

LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG (REF 311450)

1. FINALITÀ DEL TEST

Il test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG impiega la tecnologia della chemiluminescenza (CLIA) in un saggio immunologico per la determinazione quantitativa di anticorpi specifici di classe IgG anti-S1 e anti-S2 diretti contro il SARS-CoV-2 in campioni di siero o plasma umano. Il test serve come ausilio nella diagnosi di infezione da CoVID-19 e consente di analizzare lo stato immunitario di pazienti infettati fornendo un'indicazione della presenza di anticorpi IgG neutralizzanti diretti contro il SARS-CoV-2. I risultati del test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG non devono costituire l'unica base per diagnosticare o escludere l'infezione da SARS-CoV-2 o per avere informazioni sullo stato dell'infezione.

Il test deve essere eseguito esclusivamente sullo strumento LIAISON® XL Analyzer.

2. SIGNIFICATO CLINICO

La malattia provocata dal coronavirus (COVID-19) è una patologia infettiva causata da un coronavirus scoperto recentemente. Alla fine di dicembre 2019, le autorità sanitarie cinesi hanno riportato diversi casi di sindrome respiratoria acuta a Wuhan, una città della provincia di Hubei, in Cina. Il focolaio iniziale di Wuhan si è diffuso rapidamente, interessando altre aree della Cina. In seguito, sono stati individuati casi in molti altri paesi. L'11 marzo 2020, i casi di COVID-19 riportati a livello globale da più di 100 paesi erano 118.598. A partire dalla fine di febbraio, la maggioranza dei casi riportati non sono in Cina ma in altri paesi, principalmente nei paesi UE/SEE e negli USA. L'11 marzo 2020, il Direttore generale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità ha dichiarato il COVID-19 una pandemia globale.(1,2)

Il virus responsabile del COVID-19 è denominato Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Si tratta di un nuovo ceppo di coronavirus che non è mai stato precedentemente identificato nell'uomo. Si diffonde principalmente per contatto con una persona infetta, attraverso le goccioline (droplet) del respiro che si generano quando una persona tossisce o starnutisce o attraverso le goccioline della saliva o del muco del naso.

L'infezione da SARS-CoV-2 può causare sintomi lievi tra cui naso che cola, mal di gola, tosse e febbre. Tuttavia, per alcune persone i sintomi possono essere più gravi e causare polmonite o difficoltà respiratorie. Gli anziani e le persone con patologie pre-esistenti (come diabete e insufficienza cardiaca) sembrano essere più soggetti ad ammalarsi gravemente a causa del virus. Sulla base di precedenti studi sulla SARS, si può prevedere un periodo di incubazione da tre a quattordici giorni dopo l'insorgenza dei sintomi.(3)

L'OMS nella guida *ad interim* per i test di laboratorio (4) è favorevole allo sviluppo di dosaggi sierologici da utilizzare come ausilio nell'indagine di un'epidemia in corso e come valutazione retrospettiva. Il rilevamento di anticorpi IgG diretti contro il SARS-CoV-2 può essere utilizzato per valutare lo stato immunitario di pazienti affetti da CoVID-19. Tuttavia, la presenza di IgG non indica che il paziente non sia infettivo o che non possa essere re-infettato dal virus in futuro, né è noto per quanto tempo le IgG rimarranno rilevabili. (5)

Al momento, sono disponibili test molecolari basati sulla tecnica della reazione a catena della polimerasi inversa (RT-PCR) per la ricerca dell'RNA virale per un'identificazione precoce del SARS-CoV-2.

La glicoproteina spike (S) del coronavirus è una proteina di fusione virale di classe I presente sull'envelope esterno del virione, che svolge un ruolo fondamentale nell'infezione virale riconoscendo i recettori delle cellule ospiti e mediando la fusione delle membrane virali e cellulari. L'ingresso del coronavirus nelle cellule ospiti è mediato dalla glicoproteina spike (S) transmembrana che forma omotrimeri che sporgono dalla superficie virale. La proteina S comprende due subunità funzionali responsabili del legame con il recettore della cellula ospite (subunità S1) e della fusione della membrana che riveste il virus con quella della cellula ospite (subunità S2). (6)

Le proteine spike e nucleocapsidica sono le principali componenti immunogene dei CoV e sono prodotte in grandi quantità durante l'infezione. La proteina S è il principio determinante dell'immunità protettiva e della trasmissione interspecie nel CoV, gli anticorpi monoclonali diretti contro la proteina S potrebbero neutralizzare l'infettività virale. Su questa base, Walls et al. hanno ipotizzato che l'esposizione al SARS-CoV o al SARS-CoV2 possa generare reazioni crociate con anticorpi potenzialmente interferenti e neutralizzanti e hanno dimostrato la capacità del plasma di quattro topi immunizzati con una proteina S del SARS-CoV di legare la proteina S del SARS-CoV-2 e di bloccare l'ingresso del SARS-CoV-2 nelle cellule bersaglio. (6) Gli anticorpi neutralizzanti sono pertanto una componente importante della risposta immunitaria nell'uomo e possono conferire un'immunità protettiva. Tuttavia, data la recente scoperta del SARS-CoV-2 e la mancanza di dati sui pazienti, non è ancora noto se tale risposta immunitaria durerà a lungo (7).

