



**OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test**

**Test pour anticorps totaux SARS-CoV-2 OPTI**

**Prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2**

**Teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2**


**OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Test**

**Test completo degli anticorpi OPTI SARS-CoV-2**

**IVD** **CE** **R**

For *in vitro* diagnostic use only  
For Emergency Use Authorization Only • Made in Switzerland  
For Prescription Use only

Approval Date: 12-NOV-2021

 **06-41609-02**

 **OPTI**Medical



# OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test

## Name and Intended Use

The OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody assay is a one-step antigen capture format, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), intended for the qualitative detection of total antibodies (including IgM/IgA/IgG) to SARS-CoV-2 in human serum and plasma (K2 EDTA and Sodium Citrate). The OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody assay is intended for use as an aid in identifying individuals with an adaptive immune response to SARS-CoV-2, indicating recent or prior infection. At this time, it is unknown how long antibodies persist following infection and if the presence of antibodies confers protective immunity. The OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody assay should not be used to diagnose acute SARS-CoV-2 infection. Testing is limited to laboratories certified under the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA), 42 U.S.C 263a, to perform high complexity tests.

Results are for the detection of SARS CoV-2 total antibodies. Total antibodies (including IgM/IgA/IgG) to SARS-CoV-2 are generally detectable in blood several days after initial infection, although the duration of time antibodies are present post-infection is not well characterized. Individuals may have detectable virus present for several weeks following seroconversion.

Laboratories within the United States and its territories are required to report all positive results to the appropriate public health authorities.

The sensitivity of the OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody assay early after infection is unknown. Negative results do not preclude acute SARS-CoV-2 infection. If acute infection is suspected, direct testing for SARS-CoV-2 is necessary.

False positive results with the OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody assay may occur due to cross-reactivity from pre-existing antibodies or other possible causes.

The OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody assay is only for use under the Food and Drug Administration's Emergency Use Authorization.

## Clinical Background

A new severe respiratory illness referred to as COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) emerged in December 2019 in Wuhan, China. The causative agent was identified as a new *Betacoronavirus* and named SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2). The rapid spread of the virus resulted in a global COVID-19 pandemic in 2020.

SARS-CoV-2 is a positive-sense single-stranded RNA virus. This enveloped virus is the seventh described coronavirus known to cause disease in humans. The other coronaviruses infecting humans include four less virulent viruses associated with common colds (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 and HCoV-HKU1) and two additional strains of zoonotic origin causing severe respiratory symptoms which can result in death: SARS-CoV and MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus).

Most COVID-19 patients show mild to severe respiratory symptoms with fever, cough and myalgia or fatigue. Some patients with confirmed infection are asymptomatic. Most severe forms of the disease are associated with acute pneumonia, respiratory distress, cytokine storms as well as multiple organ dysfunctions. Transmission occurs mainly through inhalation of respiratory droplets and direct or indirect contact with infected individuals. Incubation period reported so far varies generally between 1 and 14 days (mostly 3-7 days).

The structural proteins of SARS-CoV-2 include the envelope (E), membrane (M), nucleocapsid (N) and spike (S) proteins. The receptor binding domain (RBD) of the spike protein is the antigen of choice for a serological assay due to its high immunogenicity. Furthermore, RBD is known to be the target of a neutralizing antibody response which may confer protection from future viral infection.

In the absence of vaccine and antiviral treatment the availability of accurate diagnostic tools is key to limit viral transmission. Antibody response to SARS-CoV-2 is detected in most infected individuals at varying times post symptoms onset. Antibody testing can be of great value in conjunction with PCR testing to increase overall diagnostic sensitivity and deploy an efficient pandemic response. Serological testing may aid in identifying infected people at a later stage of the disease when a PCR test is negative. In addition, the use of serological tests can help understand the status of the virus spread and the level of immunity within a given community.

## Descriptions and Principles

The OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test is an enzyme-linked-immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against SARS-CoV-2 in human serum and plasma samples. The test detects total antibodies, including IgG, IgM and IgA.

SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain (RBD) recombinant protein is coated in microtiter plate wells and represents the assay solid phase. SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain (RBD) protein-Horseradish Peroxidase (HRPO) Conjugate is used as the assay detector. In step 1 of the assay, samples are diluted 1:2 with RBD-HRPO Conjugate. If SARS-CoV-2 antibodies are present, they will bind to the RBD-HRPO Conjugate to form a complex. In step 2 of the assay, the diluted samples are then transferred to microtiter plate wells containing immobilized RBD. If present, SARS-CoV-2 Antibody/RBD-HRPO complexes will bind to/bridge with the immobilized RBD. After a washing step, TMB Substrate is added and reacts with bound complexes to generate a blue color. The color reaction is then stopped with the addition of an acidified Stop solution, shifting color from blue to yellow.

Optical densities (A450 nm) are read and results are calculated by generating a sample to positive control ratio (S/P). The sample to positive ratio is calculated by using the absorbance obtained with the test sample and a positive control (A450 nm), corrected for the absorbance of the negative control. Color development indicates the presence of SARS-CoV-2 antibodies in the test sample.

## Reagents

		<b>Volume</b>
1	SARS-CoV-2 antigen coated plates	5
2	Positive Control	1 x 3.6 mL
3	Negative Control	1 x 3.6 mL
4	RBD Conjugate	1 x 30 mL
A	Substrate Solution	1 x 60 mL
B	Stop Solution	1 x 60 mL
C	Wash Concentrate (10X)	2 x 235 mL
<b>Other Components:</b> Zip lock bag.		1

**Note:** See table at the end of the insert for a description of symbols used on the insert and labels of this kit.

## Storage

Store the reagents at 2–8°C. Reagents are stable until expiration date, provided they have been stored properly.

## Materials Required but Not Provided

- Sample dilution plates or racked dilution tubes
- Precision micropipettes or multi-dispensing micropipettes capable of pipetting volumes between 50  $\mu$ l and 100  $\mu$ l
- Use only distilled or deionized water for preparation of the reagents used in the test
- Graduated cylinder or equivalent for preparing 1X wash solution
- Laboratory timer
- Plastic plate covers
- Humid Chamber
- 96-well microplate reader (450nm filter, reference filter between 630nm and 650nm)
- Microplate washer (manual, semi-automatic or automatic system)

The OPTI SARS-CoV-2 Antibody Test has been validated using laboratory equipment generally available through major laboratory equipment suppliers ([www.vwr.com](http://www.vwr.com), [www.fisherscientific.com](http://www.fisherscientific.com) as examples).

## Precautions and Warnings

### General

- The assay is for *in vitro* diagnostic (IVD) use under the FDA Emergency Use Authorization Only.
- For prescription use only.
- This test has not been reviewed by the FDA.
- Negative results do not preclude acute SARS-CoV-2 infection. If acute infection is suspected, direct testing for SARS-CoV-2 is necessary.
- Results from antibody testing should not be used to diagnose or exclude acute SARS-CoV-2 infection.
- Positive results may be due to past or present infection with non-SARS-CoV-2 coronavirus strains, such as coronavirus HKU1, NL63, OC43, or 229E.
- Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Refer to Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with SARS-CoV-2: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- Use personal protective equipment (PPE) consistent with current guidelines for the handling of potentially infectious samples.
- Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled.
- Modifications to assay reagents, assay protocol, or instrumentation are not permitted, and are in violation of the product Emergency Use Authorization.
- Dispose of waste in compliance with local, state, and federal regulations.
- Laboratories within the United States and its territories are required to report all positive results to the appropriate public health authorities.
- See the end of this insert for reagent hazard and precaution warnings.

## Specimen Collection

Blood sample collection tubes are not included in the test kit. Obtain blood samples by venipuncture and centrifuge according to established laboratory guidelines to generate serum or plasma. Refer to CLSI guidelines GP41-A6 and GP44-A4 for the collection, processing and handling of samples.

