this testing, the LoD was concluded to be 7.55 x 10^2 $TCID_{50}$/mL.

	SARS-CoV-2 (Heat-inactivated, USA-WA1/2020)								
Dilution	1/1	1/10	1/100	1/1,000	1/2,000	1/4,000	1/8,000	1/100,000	1/151,000
Concentration ($TCID_{50}$/mL)	1.51 x 10^6	1.51 x 10^5	1.51 x 10^4	1.51 x 10^3	7.55 x 10^2	3.78 x 10^2	1.89 x 10^2	1.51 x 10^1	1.00 x 10^1
Positive call rate	100% (5/5)	100% (5/5)	100% (5/5)	100% (5/5)	100% (20/20)	5% (1/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)
LoD	7.55 x 10^2 $TCID_{50}$/mL								

12-4. Cross-reactivity

Cross-reactivity and potential interference of the Exdia COVID-19 Ag was evaluated by testing various microorganism or virus samples. Each microorganism and virus were tested in triplicate in the absence or presence of the heat-inactivated SARS-CoV-2 virus 1.51 x 10^3 $TCID_{50}$/mL.

No.	Virus/Bacteria	Strain	Sample type	Concentration	Cross-reactivity results*	Interference results*
1	Adenovirus A	Type 18 (KUMC-4)	Isolate	1.2 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
2	Adenovirus B	Type 11 (KUMC-63)	Isolate	3.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
3	Adenovirus C	Type 5 (KUMC-61)	Isolate	4.0 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
4	Adenovirus D	Type 23 (KUMC-5)	Isolate	1.2 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
5	Adenovirus E	Type 4 (KUMC-60)	Isolate	2.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
6	Adenovirus F	Type 40 (KUMC-6)	Isolate	3.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
7	Alpha Coronavirus	229E (KUMC-9)	Isolate	8.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
8	Alpha Coronavirus	NL63	Isolate	1.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
9	Beta Coronavirus	OC43 (KUMC-8)	Isolate	9.8 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
10	MERS Coronavirus	EMC/2012 (BEI NR-50549)	Isolate	1.27 x 10^5 $TCID_{50}$/mL	NEG	POS
11	*Mycoplasma pneumoniae*	M129-B7	Isolate	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
12	*Streptococcus pyogenes Rosenbach*	Bruno (CIP 104226)	Isolate	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
13	Influenza A H3N2	KUMC-32	Isolate	4.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
14	Influenza A H1N1	KUMC-33	Isolate	1.2 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
15	Influenza B	KUMC-34	Isolate	4.9 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
16	Human Parainfluenza virus 1	KUMC-64	Isolate	2.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
17	Human Parainfluenza virus 2	KUMC-65	Isolate	2.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
18	Human Parainfluenza virus 3	KUMC-67	Isolate	4.0 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
19	Human Parainfluenza virus 4a	KUMC-69	Isolate	4.6 x 10^7 pfu/mL	NEG	POS
20	Human Enterovirus A	Type 71 (KUMC-56)	Isolate	0.7 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
21	Human Enterovirus B	Coxsackievirus B3 (KUMC-15)	Isolate	8.6 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
22	Human Enterovirus C	Poliovirus 1 (Sabin)	Isolate	6.0 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
23	Human Enterovirus D	Type 70 (KUMC-55)	Isolate	8.8 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
24	Human Metapneumovirus	KUMC-87	Isolate	1.4 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
25	Human Respiratory Syncytial Virus	KUMC-41	Isolate	8.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
26	Human Rhinovirus A	Type 1B (KUMC-81)	Isolate	1.2 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
27	Human Rhinovirus B	Type 42 (KUMC-80)	Isolate	4.2 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
28	*Candida albicans*	4454M	Isolate	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
29	*Chlamydophila pneumoniae*	CM-1	Isolate	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
30	*Legionella pneumophila*	Bloomington-2	Isolate	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
31	*Streptococcus pneumoniae*	262 (CIP 104340)	Isolate	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
32	*Bordetella pertussis*	MN2531	Isolate	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS