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo per la determinazione quantitativa di anticorpi IgG specifici anti-S1 e anti-S2 diretti contro il SARS-CoV-2 è un test indiretto basato sul principio della chemiluminescenza (CLIA). Gli antigeni specifici ricombinanti S1 e S2 sono utilizzati per rivestire le particelle magnetiche (fase solida) e anticorpi monoclonali di topo anti-IgG umane sono legati a un derivato dell'isoluminolo (coniugato anticorpo-isoluminolo). Durante la prima incubazione, gli anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2 presenti nei calibratori, nei campioni o nei controlli si legano alla fase solida attraverso gli antigeni ricombinanti S1 e S2. Durante la seconda incubazione, l'anticorpo coniugato reagisce con le IgG anti-SARS-CoV-2 già legate alla fase solida. Dopo ciascuna incubazione, il materiale non legato viene rimosso mediante un ciclo di lavaggio. In seguito vengono aggiunti i reagenti starter che inducono una reazione di chemiluminescenza con andamento di tipo "flash". Il segnale luminoso, e quindi la quantità di coniugato anticorpo-isoluminolo, è misurato da un fotomoltiplicatore in unità relative di luce (RLU, relative light unit) ed è indicativo della concentrazione di IgG anti-SARS-CoV-2 presente nei calibratori, nei campioni o nei controlli.

4. MATERIALI FORNITI

Integrale di reattivi

Particelle magnetiche (2,5 mL)	[SORB]	Particelle magnetiche rivestite con antigeni ricombinanti biotinilati S1 e S2 (ottenuti in cellule di mammifero), BSA (sieroalbumina bovina) biotinilata, streptavidina, BSA, tampone fosfato, <0,1% sodio azide.
Calibratore 1 (1,2 mL)	[CAL1]	Siero/plasma umano contenente bassi livelli di IgG anti-SARS-CoV-2, stabilizzati in tampone TRIS, 0,2% ProClin® 300, conservanti e un colorante giallo inerte. Le concentrazioni dei calibratori (AU/mL) sono tarate contro una preparazione anticorpale realizzata internamente.
Calibratore 2 (1,2 mL)	[CAL2]	Siero/plasma umano contenente alti livelli di IgG anti-SARS-CoV-2, stabilizzati in tampone TRIS, 0,2% ProClin® 300, conservanti. Le concentrazioni dei calibratori (AU/mL) sono tarate contro una preparazione anticorpale realizzata internamente.
Diluente dei campioni (21 mL)	[DILSPE]	BSA, tampone fosfato, detergente, EDTA, 0,2% ProClin® 300, siero ovino, conservanti.
Coniugato (23 mL)	[CONJ]	IgG monoclonali di topo anti-IgG umane coniugati con un derivato dell'isoluminolo, BSA, tampone fosfato, 0,2% ProClin® 300, conservanti e un colorante blu inerte.
Numero di dosaggi		100

Tutti i reattivi sono forniti pronti per l'uso. L'ordine dei reattivi riflette quello con cui sono assemblati i contenitori nell'integrale di reattivi.

Materiali richiesti ma non forniti

LIAISON® XL Cuvettes (**[REF]** X0016).
LIAISON® XL Disposable Tips (**[REF]** X0015) oppure
LIAISON® Disposable Tips (**[REF]** X0055).
LIAISON® XL Starter Kit (**[REF]** 319200) oppure
LIAISON® EASY Starter Kit (**[REF]** 319300).
LIAISON® Wash/System Liquid (**[REF]** 319100).
LIAISON® XL Waste Bags (**[REF]** X0025).

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Tutte le unità di siero e plasma umano utilizzate per ottenere i componenti di questo kit sono state analizzate e trovate non reattive per la presenza di HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e anti-HIV-2. Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può dare assoluta certezza che siano assenti agenti patogeni, tutto il materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infettivo e manipolato come tale.

Controllare visivamente i flaconi dell'integrale per escludere perdite dalla pellicola sigillante o in altri punti. Se si riscontra una perdita nei flaconi, avvisare immediatamente il Servizio Clienti locale.

6. REGOLE DI SICUREZZA

Durante il dosaggio non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici.

Non pipettare con la bocca.

Evitare il contatto diretto con il materiale potenzialmente infetto, indossando indumenti da laboratorio, occhiali protettivi e guanti monouso.


Lavare accuratamente le mani al termine di ciascun dosaggio.

Evitare di provocare schizzi o aerosol. Ogni goccia di reattivo biologico deve essere rimossa con una soluzione di sodio ipoclorito allo 0,5% di cloro attivo ed il mezzo utilizzato deve essere trattato come materiale di rifiuto infetto.

Tutti i campioni e i reattivi contenenti materiali biologici usati per il saggio devono essere considerati potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi; i rifiuti devono essere maneggiati con cura e smaltiti secondo le linee guida del laboratorio e le disposizioni legislative vigenti in ciascun paese. Qualsiasi materiale che deve essere riutilizzato deve essere trattato con un processo di sterilizzazione adeguato in accordo alle leggi e alle linee guida applicabili localmente. Si raccomanda di verificare l'efficacia del ciclo di sterilizzazione/decontaminazione.