## Transporting Specimens

Specimens must be packaged, shipped, and transported according to the current edition of the International Air Transport Association (IATA) Dangerous Goods Regulation. Follow shipping regulations for UN 3373 Biological Substance, Category B when sending potential 2019-nCoV specimens. Store specimens at 2–8°C and ship on ice packs.

## Storing Specimens

Specimens can be stored at 2–8°C for up to 72 hours after collection. If a delay in testing is expected, store specimens at –20°C or lower.

## Laboratory Practices

- Optimal results will be obtained by strict adherence to this protocol. Careful pipetting, timing, and washing throughout this procedure are necessary to maintain precision and accuracy. Use a separate pipette tip for each sample and control.
- Do not expose TMB solution to strong light or any oxidizing agents. Handle TMB solution with clean glass or plastic ware.
- All wastes should be properly decontaminated prior to disposal. Dispose of contents in accordance with local, regional, and national regulations.
- Care should be taken to prevent contamination of kit components. Do not pour unused reagents back into containers.
- Do not use kit past expiration date and do not intermix components from kits with different lot numbers.

## Preparation of Wash Solution

The Wash Concentrate (10X) should be brought to 18–25°C and mixed to assure dissolution of any precipitated salts. The Wash Concentrate (10X) must be diluted 1/10 with distilled/deionized water before use (e.g., 100 mL of concentrate plus 900 mL of water).

## Preparation of Samples and Controls

Dilute test samples and controls two-fold (1:2) with Conjugate by diluting 60  $\mu\text{L}$  of sample with 60  $\mu\text{L}$  of Conjugate. Be sure to change tips for each sample and record the position of each sample. Samples should be mixed prior to dispensing into the CoV-2-coated plate. The resulting mix can be kept for a maximum of 60 min at room temperature (18–25°C) before transferring to the antigen-coated microtiter plate.

## Test Procedure

All reagents must be allowed to come to 18–25°C before use. Mix reagents by gentle inverting or swirling. Return all assay components to 2–8°C after use. For all incubation steps, to minimize evaporation, cover plates with plastic plate covers and place in a humid chamber or enclosure.

- 1 Obtain antigen-coated plate(s) and record the sample position. If using partial plates, remove only those wells sufficient for samples to be tested. Place the remaining wells, along with the desiccant, in the extra ziplock bag provided and return to 2–8°C.
- 2 Dispense 100 µL of DILUTED Negative Control (NC) (DILUTED 1:2) into duplicate wells.
- 3 Dispense 100 µL of DILUTED Positive Control (PC) (DILUTED 1:2) into duplicate wells.
- 4 Dispense 100 µL of DILUTED sample (DILUTED 1:2) into appropriate wells.
- 5 Incubate for 60 minutes at 18–25°C.
- 6 Remove the solution and wash each well with approximately 300 µL of Wash Solution 5 times. Avoid plate drying between plate washings and prior to the addition of the next reagent. Tap each plate onto absorbent material after the final wash to remove any residual wash fluid.
- 7 Dispense 100 µL of TMB Substrate into each well.
- 8 Incubate for 15 minutes at 18–25°C.
- 9 Dispense 100 µL of Stop Solution into each well.
- 10 Measure and record the A(450) for samples and controls. Alternatively, plates may be read at 450nm using a reference filter between 630nm and 650nm.

### 11 Calculations:

#### Controls

$$NC\bar{x} = \frac{A1 A(450) + A2 A(450)}{2}$$

$$PC\bar{x} = \frac{A3 A(450) + A4 A(450)}{2}$$

#### Validity criteria

$$NC\bar{x} < 0.150$$

$$0.250 \leq PC\bar{x} < 1.00$$

For invalid assays, technique may be suspect and the assay should be repeated following a thorough review of the package insert.

#### Samples

$$S/P = \frac{\text{Sample A}(450) - NC\bar{x} A(450)}{PC\bar{x} - NC\bar{x}}$$

The presence or absence of antibody to the antigen is determined by first calculating the S/P value of each sample.