** Testing was performed in triplicate.*

12-5. Interference substance study

Potentially interfering substances were spiked into SARS-CoV-2 positive or negative samples. The substances at the following level do not interfere with the performance of the Exdia COVID-19 Ag. No false positive or negative result was found with following:

Solvent	Substance	Final conc.	Cross-reactivity results*	Interference results*
DMSO	Acetaminophen	10 mg/mL	NEG	POS
	Bilirubin	15 mg/mL	NEG	POS
PBS pH 7.2	Tobramycin	51.4 µM	NEG	POS
Methanol	Dexamethasone	1.53 µM	NEG	POS
DW	Oseltamivir	5 mg/mL	NEG	POS
	Human serum albumin	50 mg/mL	NEG	POS
	Glucose	1.2 mg/mL	NEG	POS
NaOH	Mucin	1 mg/mL	NEG	POS
Ethanol	Benzocaine	1 mg/mL	NEG	POS
PBS pH 7.2	Whole blood	1%	NEG	POS

** Testing was performed in triplicate.*

12.6 Hook effect

The highest concentration of heat-inactivated SARS-CoV-2 stock available (1.51 x 10^6 $TCID_{50}$/mL) was tested. There was no Hook effect observed.

13. REFERENCES

1. Baker, S., Frias, L., and Bendix, A. Coronavirus live updates: More than 92,000 people have been infected and at least 3,100 have died. The US has reported 6 deaths. Here's everything we know. Business Insider. March 03, 2020.
2. https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen
3. Lauer, S.A., et. al. The incubation period of Coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application, Ann Intern Med. 2020

For more information or any questions about this product, please contact customer support at: support@precision-bio.com

Precision Biosensor Inc.
306, Techno 2-ro, Yuseong-gu,
Daejeon, 34036
Republic of Korea
Tel: +82-42-867-6300
Fax: +82-42-867-6302
www.precision-bio.com

EC REP **mdi Europa GmbH**
Langenhagener Str. 71, 30855
Langenhagen, Germany
Tel: +49 511 39 08 95 30
e-mail: info@mdi-europa.com
www.mdi-europa.com

Document Number: PB-FGRUM-01-EN
Revision Number: 01
Date of effective: Oct 27, 2020

Exdia COVID-19 Ag

Exdia COVID-19 Ag Immunoassay
Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik

Qualitativer Fluoreszenz-Immunchromatographie-Assay zum Nachweis von COVID-19-Antigen in menschlichem nasopharyngeal Sekret

Hergestellt von Precision Biosensor Inc.

1. BESTIMMUNGSMÄßIGER GEBRAUCH

Der Exdia COVID-19 Ag ist ein zeitaufgelöster Fluoreszenz-Immunassay, der in Verwendung mit dem Analysator Exdia TRF für den qualitativen Nachweis des Nukleokapsidprotein-Antigens von SARS-CoV-2 in nasopharyngealen Abstrichen von Personen bestimmt ist, bei denen laut medizinischem Betreuer COVID-19-Verdacht besteht. Die Ergebnisse dienen der Identifizierung des Nukleokapsidprotein-Antigens von SARS-CoV-2. Während der akuten Phase der Infektion lässt sich das Antigen im Allgemeinen in Proben aus den oberen Atemwegen nachweisen. Positive Ergebnisse deuten auf das Vorhandensein von Virusantigenen hin, doch ist zur Bestimmung des Infektionsstatus eine klinische Korrelation mit der Anamnese sowie weiteren diagnostischen Informationen notwendig. Positive Ergebnisse schließen eine bakterielle Infektion oder eine Koinfektion mit anderen Viren nicht aus. Der nachgewiesene Erreger ist möglicherweise nicht die konkrete Krankheitsursache. Negative Testergebnisse sollten als Vermutungen behandelt werden, schließen eine SARS-CoV-2-Infektion nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für Entscheidungen bezüglich Behandlung oder Patientenmanagement (einschließlich Entscheidungen zur Infektionskontrolle) herangezogen werden. Für das Patientenmanagement sollten negative Ergebnisse im Zusammenhang mit kürzlich erfolgten Expositionen eines Patienten, seiner Anamnese sowie dem Vorliegen klinischer Anzeichen und Symptome, die mit COVID-19 vereinbar sind, betrachtet und gegebenenfalls mit einem Molekulartest bestätigt werden. Der Exdia COVID-19 Ag ist für die Verwendung durch ausgebildetes Kliniklaborpersonal bestimmt, das speziell in der In-vitro-Diagnostik angewiesen und geschult wurde, sowie für Personen, die in ähnlicher Weise im Point-of-Care-Umfeld geschult wurden.