Non usare kit o componenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP) i reattivi pericolosi sono classificati ed etichettati come segue:

REATTIVI:	CAL1 , CAL2 , DILSPE , CONJ
CLASSIFICAZIONE:	Skin sens. 1 H317
SEGNALAZIONI:	Attenzione
SIMBOLI / PITTOGRAMMI:	 GHS07 Punto esclamativo
FRASI DI PERICOLO:	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.
CONSIGLI DI PRUDENZA:	P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
CONTIENE: (solo le sostanze prescritte ai sensi dell'articolo 18 del Regolamento CE 1272/2008).	massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [CE n. 247-500-7] e 2-metil-2H -isotiazol-3-one [CE n. 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP), SORB è etichettato come EUH210, Schede dati di sicurezza disponibili su richiesta. Per ulteriori informazioni consultare le Schede dati di sicurezza disponibili su www.diasorin.com.

7. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

INTEGRALE DI REATTIVI

Attenersi scrupolosamente alle seguenti precauzioni importanti per la manipolazione dei reattivi:

Risospensione delle particelle magnetiche

Le particelle magnetiche devono essere completamente risospese prima di posizionare l'integrale nello strumento LIAISON® XL Analyzer. Seguire i passaggi indicati di seguito per garantire la sospensione completa delle particelle.

Prima di rimuovere la pellicola sigillante dai contenitori, ruotare avanti e indietro la rotellina dentata posta al di sotto del contenitore delle particelle magnetiche fino a quando il colore della sospensione diventa bruno. Agitare orizzontalmente l'integrale di reattivi con delicatezza ed estrema cura può favorire la sospensione delle particelle magnetiche (evitare la formazione di schiuma). Controllare visivamente il fondo del contenitore delle particelle magnetiche per assicurarsi che tutte le particelle magnetiche sedimentate siano state risospese. Asciugare accuratamente la superficie di ciascun setto per eliminare tutto il liquido residuo.

Se necessario, ripetere la procedura fino alla completa risospensione delle particelle magnetiche.

Una risospensione delle particelle magnetiche incompleta può causare risultati analitici variabili e non accurati.

Formazione di schiuma nei reattivi

Per garantire prestazioni ottimali dell'integrale, si raccomanda di evitare la formazione di schiuma nei reattivi. Seguire le raccomandazioni sotto riportate per evitare la formazione di schiuma:

Prima di usare l'integrale, controllare visivamente i reattivi, in particolare i calibratori (posti in seconda e terza posizione dell'integrale, dopo il contenitore delle particelle magnetiche) per escludere la presenza di schiuma. Se si osserva la presenza di schiuma dopo la risospensione delle particelle magnetiche, posizionare l'integrale nello strumento e lasciare sciogliere la schiuma. Caricare l'integrale nella zona di reazione una volta che la schiuma si è dispersa.

Caricamento dell'integrale nell'area reagenti dello strumento

- Il LIAISON® XL Analyzer è dotato di un dispositivo magnetico integrato che favorisce la dispersione delle microparticelle prima di posizionare un integrale di reattivi nell'area reagenti dello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per i dettagli tecnici.
 - a. Posizionare l'integrale di reattivi nella scanalatura apposita.
 - b. Lasciare riposare l'integrale di reattivi nel dispositivo magnetico per almeno 30 secondi (fino a diversi minuti). Ripetere l'operazione se necessario.
- Posizionare l'integrale di reattivi nell'area reagenti dello strumento con l'etichetta rivolta a sinistra e lasciar agitare per 15 minuti prima dell'uso.

In questo periodo le particelle magnetiche vengono tenute automaticamente in agitazione per assicurare una risospensione completa.
- Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

CONTROLLI

Consultare le istruzioni per l'uso del set di controlli LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG Control Set per informazioni sulla preparazione e sull'uso corretti.

8. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DELL'INTEGRALE DI REATTIVI

- **Sigillato:** Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.
- **Aperto a bordo o a 2-8°C:** stabile fino a una settimana.
- Usare l'apposito supporto fornito con lo strumento LIAISON® XL Analyzer per conservare l'integrale di reattivi in posizione verticale.
- Non congelare.
- Mantenere l'integrale di reattivi in posizione verticale durante la conservazione per facilitare la successiva adeguata risospensione delle particelle magnetiche.
- Tenere al riparo dalla luce diretta.

9. PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il dosaggio può essere effettuato in campioni di siero o plasma umano. Sono stati testati e possono essere utilizzati con questo dosaggio gli anticoagulanti sodio e litio eparina e potassio EDTA. Nel dosaggio deve essere utilizzato il tipo di campione corretto.

Seguire attentamente le istruzioni del fabbricante delle provette quando si utilizzano i contenitori per il prelievo. Il sangue deve essere prelevato con tecnica asettica mediante venipuntura e il siero o il plasma deve essere separato dal coagulo, dai globuli rossi o dal separatore gel dopo la centrifugazione.