### 12 Interpretation:

Negative

$$S/P < 0.25$$

Positive

$$S/P \geq 0.25$$

## **Limitations**

- The assay performance characteristics have not been established for visual result determination.
- The assay performance characteristics have not been established for matrices other than those specified.
- The assay should not be used to diagnose or exclude acute infection. Results are not intended to be used as the sole basis for patient management decisions.
- A positive result may not indicate previous SARS-CoV-2 infection. Consider other information, including clinical history and local disease prevalence, in assessing the need for a second but different serology test to confirm an immune response.
- A negative result for an individual subject indicates absence of detectable anti-SARS-CoV-2 antibodies. Negative results do not preclude SARS-CoV-2 infection and should not be used as the sole basis for patient management decisions. A negative result can occur if the quantity of the anti-SARS-CoV-2 antibodies present in the specimen is below the detection limits of the assay, or the antibodies that are detected are not present during the stage of disease in which a sample is collected.
- It is not known at this time if the presence of antibodies to SARS-CoV-2 confers immunity.
- False positive results due to cross-reactivity with antibodies to other coronaviruses can occur.
- Assay performance characteristics have not been established for testing cord blood, for testing neonates, for prenatal screening, or for general population screening.
- Samples that are hemolyzed should be avoided for analysis with this assay.
- Results from immunosuppressed patients must be interpreted with caution.
- The assay has not been evaluated with samples collected <14 days after symptoms onset.
- Assay results should be interpreted only in the context of other laboratory findings and the total clinical status of the patient.

## **Performance Characteristics**

### **Analytical Sensitivity and Specificity**

#### **Reactivity/Inclusivity**

Although mutations in the SARS-CoV-2 genome have been identified as the virus has spread, no serologically unique strains have been described relative to the originally isolated virus (this research is exceptionally limited at present).



## Cross-Reactivity

The following disease-state samples were tested on the OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test to assess cross-reactivity. One (1) sample out of 108 yielded a positive result on the OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test. The results are summarized in the following table.

Clinical Condition	Number tested	Number Positive
Human Coronavirus OC43	12	0
Human Coronavirus 229E	12	0
Human Coronavirus HKU1	12	0
Human Coronavirus NL63	12	0
Haemophilus influenzae	7	0
Mycoplasma pneumoniae	4	0
anti-Influenza A IgG	5	1
anti-Influenza B IgG	5	0
anti-Respiratory Syncytial Virus IgG	5	0
anti-Hepatitis A Virus	5	0
anti-Hepatitis B Virus	5	0
anti-Hepatitis C Virus	5	0
HIV Seropositive	10	0
RF	5	0
Antinuclear Antibodies (ANA)	4	0
<b>Total</b>	<b>108</b>	<b>1</b>

## Interfering substances

Antibody-negative and positive SARS-CoV-2 samples spanning the test dynamic range were spiked with the following materials, at noted concentrations and tested on the OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test. No false positives or false negatives were observed.

Substance Tested	Conc.	Positive Sample		Positive Sample		Positive Sample		Negative Sample		Negative Sample	
		S/P	Result	S/P	Result	S/P	Result	S/P	Result	S/P	Result
Control	NA	1.66	Positive	0.92	Positive	0.58	Positive	0.01	Negative	0.01	Negative
Cholesterol	30 mg/mL	1.66	Positive	1.10	Positive	0.62	Positive	0.01	Negative	0.00	Negative
Hemoglobin	10 mg/mL	1.50	Positive	0.96	Positive	0.54	Positive	0.01	Negative	0.09	Negative
Bilirubin	0.4 mg/mL	1.78	Positive	0.90	Positive	0.54	Positive	0.01	Negative	0.01	Negative

## Class Specificity

Not applicable - the OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test is intended for the detection of total antibody with no differentiation between different immunoglobulins.

## Clinical Sensitivity/Positive Percent Agreement (PPA)

The clinical sensitivity was determined by evaluating the OPTI SARS-CoV-2 test with samples collected from a total of 155 patients where the time between onset of symptoms and blood collection was noted and from 201 patients where time post PCR result was recorded.