2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

SARS-CoV-2, der Verursacher der Krankheit COVID-19, wurde erstmals im Dezember 2019 in Wuhan (Provinz Hubei) in China identifiziert. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) erklärte COVID-19 am 11. März 2020 zur Pandemie. Das Virus hat sich weltweit ausgebreitet und zu Hunderttausenden von bestätigten Infektionen und Todesfällen geführt. Die mediane Inkubationszeit wird auf etwa fünf Tage geschätzt, wobei die Symptome schätzungsweise zwölf Tage nach der Infektion vorhanden sind. Zu den Symptomen von COVID-19, die denen anderer viraler Atemwegserkrankungen ähneln, zählen Fieber, Husten und Kurzatmigkeit.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

Beim Exdia COVID-19 Ag kommt die Technologie der zeitaufgelösten Fluoreszenz in einem Sandwich-Testdesign zum Einsatz, das in Verbindung mit dem Analysator Exdia TRF dem Nachweis des Nukleokapsidprotein-Antigens von SARS-CoV-2 dient. Dies ermöglicht den Nachweis von SARS-CoV und SARS-CoV-2. Die Patientenprobe wird in das Reagenzröhrchen gegeben. Dort werden die Viruspartikel in der Probe aufgebrochen, wodurch die internen viralen Nukleoproteine freigesetzt werden. Nach diesem Aufbrechen wird die Probe in die Probenvertiefung der Testkassette gegeben. Die vorhandenen SARS-Antigene bilden während der Migration auf der Kassettenmembran sowohl mit den biotinylierten als auch mit den Fluoreszenz-Nanopartikel-konjugierten Anti-SARS-Antikörpern Immunkomplexe. Diese Immunkomplexe binden an die Testlinie mit immobilisiertem Streptavidin und ergeben ein Fluoreszenzsignal. Der Analysator Exdia TRF misst das Fluoreszenzsignal durch Verarbeitung der Ergebnisse mit dem methodenspezifischen Algorithmus. Sodann zeigt das Gerät die Testergebnisse (Positiv, Negativ oder Ungültig) auf dem Bildschirm an.

4. MATERIALIEN

Mitgeliefert

- 20 Testkassetten im versiegelten Beutel, mit Trockenmittel
- 20 sterilisierte Wattestäbchen für nasopharyngeale Abstriche zur Probenentnahme
- 20 Reagenzröhrchen mit Extraktionspuffer (0,3 ml/Röhrchen)
- 20 Filterdeckel
- 2 Kontrollproben
  - 1 COVID-19-Positivkontrolle
  - 1 COVID-19-Negativkontrolle
- 1 Gebrauchsanweisung
- 1 QR-Karte (chargenspezifisch)

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- Zeitmesser
- Exdia TRF Plus Analyzer
- Exdia IQC Kassette

5. LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Testkassette sollte für die Dauer der Haltbarkeit bei 2 bis 30 °C im versiegelten Originalbeutel gelagert werden.

6. VORSICHTSMAßNAHMEN

- Nur zum Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik sowie für den professionellen Einsatz.
- Alle Proben als potenziell infektiös behandeln. Für die Handhabung und Entsorgung sind geeignete Verfahren festzulegen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen für jede getestete klinische Probe eine frische Transferkassette verwenden.
- Das Testkit nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt oder nicht korrekt versiegelt ist.
- Das Testkit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Nur die mitgelieferten Wattestäbchen verwenden. Andere Wattestäbchen sind möglicherweise ungeeignet.
- Der Extraktionspuffer enthält leicht ätzende Chemikalien. Kontakt mit Augen und empfindlichen Schleimhäuten vermeiden. Wenn das Reagens mit Haut oder Augen in Kontakt kommt, mit reichlich Wasser spülen.
- Zur Vermeidung eines Kontakts mit infektiösem Material beim Umgang mit Kit-Reagenzien oder Proben Einweghandschuhe tragen und danach gründlich die Hände waschen.

7. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

- Zur Entnahme des nasopharyngealen Abstrichs das Wattestäbchen vorsichtig in dasjenige Nasenloch einführen, das bei Sichtprüfung das meiste Sekret aufweist. Wattestäbchen in der Nähe des Septumbodens der Nase halten und gleichzeitig vorsichtig in den hinteren Nasenrachenraum schieben. Wattestäbchen mehrmals drehen und dann aus dem Nasenrachenraum entfernen.
- Die Proben sind unter standardisierten Laborbedingungen zu entnehmen.
- Die Proben sind so bald wie möglich nach der Entnahme zu testen.
- Gekühlte oder gefrorene Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (20 bis 30 °C) bringen. Die Proben müssen homogen sein.

※ Die Verwendung von VTM (Virustransportmedien) oder UTM (universellen Transportmedien) kann aufgrund der Verdünnung zu einer verminderten Testempfindlichkeit führen. Eine direkte Testung von Abstrichen des Patienten wird dringend empfohlen.

8. TESTVERFAHREN UND PROTOKOLL

- Probe gemäß den Anleitungen unter **„ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN“** entnehmen.
- Testkassette und Probe vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (20 bis 30 °C) bringen.
- Testkassette unmittelbar vor dem Gebrauch aus dem versiegelten Beutel entnehmen. Kassette mit einer Patienten- oder Kontrollkennung beschriften.
- Reagenzröhrchen öffnen und den Röhrchendeckel entsorgen.
- Das Wattestäbchen mit dem Abstrich in das Reagenzröhrchen einführen und mindestens fünfmal gegen die Innenwand des Röhrchens drehen. Wattestäbchen mehrmals in den Extraktionspuffer eintauchen (15 Sekunden lang) und dabei die Seiten des Röhrchens zusammendrücken.
- Wattestäbchen entnehmen und dabei die Seiten des Röhrchens zusammendrücken, um die maximale Flüssigkeitsmenge aus dem Wattestäbchen zu gewinnen. Wattestäbchen ordnungsgemäß entsorgen.
- Filterkappe zum Verschließen fest auf das Reagenzröhrchen mit der Probe aufdrücken.
- Reagenzröhrchen umdrehen und senkrecht halten (etwa 2 bis 3 cm über der Probenvertiefung der Testkassette). Röhrchen in der Mitte halten und leicht zusammendrücken, sodass zwei Tropfen der Probe in die Probenvertiefung der Testkassette abgegeben werden.
- Die Testkassette ist mit dem Analysator Exdia TRF gemäß der Betriebsanleitung zu analysieren. Sie wird nach dem Aufbringen der Proben zu den verschiedenen voreingestellten Zeitpunkten abgelesen. Wenn das Testergebnis stark positiv ist, kann der Analysator das Ergebnis frühzeitig als positiv bestimmen. Wenn das Testergebnis in der Nähe des Cutoff-Wertes positiv oder aber negativ ist, wird das Testergebnis 20 Minuten nach dem Aufbringen der Probe bestimmt. Im Skip-Modus werden die Ergebnisse nach 20 Minuten (19,5 bis 20,5 Minuten) abgelesen.

< Hinweis zu VTM oder UTM >
Wenn Proben, die zuvor in VTM oder UTM gesammelt wurden, für den Exdia COVD-19 Ag verwendet werden müssen, wird eine minimale Verdünnung der Probe empfohlen. Die zuvor gesammelten Proben in VTM/UTM in einem Verhältnis von eins zu eins mit dem Extraktionspuffer mischen (das Mischvolumen beträgt jeweils 300 µl). Eine Minute lang mischen. Den Filterdeckel verschließen und die anschließenden Schritte für das Testverfahren befolgen.

9. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisse des Exdia COVID-19 Ag werden als qualitatives Verfahren mit Hilfe des Analysators Exdia TRF interpretiert. Die qualitativen Ergebnisse werden basierend auf der gemessenen Fluoreszenzintensität von Test- und Kontrolllinie als Negativ oder Positiv oder Ungültig angezeigt. Wenn das Testergebnis Ungültig ist, ist ein neuer Test mit einer neuen Testkassette durchzuführen.

10. EINSCHRÄNKUNGEN

- Der Test ist nur für den professionellen Gebrauch und die Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Verwendung von VTM oder UTM kann aufgrund der Verdünnung zu einer verminderten Testempfindlichkeit führen. Eine direkte Testung der Abstriche wird dringend empfohlen.
- Wie bei allen Antigentests kann die Leistungsfähigkeit mit zunehmender Anzahl der Tage seit Symptombeginn abnehmen.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollte eine endgültige klinische Diagnose nicht auf der Grundlage der Ergebnisse eines einzigen Tests gestellt werden. Das Testergebnis sollte in Verbindung mit anderen klinischen Informationen wie klinischen Anzeichen und Symptomen sowie sonstigen Testergebnissen zur Diagnose einer SARS-CoV-2-Infektion verwendet werden. Eine Bestätigung der Testergebnisse sollte, zusammen mit klinischen Symptomen und Laborbefunden betrachtet, nur durch einen Arzt erfolgen.
- Dieser Test weist sowohl lebensfähige als auch nicht lebensfähige SARS-CoV-2-Viren nach. Das Testergebnis hängt von der Menge des Virus (des Antigens) in der Probe ab und korreliert möglicherweise nicht mit den Ergebnissen einer Viruskultur, die mit derselben Probe durchgeführt wurde.
- Ein negatives Testergebnis kann auftreten, wenn die Antigenkonzentration in einer Probe unter der Nachweisgrenze des Tests liegt oder wenn die Probe unsachgemäß entnommen oder transportiert wurde.
- Die Nichtbeachtung des Testverfahrens kann die Leistungsfähigkeit des Tests negativ beeinflussen und/oder das Testergebnis ungültig machen.
- Die Testergebnisse müssen in Verbindung mit anderen dem Arzt zur Verfügung stehenden klinischen Daten ausgewertet werden.
- Positive Testergebnisse schließen eine Koinfektion mit anderen Erregern nicht aus.
- Positive Testergebnisse unterscheiden nicht zwischen SARS-CoV und SARS-CoV-2.
- Negative Ergebnisse von Patienten mit Symptombeginn nach mehr als fünf Tagen sollten als Vermutung behandelt werden; es kann eine Bestätigung durch einen Molekulartest erfolgen, falls dies für das Patientenmanagement erforderlich ist.

11. QUALITY CONTROL

Das Vorhandensein einer Fluoreszenzbande im Kontrollbereich des Fensters dient als interne Kontrolle, die sicherstellt, dass ein ausreichendes Probenvolumen hinzugefügt wurde. Fehlt diese Kontrollbande, ist das zugehörige Testergebnis ungültig und der Test muss erneut durchgeführt werden. Die Gute Laborpraxis empfiehlt zur Gewährleistung einer ordnungsgemäßen Testdurchführung eine Qualitätskontrolle. Wattestäbchen für externe Positiv- und Negativkontrollen sind Bestandteil des Kits. Die COVID-19-Positivkontrolle enthält SARS-CoV-2-Nukleoprotein-Antigen. Die Positiv- und Negativkontrollen müssen regelmäßig mitgetestet werden. Wenn die Qualitätskontrollverfahren in Ihrem Labor häufigere Kontrollen zur Überprüfung der Testergebnisse erfordern, befolgen Sie diese laborspezifischen Vorschriften. Je nach Laborpraxis wird die regelmäßige Prüfung des Analysators Exdia TRF mit der Exdia IQC Kartusche empfohlen. Sollte das Testergebnis aus irgendeinem Grund fragwürdig sein, wenden Sie sich bitte an den Kundensupport.