Le condizioni di centrifugazione vanno da 1.000 a 3.000 g per 10 minuti. Le condizioni possono variare in base alle raccomandazioni del fabbricante delle provette. L'uso di condizioni di centrifugazione diverse deve essere valutato e convalidato dal laboratorio.

Prima della spedizione, rimuovere dai campioni di siero o plasma il coagulo, i globuli rossi o il separatore gel. I campioni possono essere spediti in ghiaccio secco (congelati), in ghiaccio bagnato (2-8°C) o a temperatura ambiente (20-25°C), attenendosi ai limiti di conservazione dei campioni descritti di seguito.

Condizioni di trasporto non controllate (in termini di temperatura e tempo) possono provocare risultati analitici non accurati. Durante gli studi di convalida, sono state utilizzate delle provette per prelievo campioni disponibili in commercio al momento delle analisi. Pertanto non sono state valutate tutte le provette per la raccolta di tutti i produttori. I dispositivi per prelievo ematico provenienti da fabbricanti diversi possono contenere sostanze che in alcuni casi potrebbero influenzare i risultati dei test (Bowen et al., Clinical Biochemistry, 43, 4-25, 2010).

Per quanto riguarda i limiti di conservazione, se il dosaggio è eseguito nei sette giorni successivi al prelievo, i campioni privati dei globuli rossi, del coagulo o del separatore gel possono essere conservati a 2-8°C; in caso contrario, devono essere suddivisi in aliquote e congelati (a -20°C o a temperature inferiori). Sei campioni di siero di diversa reattività sono stati conservati per quattro giorni a 2-8°C e sei campioni di siero sono stati sottoposti a due cicli di congelamento e scongelamento. I risultati non hanno mostrato differenze significative; è tuttavia consigliabile evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento. Se i campioni sono stati scongelati, agitare con cura prima di dosarli.

I campioni privati dei globuli rossi, del coagulo o del separatore gel che presentino materiale in sospensione, fibrina, opalescenza, lipemia o residui eritrocitari, i campioni che sono stati conservati a temperatura ambiente (20-25°C) o che sono stati congelati e scongelati oppure i campioni che richiedono la ripetizione dell'analisi necessitano di chiarificazione per ulteriore centrifugazione (si consigliano 10.000 g per 10') prima del test, per migliorare la coerenza dei risultati. I campioni con uno strato superiore di lipidi devono essere trasferiti in una provetta secondaria, avendo cura di trasferire solo il materiale chiarificato. Non usare campioni fortemente emolizzati o lipemici, né campioni che presentano materiale in sospensione o evidente contaminazione microbica. Eliminare le bolle di aria eventualmente presenti prima del dosaggio.

Il volume minimo di campione necessario per una determinazione è 170 µL (20 µL di campione + 150 µL di volume morto).

10. TARATURA

Il dosaggio dei calibratori specifici contenuti nell'integrale di reattivi permette di regolare la curva predefinita memorizzata dal fabbricante sulle unità relative di luce (RLU) rilevate. Ogni soluzione dei calibratori permette di eseguire quattro tarature.

La ritaratura deve essere eseguita in triplicato ogniqualvolta si verifica almeno una delle condizioni seguenti:

- Viene usato un nuovo lotto di reagenti starter.
- La taratura precedente è stata eseguita più di una settimana prima.
- Viene usato un nuovo lotto di integrale di reattivi.
- Lo strumento ha subito un intervento di assistenza tecnica.
- I valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi.

11. PROCEDIMENTO OPERATIVO

Per ottenere prestazioni analitiche ottimali è necessario attenersi scrupolosamente al manuale operativo dello strumento. Tutti i parametri del test vengono descritti dalle informazioni codificate nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency Identification transponder, RFID Tag) nell'integrale di reattivi. Nel caso lo strumento non possa leggere il RFID Tag, l'integrale non potrà essere utilizzato. Non gettare l'integrale; contattare il supporto tecnico DiaSorin locale per istruzioni.

Lo strumento esegue le seguenti operazioni:

1. Dispensare i campioni (calibratore o controllo), le particelle magnetiche rivestite e il diluente dei campioni nelle cuvette di reazione
2. Incubare e lavare
3. Distribuire il coniugato nelle cuvette di reazione
4. Incubare e lavare
5. Aggiungere i reagenti starter e misurare la luce emessa.

12. CONTROLLO DI QUALITÀ

I controlli LIAISON® devono essere analizzati in singolo per valutare le prestazioni del test. Il controllo di qualità deve essere eseguito analizzando i controlli LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG

(a) almeno una volta per ogni giorno di lavoro, prima di eseguire l'analisi,

(b) ogni volta che il kit viene calibrato,

(c) quando si usa un nuovo lotto di reagenti starter o secondo le disposizioni legislative o la regolamentazione vigente in ciascun paese.

I valori dei controlli devono essere compresi nei limiti attesi: ogniqualvolta uno o entrambi i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, la taratura deve essere ripetuta e i controlli devono essere rianalizzati. Se i valori sperimentali dei controlli sono di nuovo al di fuori degli intervalli predefiniti dopo la taratura, il test deve essere ripetuto usando un flacone di controllo non aperto. Se i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, i risultati dei campioni non devono essere refertati.