The following table describes the clinical sensitivity by time of sampling post Onset of Symptoms:

### OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Results

Days from Onset of Symptoms	Total PCR Positive samples	Number Reactive	Number Non-Reactive	PPA	95% CI
≤7	0	0	0	NA	NA
8 to 14	1	0	1	0%	-2.9% ; 82.9%
≥15	154	148	6	96.1%	91.5% ; 98.4%
<b>Total samples</b>	155				

The following table describes the clinical sensitivity by time of sampling post PCR positive result:

### OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Results

Days from PCR Positive result	Total PCR Positive samples	Number Reactive	Number Non-Reactive	PPA	95% CI
≤7	2	2	0	100%	28.9% ; 100%
8 to 14	9	8	1	88.9%	54% ; 99.8%
≥15	190	184	6	96.8%	93.1% ; 98.7%
<b>Total samples</b>	201				

## Clinical Specificity/Negative Percent Agreement (NPA)

The clinical specificity was determined by evaluating the OPTI SARS-CoV-2 test with samples collected in 2019, prior to the appearance of SARS-CoV-2.

### OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Results

Healthy Donors	Matrix	Total Samples	Number Reactive	Number Non-Reactive	Negative Percent Agreement (NPA)	95% CI
UK 2019	Serum	98	1	97	99.0%	93.8% ; 100%
UK 2019	Plasma	99	3	96	97.0%	91% ; 99.3%
USA 2019 #1	Serum	50	2	48	96.0%	85.6% ; 99.6%
USA 2019 #2	Plasma	50	1	49	98.0%	88.3% ; 100%
	Healthy Total	297	7	290	97.6%	95.1% ; 98.9%

### Clinical condition

2019 Collections	<b>Various</b>	<b>108</b>	<b>1</b>	<b>107</b>	<b>99.1%</b>	<b>94.3% ; 100%</b>
<b>Grand Total 2019</b>		<b>405</b>	<b>8</b>	<b>397</b>	<b>98.0%</b>	<b>96.1% ; 99.1%</b>

## Matrix Equivalency

Serum derived from both Red top and SST collections, as well as Plasma derived from Sodium Citrate and Dipotassium EDTA were accounted for during assay development. For one clinical study, paired SST serum and Dipotassium EDTA tubes were collected from 57 unique patients. Regression analysis was performed for the comparison of K2 EDTA plasma to SST serum; results are shown in the figure below.

	<b>K2 EDTA plasma</b>
n	57
OD range (serum)	0.039-4.43
OD range (plasma)	0.0103-5.04
Regression equation (y = plasma, x = serum)	-0.010 + 1.0614 x
95% C.I. of intercept	-0.06342 - 0.04284
95% C.I. of slope	1.038 - 1.085
Coefficient of determination R <sup>2</sup>	0.9934

## Precision Analysis

A single site precision study was undertaken and included kit controls (Negative and Positive), along with Negative, Weak Positive and Moderately Positive samples. Samples were tested in triplicate, by 2 operators, 2 times per day over 5 days, using one lot of the OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test. Results are presented in the table below.

Sample	N	Mean OD	Between Operator		Between Day		Between run		Within run		Overall	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
<b>Kit Positive Control</b>	59	0.64	0.01	1.3	0.02	2.6	0.01	1.5	0.02	3.4	0.03	4.7
<b>Kit Negative Control</b>	60	0.01	0.00	9.3	0.00	5.7	0.00	4.9	0.00	15.5	0.00	19.6
<b>Negative 1</b>	60	0.02	0.00	3.3	0.00	4.6	0.00	3.4	0.00	10.5	0.00	12.4
<b>Positive 1</b>	60	0.35	0.02	5.9	0.02	6.9	0.01	3.0	0.02	5.9	0.04	11.2
<b>Positive 2</b>	60	0.52	0.05	8.7	0.03	6.5	0.02	3.2	0.02	4.2	0.06	12.1
<b>Positive 3</b>	60	0.70	0.01	1.4	0.01	1.4	0.00	0.1	0.01	1.6	0.02	2.6
<b>Positive 4</b>	60	0.88	0.02	2.4	0.05	6.1	0.02	1.9	0.03	3.1	0.07	7.5
<b>Positive 5</b>	60	1.07	0.02	1.7	0.01	1.2	0.00	0.3	0.02	1.4	0.03	2.5

**For technical assistance on the OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test:**

OPTI Medical Systems Tel: +1 770 510 4444

IDEXX USA Tel: +1 800 490 6784

IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Contact your IDEXX area manager or distributor or visit our website: [www.optimedical.com](http://www.optimedical.com)

\*IDEXX and OPTI are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories or its affiliates in the United States and/or other countries. All other product and company names and logos are trademarks of their respective holders.