12. LEISTUNGSMERKMALE

12-1. Klinische Leistungsstudie

Die klinische Leistungsfähigkeit von Exdia COVID-19 Ag wurde in einer Studie mit neunundneunzig (99) zuvor charakterisierten gefrorenen nasopharyngealen Abstrichen ermittelt, die ursprünglich in Transportmedien gesammelt worden waren.

Der Exdia COVID-19 Ag zeigte beim Vergleich mit einer EUA-RT-PCR-Methode (Allplex™ 2019-nCoV Assay, Seegene) eine positive prozentuale Übereinstimmung (PPA) von 93,9 % und eine negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) von 98,0 %.

		RT-PCR (Allplex™ 2019-nCoV Assay)		
		POS	NEG	Gesamt
Exdia COVID-19 Ag	POS	46	1	47
	NEG	3	49	52
	Gesamt	49	50	99

- Positive prozentuale Übereinstimmung (PPA, %) = (46/49) x 100 = 93,9 % (95 % KI nach Wilson: 83,5–97,9)
- Negative prozentuale Übereinstimmung (NPA, %) = (49/50) x 100 = 98,0 % (95 % KI nach Wilson: 89,5–99,6)

Auf der Grundlage der Studie zur positiven prozentualen Übereinstimmung wurden die Ergebnisse nach den Werten des RT-PCR-Schwellenwertzyklus (Ct) weiter ausgewertet.

PCR-Ct (RdRp Gen)	Probenanzahl	Anzahl Positive im Exdia COVID-19 Ag (PPA, %)	Wilson 95% CI
Ct ≤ 20	6	6 (100)	61.0-100
20 < Ct ≤ 30	34	33 (97.1)	85.1-99.5
Ct > 30	9	6 (66.7)	35.4-87.9

12-2. Unterstützende konstruierte Studie zur Leistung

Aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit von direkten Abstrichen wurden negative nasopharyngeale Abstriche mit hitzeinaktivierten Viren versetzt und so das Testverfahren sowie die Funktion des direkten Abstrichs simuliert. Dreißig nasopharyngeale Abstriche wurden mit etwa 50 µl einer Virusverdünnung versetzt. Jeweils zehn (10) Proben wurden mit 1x LoD (7,55 x 10^2 $TCID_{50}$/ml), 2x LoD (1,5 x 10^3 $TCID_{50}$ /ml) bzw. 3x LoD (2,27 x 10^3 $TCID_{50}$/ml) des Virus versetzt. Die mit dem Virus versetzten Abstriche wurden der Exdia COVID-19-Extraktionslösung hinzugefügt. Gleichzeitig wurden dreißig (30) negative nasopharyngeale Abstriche von dreißig verschiedenen Personen ebenfalls getestet. Die nachstehende Tabelle enthält die Daten zu dieser Studie:

Probentyp	Probenanzahl	Anzahl Positive/Anzahl Getestete
Negativ (nicht mit Virus versetzt)	30	0/30
1x LoD	10	10/10
2x LoD	10	10/10
3x LoD	10	10/10

- Positive prozentuale Übereinstimmung (PPA, %) = (30/30) x 100 = 100 % (95 % KI nach Wilson: 88,6–100)
- Negative prozentuale Übereinstimmung (NPA, %) = (30/30) x 100 = 100 % (95 % KI nach Wilson: 88,6–100)

12-3. Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) des Exdia COVID-19 Ag wurde durch eine Verdünnungsreihe von hitzeinaktiviertem SARS-CoV-2 (Zeptometrix, Isolat: USA-WA1/2020) bestimmt. Das Material wurde in einer Konzentration von 1,51 x 10^6 $TCID_{50}$/ml gefroren geliefert.
Die Studie zur Bestimmung der LoD des Exdia COVID-19 Ag wurde so konzipiert, dass sie die Analyse bei Verwendung von direkten Abstrichen widerspiegelt. Ein nasopharyngealer Abstrich wurde mit etwa 50 µl Virusverdünnung in Kochsalzlösung versetzt. Der so versetzte Abstrich wurde entsprechend dem Testverfahren in das Reagenzröhrchen mit Extraktionspuffer gegeben. Der Test bestand aus zwei Schritten zur LoD-Bestimmung:

Tentatives LoD-Screening

Es wurde eine 10-fache Verdünnungsreihe des hitzeinaktivierten Virus hergestellt; getestet wurde mit 5 Wiederholungen. Die Konzentration mit 5 von 5 Positiven wurde als 7,55 x 10^2 $TCID_{50}$/ml gewählt. Darüber hinaus wurde zur Schätzung des LoD-Werts eine zweite Verdünnungsreihe durchgeführt und getestet.

Bestätigung des LoD-Werts

Die Konzentration von 7,55 x 10^2 $TCID_{50}$/ml Verdünnung wurde getestet. Zwanzig (20) von zwanzig (20) Ergebnisse stellten sich als positiv heraus. Auf der Grundlage dieser Tests wurde der LoD-Wert auf 7,55 x 10^2 $TCID_{50}$/ml festgesetzt.

	SARS-CoV-2 (hitzeinaktiviert, USA-WA1/2020)								
Verdünnung	1/1	1/10	1/100	1/1,000	1/2,000	1/4,000	1/8,000	1/100,000	1/151,000
Konzentration in getesteter Verdünnung (TCID50/ml)	1.51 x 10^6	1.51 x 10^5	1.51 x 10^4	1.51 x 10^3	7.55 x 10^2	3.78 x 10^2	1.89 x 10^2	1.51 x 10^1	1.00 x 10^1
Ergebnisrate	100% (5/5)	100% (5/5)	100% (5/5)	100% (5/5)	100% (20/20)	5% (1/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)
Nachweisgrenze (LoD)	7.55 x 10^2 $TCID_{50}$/mL								

12-4. Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität und potenzielle Interferenz des Exdia COVID-19 Ag wurde durch Testen verschiedener Mikroorganismen- oder Virusproben bewertet. Jeder Mikroorganismus und jedes Virus wurde dreifach in Abwesenheit oder Anwesenheit von 1,51 x 10^3 $TCID_{50}$/ml getestet.

Nr.	Virus/Bakterium	Stamm	Quelle/ Probentyp	Konzentration	Ergebnis Kreuzreaktivität*	Ergebnis Interferenz*
1	Adenovirus A	Type 18 (KUMC-4)	Isolat	1.2 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
2	Adenovirus B	Type 11 (KUMC-63)	Isolat	3.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
3	Adenovirus C	Type 5 (KUMC-61)	Isolat	4.0 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
4	Adenovirus D	Type 23 (KUMC-5)	Isolat	1.2 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
5	Adenovirus E	Type 4 (KUMC-60)	Isolat	2.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
6	Adenovirus F	Type 40 (KUMC-6)	Isolat	3.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
7	Alpha Coronavirus	229E (KUMC-9)	Isolat	8.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
8	Alpha Coronavirus	NL63	Isolat	1.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
9	Beta Coronavirus	OC43 (KUMC-8)	Isolat	9.8 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
10	MERS Coronavirus	EMC/2012 (BEI NR-50549)	Isolat	1.27 x 10^5 $TCID_{50}$/mL	NEG	POS
11	*Mycoplasma pneumoniae*	M129-B7	Isolat	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
12	*Streptococcus pyogenes Rosenbach*	Bruno (CIP 104226)	Isolat	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
13	Influenza A H3N2	KUMC-32	Isolat	4.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
14	Influenza A H1N1	KUMC-33	Isolat	1.2 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
15	Influenza B	KUMC-34	Isolat	4.9 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
16	Human Parainfluenza virus 1	KUMC-64	Isolat	2.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
17	Human Parainfluenza virus 2	KUMC-65	Isolat	2.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
18	Human Parainfluenza virus 3	KUMC-67	Isolat	4.0 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
19	Human Parainfluenza virus 4a	KUMC-69	Isolat	4.6 x 10^7 pfu/mL	NEG	POS
20	Human Enterovirus A	Type 71 (KUMC-56)	Isolat	0.7 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
21	Human Enterovirus B	Coxsackievirus B3 (KUMC-15)	Isolat	8.6 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
22	Human Enterovirus C	Poliovirus 1 (Sabin)	Isolat	6.0 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
23	Human Enterovirus D	Type 70 (KUMC-55)	Isolat	8.8 x 10^6 pfu/mL	NEG	POS
24	Human Metapneumovirus	KUMC-87	Isolat	1.4 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
25	Human Respiratory Syncytial Virus	KUMC-41	Isolat	8.0 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
26	Human Rhinovirus A	Type 1B (KUMC-81)	Isolat	1.2 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
27	Human Rhinovirus B	Type 42 (KUMC-80)	Isolat	4.2 x 10^5 pfu/mL	NEG	POS
28	*Candida albicans*	4454M	Isolat	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
29	*Chlamydophila pneumoniae*	CM-1	Isolat	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
30	*Legionella pneumophila*	Bloomington-2	Isolat	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
31	*Streptococcus pneumoniae*	262 (CIP 104340)	Isolat	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS
32	*Bordetella pertussis*	MN2531	Isolat	5.0 x 10^4 cells/mL	NEG	POS