Le prestazioni di altri controlli devono essere valutate per assicurarne la compatibilità con questo test prima dell'uso. È indispensabile pertanto stabilire gli intervalli dei valori dei materiali usati per il controllo di qualità.

13. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'analizzatore calcola automaticamente le concentrazioni di anticorpi IgG anti SARS-CoV-2 S1/S2 espresse in unità arbitrarie (AU/mL) e classifica i risultati. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

Intervallo di dosaggio. Fino a 400 AU/mL

I campioni contenenti concentrazioni di anticorpo superiori all'intervallo di dosaggio possono essere prediluiti mediante la funzione Dilute dello strumento e ridosati (il fattore di diluizione consigliato è 1:10). I risultati saranno quindi moltiplicati automaticamente per il fattore di diluizione per ottenere i livelli anticorpali dei campioni non diluiti. Il diluente dei campioni disponibile in eccesso negli integrali di reattivi permette la prediluizione di 10 campioni.

La diluizione di campioni esterni all'intervallo potrebbe fornire misurazioni quantitative non accurate a causa della risposta imprevedibile dei campioni.

I risultati dei campioni devono essere interpretati come segue:

Test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG		
AU/mL	Risultati	Regole di ripetizione del test e interpretazione
<12,0	Negativo	Ripetizione del test non necessaria. Un risultato negativo può indicare l'assenza o un livello molto basso di anticorpi IgG diretti contro il patogeno. Il test potrebbe fornire un risultato negativo nei pazienti infetti se eseguito durante il periodo di incubazione e negli stadi precoci della malattia.
$12,0 \leq x < 15,0$	Dubbio	Ripetere il test sullo stesso campione in duplicato con il test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG. I campioni che ottengono almeno 2 risultati su 3 uguali o superiori a 15,0 AU/mL devono essere classificati positivi. I campioni che ottengono almeno 2 risultati su 3 inferiori a 12,0 AU/mL devono essere classificati negativi. Bisogna prelevare e dosare un secondo campione una o due settimane più tardi se il risultato è ripetutamente dubbio.
$\geq 15,0$	Positivo	Ripetizione del test non necessaria. Un risultato positivo indica generalmente l'esposizione del soggetto al patogeno.

I risultati del test sono riportati in maniera quantitativa come positivi, dubbi o negativi. Tuttavia, la diagnosi dell'infezione da SARS-CoV-2 non può essere formulata sulla base del risultato di un singolo test, il quale deve essere valutato insieme ad altri riscontri clinici, alla storia del paziente e al giudizio del medico.

14. LIMITI DEL DOSAGGIO

Per ottenere risultati affidabili è necessario attenersi strettamente alle istruzioni per l'uso e possedere una adeguata manualità tecnica.

Contaminazione batterica dei campioni o inattivazione con il calore possono influenzare i risultati del test.

I campioni di pazienti che ricevono dosi terapeutiche di biotina (vitamina H, B7 o B8) possono interferire in dosaggi immunologici basati su reattivi biotinilati. Non sono state osservate interferenze analizzando concentrazioni sieriche di biotina fino a 3500 ng/mL con il test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG (per i dettagli, vedere il paragrafo §15.1).

Al momento, non è ancora stato stabilito se il rilevamento di anticorpi IgG neutralizzanti diretti contro il SARS-CoV-2 determini l'immunità a lungo termine al virus né se protegga il paziente contro la reinfezione da parte del virus.

I risultati ottenuti con questo test devono essere interpretati esclusivamente in associazione con gli esiti clinici e i risultati di altri test di laboratorio e di altre valutazioni.

15. PRESTAZIONI METODOLOGICHE DEL KIT

15.1. Specificità analitica

La specificità analitica è definita come la capacità del test di rilevare esattamente l'analita in presenza di fattori potenzialmente interferenti nella matrice del campione (per esempio, anticoagulanti, emolisi, effetti di trattamenti del campione) o di anticorpi cross-reattivi.

Interferenze.

Studi controllati su sostanze potenzialmente interferenti non hanno dimostrato alcuna interferenza con ciascuna delle sostanze del test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG riportate sotto, alla concentrazione indicata.

Sostanze	Concentrazioni analizzate
Biotina	3500 ng/mL
Trigliceridi	3000 mg/dL
Emoglobina	1000 mg/dL
Bilirubina non coniugata	40 mg/dL
Bilirubina coniugata	40 mg/dL
Colesterolo totale	400 mg/dL
Paracetamolo	500 mg/mL
Ibuprofene	500 mg/mL

La dose giornaliera raccomandata di biotina è 30 µg e concentrazioni sieriche normali di biotina sono comprese tra 0,1 e 0,8 ng/mL (8). Possono essere assunte dosi elevate di biotina (fino a 30 mg al giorno) sotto forma di integratore alimentare per capelli, unghie o pelle. Alcuni studi farmacocinetici hanno mostrato che in soggetti che assumono dosi giornaliere di 5 mg, 10 mg e 20 mg di biotina, le concentrazioni sieriche di biotina possono raggiungere rispettivamente fino a 73 ng/mL, 141 ng/mL e 355 ng/mL (8) oppure fino a 1160 ng/mL nel plasma nei soggetti che assumono dosi giornaliere di biotina fino a 300 mg/giorno (9). Questi studi sono stati condotti su un numero ridotto di soggetti di razza caucasica apparentemente sani. La clearance della biotina potrebbe essere diversa per altre popolazioni, ad esempio i pazienti con insufficienza renale possono avere concentrazioni maggiori di biotina nel siero.