© 2021 OPTI Medical Systems, Inc. All rights reserved.

## Test pour anticorps totaux SARS-CoV-2 OPTI

### Définition et application

L'OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test est un test immuno-enzymatique ou ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) en une étape, utilisant un antigène de capture, pour la détection qualitative des anticorps totaux (incluant les IgM/IgA/IgG) anti-SARS-CoV-2 dans le sérum et le plasma humain (prélevé avec du K2 EDTA ou du citrate de sodium); ceux-ci sont généralement détectables plusieurs jours après une infection initiale. L'OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test aide à identifier les individus possédant une réponse immunitaire adaptative au SARS-CoV-2, indiquant une infection récente ou antérieure. A l'heure actuelle, la durée de persistance des anticorps après infection n'est pas connue, et on ne sait pas si la présence d'anticorps confère une immunité protectrice. Du virus peut être détecté chez des individus pendant plusieurs semaines après séroconversion. L'OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test ne doit pas être utilisé pour diagnostiquer une infection aiguë au SARS-CoV-2. L'usage du test est limité aux laboratoires certifiés CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments de 1988, 42 U.S.C 263a), pour réaliser des tests complexes.

Les laboratoires situés aux Etats Unis et leurs territoires sont tenus de signaler tous les résultats positifs aux autorités compétentes de santé publique.

La sensibilité de l'OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test n'est pas connue dans la phase précoce de l'infection. Des résultats négatifs n'excluent pas une infection aiguë à SARS-CoV-2. En cas de suspicion d'une infection aiguë, il est nécessaire de réaliser un test de détection directe du SARS-CoV-2.

Des résultats faux-positifs au OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody assay peuvent provenir de réactions croisées liées à des anticorps préexistants ou d'autres causes possibles.

L'OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test est soumis à l'autorisation d'utilisation en urgence de la Food and Drug Administration.

### Contexte clinique

Une nouvelle maladie respiratoire sévère désignée COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) est apparue en décembre 2019 à Wuhan en Chine. L'agent étiologique a été identifié comme un nouveau *Betacoronavirus* et nommé SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2). La propagation rapide du virus a entraîné une pandémie mondiale de COVID-19 en 2020.

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN simple brin de polarité positive. Ce virus enveloppé est le septième coronavirus décrit induisant une maladie chez l'homme. Les autres coronavirus infectant l'homme incluent 4 virus moins virulents associés à des rhumes (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 et HCoV-HKU1) et deux autres souches d'origine zoonotique responsables de symptômes respiratoires sévères pouvant entraîner la mort: SARS-CoV et MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus).

La plupart des patients COVID-19 présentent des symptômes respiratoires modérés à sévères avec de la fièvre, de la toux et de la myalgie ou de la fatigue. Certains patients avec une infection confirmée sont asymptomatiques. La plupart des formes sévères de la maladie sont associées à une pneumonie aiguë, une détresse respiratoire, une tempête de cytokines et un dysfonctionnement de multiples organes.

La transmission s'effectue principalement par l'inhalation de gouttelettes respiratoires et par contact direct ou indirect avec des individus infectés. La période d'incubation décrite jusqu'à présent dure généralement de 1 à 14 jours (le plus souvent de 3 à 7 jours).

Les protéines de structure du SARS-CoV-2 incluent les protéines d'enveloppe (E), de membrane (M), de nucléocapside (N) et de spicule (S). Le domaine de liaison au récepteur (receptor binding domain ou RBD) de la protéine de spicule est l'antigène de choix pour un test sérologique à cause de sa forte immunogénicité. De plus, on sait que le RBD est la cible de la réponse anticorps neutralisante pouvant conférer une protection contre une infection virale ultérieure.