** Die Tests wurden in dreifacher Ausfertigung durchgeführt.*

12-5. Studie zu Interferenzsubstanzen

SARS-CoV-2-positive bzw. negative Proben wurden mit potenziellen Interferenzsubstanzen versetzt. Die Substanzen im folgenden Konzentrationsgrad wirken sich nicht interferierend auf die Leistung des Exdia COVID-19 Ag aus. In folgenden Fällen wurde kein falsch positives oder negatives Ergebnis gefunden:

Lösungsmittel	Substanz	Endkonz.	Ergebnisse Kreuzreaktivität*	Ergebnisse Interferenz*
DMSO	Acetaminophen	10 mg/mL	NEG	POS
	Bilirubin	15 mg/mL	NEG	POS
PBS pH 7.2	Tobramycin	51,4 µm	NEG	POS
Methanol	Dexamethason	1,53 µm	NEG	POS
DW	Oseltamivir	5 mg/mL	NEG	POS
	Humanserumalbumin	50 mg/mL	NEG	POS
	Glucose	1,2 mg/mL	NEG	POS
NaOH	Mucin	1 mg/mL	NEG	POS
Ethanol	Benzocain	1 mg/mL	NEG	POS
PBS pH 7.2	Vollblut	1 %	NEG	POS

* Die Tests wurden in dreifacher Ausfertigung durchgeführt.

12.6 Hook-Effect

Es wurde die höchste verfügbare Konzentration von hitzeinaktiviertem SARS-CoV-2-Bestand (1,51 x 10^6 $TCID_{50}$/ml) getestet. Ein Hook-Effekt wurde nicht beobachtet.

13. Literatur

1. Baker, S., Frias, L., and Bendix, A. Coronavirus live updates: More than 92,000 people have been infected and at least 3,100 have died. The US has reported 6 deaths. Here's everything we know. Business Insider. March 03, 2020.
2. https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen
3. Lauer, S.A., et. al. The incubation period of Coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application, Ann Intern Med. 2020

Für weitere Informationen oder Fragen zu diesem Produkt wenden Sie sich bitte an den Kundensupport unter support@precision-bio.com

Precision Biosensor Inc.
306, Techno 2-ro, Yuseong-gu,
Daejeon, 34036
Republic of Korea
Tel: +82-42-867-6300
Fax: +82-42-867-6302
www.precision-bio.com

mdi Europa GmbH
Langenhagener Str. 71, 30855
Langenhagen, Germany
Tel: +49 511 39 08 95 30
e-mail: info@mdi-europa.com
www.mdi-europa.com

Dokument Nummer: PB-FGRUM-01-DE
Revisionsnummer: 00
Gultigkeitsdatum: 27. Oktober 2020