Reazioni crociate.

Le reazioni crociate del test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG sono state studiate per valutare le potenziali interferenze da parte di anticorpi diretti contro altri virus che possono causare sintomi simili a quelli dell'infezione da SARS-CoV-2, da parte di altri organismi che possono causare malattie infettive nonché da altre condizioni che possono derivare da un'attività atipica del sistema immunitario. I campioni per la valutazione sono stati raccolti prima dell'ottobre 2019, precedentemente alla pandemia del SARS-CoV-2. Tre (3) campioni su 168 valutati sono risultati positivi con il test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG. La specificità osservata per campioni a potenziale reattività crociata è paragonabile a quella di popolazioni aperte.

Condizione	Numero di campioni testati	LIAISON® XL Risultati positivi
Autoanticorpi anti-nucleari (ANA)	10	0
Anti-HBV	10	1
Anti-HCV	10	0
Anti-Influenza A	10	1
Anti-Influenza B	10	0
Anti-Virus respiratorio sinciziale	10	0
Anti-Borrelia burgdorferi	10	0
Anti-Mycoplasma pneumoniae	10	0
Anticorpi anti-EBV	10	0
Anti-CMV	10	0
Anti-HSV-1/2	10	0
HAMA	10	0
Anti-Parvovirus B19	10	0
Fattore reumatoide	10	1
Anti-Rosolia	10	0
Anti-VZV	10	0
Anti-CoV OC43	3	0
Anti-CoV HKU1	1	0
Anti-CoV ceppo sconosciuto	4	0
Totale	168	3

15.2. Precisione

Uno studio di precisione della durata di cinque giorni è stato condotto utilizzando un pannello codificato di 6 campioni di plasma, preparato mediante addizione o diluizione dei campioni secondo necessità al fine di ottenere campioni negativi, positivi bassi e positivi moderati. Nello studio sono stati inclusi anche set di controlli del kit. I campioni del pannello e i controlli del kit sono stati analizzati con il test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG in 6 replicati per sessione analitica, 3 sessioni analitiche al giorno per cinque giorni lavorativi su un solo strumento LIAISON® XL Analyzer. Nella preparazione del protocollo di analisi è stato consultato il documento CLSI EP5-A3.

			Intra-analisi		Tra le analisi		Tra i giorni		Totale	
Dati	N	Media (AU/mL)	DS	CV%	DS	CV%	DS	CV%	DS	CV%
RS1011 Neg	90	626*	22,14	3,5	26,44	4,2	47,89	7,6	59,0	9,4
RS1013 Neg	90	884*	46,58	5,3	20,58	2,3	97,89	11,1	110	12,5
RS1012 Pos	90	28,1	0,94	3,3	0,51	1,8	1,04	3,7	1,49	5,3
RS1014 Pos	90	28,3	0,75	2,6	0,03	0,1	0,64	2,3	0,99	3,5
COVG-1-U1	90	5,45	0,14	2,5	0,06	1,0	0,00	0,00	0,15	2,7
COVG-1-U2	90	6,72	0,23	3,4	0,13	1,9	0,00	0,0	0,26	3,9
COVG-1-U3	90	11,1	0,34	3,0	0,09	0,8	0,15	1,3	0,38	3,4
COVG-1-U4	90	20,2	0,54	2,7	0,29	1,4	0,27	1,3	0,67	3,3
COVG-1-U5	90	40,1	1,14	2,8	0,28	0,7	0,00	0,0	1,17	2,9
COVG-1-U6	90	64,1	1,68	2,6	0,70	1,1	0,35	0,5	1,86	2,9

I risultati si riferiscono ai gruppi di campioni analizzati; non si tratta di prestazioni garantite, a causa delle possibili differenze fra i laboratori e le sedi.

15.3. Linearità

La linearità è stata valutata secondo le linee guida CLSI EP6-A. Un campione è stato analizzato non diluito e dopo le diluizioni con il diluente dei campioni. I risultati sono stati analizzati tramite regressione lineare dei valori attesi rispetto a quelli osservati.

L'equazione di regressione risultante è: Osservati = 1,043 (Attesi) - 0,2807; R²= 0,997

15.4. Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è definita come la minima quantità di analita distinguibile dallo zero calcolando 1,654 deviazioni standard. Secondo il metodo delle linee guida CLSI EP17-A2, il limite di rilevamento (LoD) per il test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG è 3,8 AU/mL.

16. RIEPILOGO DELLE PRESTAZIONI CLINICHE

I risultati si riferiscono ai gruppi di campioni analizzati; non si tratta di prestazioni garantite, a causa delle possibili differenze fra i laboratori e le sedi.

16.1 Sensibilità diagnostica

La sensibilità è stata determinata analizzando 135 campioni prelevati nel corso del tempo da 76 pazienti europei. L'infezione da SARS-CoV-2 è stata confermata mediante test RT-PCR al momento della diagnosi.

Il test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG è stato eseguito su campioni prelevati al momento del ricovero e successivamente fino a un massimo di 36 giorni per 44 pazienti ricoverati in ospedale con sintomi moderati e 11 pazienti ricoverati in terapia intensiva con sintomi gravi.

Ventuno campioni singoli sono stati prelevati da pazienti affetti da COVID-19, che sono stati confermati positivi al test RT-PCR e ricoverati in terapia intensiva con un arco temporale noto tra il test PCR e il prelievo del campione.

La seguente tabella descrive la sensibilità diagnostica in tre gruppi, cioè i campioni precoci (≤ 5 giorni dopo la diagnosi), i campioni tra 5 e 15 giorni dopo la diagnosi e i campioni tardivi (>15 giorni dopo la diagnosi).

	LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG			Totale	Sensibilità (CI 95% Wilson)
	<12 AU/mL	12 – 15 AU/mL	≥ 15 AU/mL		
≤ 5 giorni	31	2	11	44	25,0% (14,6% - 39,4%)
5-15 giorni	4	1	47	52	90,4% (79,4% - 95,8%)
>15 giorni	1	0	38	39	97,4% (86,8% - 99,5%)

16.2 Specificità diagnostica

Sono stati analizzati millenovecento campioni presunti SARS-CoV-2 negativi provenienti da un laboratorio europeo (n=90) e da donatori di sangue europei (n=1000) che hanno fornito una specificità clinica del 98,5% (IC 95%: 97,6% – 99,1%).

La tabella seguente riporta i risultati:

	LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG			Totale	Specificità (IC 95% Wilson)
	<12 AU/mL	12 – 15 AU/mL	≥15 AU/mL		
Laboratorio	89	0	1	90	98,9% (94,0% - 99,8%)
Donatori di sangue	985	8	7	1000	98,5% (97,5% - 99,2%)

16.3 Concordanza con il Plaque Reduction Neutralization Test (PRNT)

La concordanza con il PRNT è stata valutata analizzando 304 campioni prelevati durante l'epidemia da soggetti con risultato PRNT disponibile. 180 erano PRNT negativi e 124 erano PRNT positivi (cioè titolo maggiore di 1:40).

La tabella seguente riporta i risultati:

LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG	Titoli per PRNT		Totale
	Negativo	Positivo	
Negativo (<12,0 AU/mL)	176	1	177
Dubbio (12,0 – 15,0 AU/mL)	1	6	7
Positivo (>15,0 AU/mL)	3	117	120
Totale	180	124	304

	Proporzione	IC 95% Wilson
Concordanza negativi	97,8% (176/180)	94,4% - 99,1%
Concordanza positivi	94,4% (117/124)	88,8% - 97,2%

I risultati di 38 campioni con dosi elevate, cioè superiori a 80 AU/mL, ottenuti dal test LIAISON® sono stati confrontati con una soglia maggiore di titolo per PRNT, cioè 1:160.

La tabella seguente riporta i risultati:

LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG	Titoli per PRNT		Totale
	<1:160	≥1:160	
≥80 AU/mL	13% (5)	87% (33)	38

1. FINALITÀ DEL TEST

I controlli LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG (negativo e positivo) devono essere impiegati come campioni per eseguire il controllo di qualità al fine di valutare le prestazioni e l'affidabilità del test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG. Le prestazioni metodologiche dei controlli LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG non sono state definite con dosaggi o strumenti automatici diversi da LIAISON® XL Analyzer.

I codici a barre riportati nel certificato di analisi forniscono informazioni specifiche sul lotto di controlli e devono essere letti dal lettore manuale di codici a barre dello strumento LIAISON® XL Analyzer prima di caricare i flaconi dei controlli nello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

2. MATERIALI FORNITI

Controllo negativo (2 x 0,9 mL)	CONTROL -	Siero umano non reattivo per anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2, 0,2% ProClin® 300, conservanti.
Controllo positivo (2 x 0,9 mL)	CONTROL +	Siero/plasma umano reattivo per anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2, 0,2% ProClin® 300, conservanti.

Tutti i reattivi sono forniti pronti per l'uso. L'intervallo dei valori di ogni controllo è stampato sul certificato di analisi e indica i limiti stabiliti da DiaSorin per i valori dei controlli ottenuti con dosaggi affidabili. Ogni laboratorio è responsabile dell'adozione di limiti diversi per soddisfare esigenze specifiche.

3. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- I controlli non sono specifici per lotto di kit. Si possono scambiare con lotti diversi di integrale di reattivi.
- Tutti i materiali utilizzati per ottenere i componenti di questo kit sono stati analizzati e trovati non reattivi per la presenza di HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e anti-HIV-2.
Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può dare assoluta certezza che siano assenti agenti patogeni, tutto il materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infettivo e manipolato come tale.
- Osservare le normali precauzioni necessarie per la manipolazione dei reattivi di laboratorio.
- I rifiuti devono essere smaltiti in accordo con la regolamentazione locale.

4. REGOLE DI SICUREZZA

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici durante l'esecuzione del dosaggio.

Non pipettare con la bocca.

Evitare il contatto diretto con il materiale potenzialmente infetto, indossando indumenti da laboratorio, occhiali protettivi e guanti monouso.

Lavare accuratamente le mani al termine di ciascun dosaggio.

Evitare di provocare schizzi o aerosol. Ogni goccia di reattivo biologico deve essere rimossa con una soluzione di sodio ipoclorito allo 0,5% di cloro attivo ed il mezzo utilizzato deve essere trattato come materiale di rifiuto infetto.

Tutti i campioni e i reattivi contenenti materiali biologici usati per il saggio devono essere considerati potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi. I rifiuti devono essere maneggiati con cura e smaltiti secondo le linee guida del laboratorio e le disposizioni legislative vigenti in ciascun paese. Qualsiasi materiale che deve essere riutilizzato deve essere trattato con un processo di sterilizzazione adeguato in accordo alle leggi e alle linee guida applicabili localmente. Si raccomanda di verificare l'efficacia del ciclo di sterilizzazione/decontaminazione.

Non usare kit o componenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP) i reattivi pericolosi sono classificati ed etichettati come segue:

REATTIVI:	CONTROL ₋ , CONTROL ₊
CLASSIFICAZIONE:	Skin sens. 1 H317
SEGNALAZIONI:	Attenzione
SIMBOLI / PITTOGRAMMI:	 GHS07 Punto esclamativo
FRASI DI PERICOLO:	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.
CONSIGLI DI PRUDENZA:	P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
CONTIENE: (solo le sostanze prescritte ai sensi dell'articolo 18 del Regolamento CE 1272/2008).	Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [CE n. 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [CE n. 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

Per ulteriori informazioni consultare le Schede dati di sicurezza disponibili su www.diasorin.com.

5. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Al momento dell'arrivo, i controlli devono essere conservati a 2-8°C e mantenuti in posizione verticale per evitare il contatto della soluzione con il tappo del flacone. Non congelare. Se conservati sigillati in posizione verticale, i controlli sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura, i controlli sono stabili fino a quattro settimane se conservati refrigerati a 2-8°C tra due usi successivi. Evitare la contaminazione batterica dei controlli. Non usare i controlli oltre la data di scadenza indicata sulle etichette dei flaconi.

6. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- Mettere i flaconi dei controlli nei supporti C del LIAISON® XL Analyzer. Ogni flacone di controllo permette di eseguire almeno 20 test.
- Il volume morto è 400 µL.
- Al momento dell'uso, equilibrare i controlli a temperatura ambiente (20-25°C) prima di aprire i flaconi e lasciarli nell'area campioni dello strumento solo per il tempo necessario ad eseguire il test di controllo di qualità.
- Dopo l'uso, tappare i flaconi al più presto e conservarli a 2-8°C in posizione verticale.
- Durante la manipolazione dei controlli, adottare le precauzioni necessarie per evitare la contaminazione microbica.

7. LIMITAZIONI

I valori dei controlli non sono definiti per test diversi dal test LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG. Se l'utente desidera utilizzare questi controlli con altri test, è sua responsabilità definire intervalli appropriati.

Le prestazioni di altri controlli devono essere valutate per assicurarne la compatibilità con questo test prima dell'uso. È indispensabile stabilire intervalli di riferimento appropriati per tutti i materiali usati per il controllo di qualità.

Se i valori dei controlli ottenuti dopo la taratura si trovano ripetutamente al di fuori degli intervalli previsti, il test deve essere ripetuto utilizzando un flacone di controllo non aperto.

8. MANIPOLAZIONE

Fare riferimento al manuale operativo del LIAISON® XL Analyzer per la corretta manipolazione.

9. VALORI ASSEGNATI

Gli intervalli delle concentrazioni di IgG anti-SARS-CoV-2 S1/S2 nei controlli sono riportati sul certificato di analisi. Tali intervalli sono stati stabiliti considerando la variabilità delle sessioni analitiche allo scopo di garantire l'accuratezza dei risultati analitici e ottenere indicazioni sulla stabilità o il deterioramento dei reattivi.

REFERENCES:

1. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Novel Coronavirus. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/novel-coronavirus-china> (last page update March 24 2020)
2. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Geographical distribution 2019.
3. Wang G, Jin X. The progress of 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) event in China. *J Med Virol*. doi: 10.1002/jmv.25705
4. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases; ad interim – March 19, 2020. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/geographical-distribution-2019-ncov-cases>(last page update March 24 2020)
5. Kelvin Kai-Wang To, Owen Tak-Yin Tsang et al.: Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. March 23, 2020 *Lancet Infectious Diseases*
6. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. Walls, Park, Tortorici, Wall, McGuire, Veesler. *Cell* 180, 1–12, March 19, 2020 ^a 2020 Elsevier Inc.
Correspondence: dveesler@uw.edu - <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
7. Fan Wu et al, Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications *medRxiv* 2020.03.30.20047365; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>
8. Grimsey, Paul, et al.: Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and in vitro immunoassay interference. *2017 International journal of Pharmacokinetics* 2.4: 247-256.
9. Piketty, Marie-Liesse, et al.: High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2017 55.6: 817-825