En l'absence de vaccin et de traitement antiviral, il est essentiel de disposer d'outils de diagnostic précis pour limiter la transmission du virus. La réponse anticorps anti-SARS-CoV-2 est détectée chez la plupart des individus infectés à un temps variable après le début des symptômes. Réaliser le test de détection d'anticorps en conjonction avec le test PCR peut être très intéressant pour augmenter la sensibilité diagnostique globale et déployer une réponse efficace à la pandémie. Le test sérologique peut aider à identifier les individus infectés à un stade plus avancé de la maladie lorsque le test PCR est négatif. De plus, l'utilisation de tests sérologiques peut aider à évaluer la propagation du virus et le niveau d'immunité d'une communauté donnée.

## Descriptions et principes

OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test est un test immuno-enzymatique (enzyme-linked-immunosorbent assay, ELISA) de détection des anticorps anti-SARS-CoV-2 dans des échantillons de sérum et de plasma humains. Le test détecte les anticorps totaux, incluant les IgG, IgM et IgA.

La protéine recombinante du domaine de liaison au récepteur du SARS-CoV-2 (Receptor Binding Domain, RBD) est fixée sur les puits de la plaque de microtitrage et représente la phase solide du test. Le conjugué du SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain (RBD) marqué à la peroxydase du raifort (Horseradish Peroxidase [HRPO] Conjugate) sert de détecteur pour le test. Lors de l'étape 1 du test, les échantillons sont dilués au 1:2 dans le conjugué RBD-HRPO. Si des anticorps anti-SARS-CoV-2 sont présents, ils vont se lier au conjugué RBD-HRPO pour former un complexe. Lors de l'étape 2 du test, les échantillons dilués sont ensuite transférés dans les puits de la plaque de microtitrage contenant le RBD immobilisé. Les complexes anticorps anti-SARS-CoV-2 /RBD-HRPO vont se lier/fixer au RBD immobilisé sur la plaque. Après une étape de lavage, le substrat TMB est ajouté et réagit avec les complexes liés pour générer une couleur bleue. La réaction colorée est ensuite stoppée par l'ajout de la solution d'arrêt acidifiée, faisant virer la couleur du bleu au jaune.

Les densités optiques (A450 nm) sont lues et les résultats sont obtenus en calculant le ratio échantillon sur contrôle positif (E/P). Le ratio de l'échantillon sur le contrôle positif est calculé à l'aide de l'absorbance obtenue respectivement pour l'échantillon testé et le contrôle positif (A450 nm), corrigé par l'absorbance du contrôle négatif. L'apparition d'une coloration indique la présence d'anticorps anti-SARS-CoV-2 dans l'échantillon testé.

## Réactifs

		Volume
1	Plaques sensibilisées avec de l'antigène SARS-CoV-2	5
2	Contrôle positif	1 x 3.6 ml
3	Contrôle négatif	1 x 3.6 ml
4	Conjugué RBD	1 x 30 ml
A	Solution de substrat	1 x 60 ml
B	Solution d'arrêt	1 x 60 ml
C	Solution de lavage concentrée (10X)	2 x 235 ml
<b>Autres composants:</b> sachet plastique hermétique réutilisable		1

**Remarque:** voir le tableau à la fin du mode d'emploi pour la description des symboles utilisés dans ce mode d'emploi et sur les étiquettes de la trousse.

## Conservation

Conserver les réactifs entre 2–8°C. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption, sous réserve d'avoir été conservés correctement.

## Matériel nécessaire mais non fourni

- Plaques de dilution pour les échantillons ou tubes de dilution sur portoir
- Micropipettes de précision ou micropipettes multidistributrices pour des volumes de 50 µL à 100 µL
- Utiliser uniquement de l'eau distillée ou déionisée pour la préparation des réactifs utilisés dans le test
- Eprouvette graduée ou équivalent pour préparer la solution de lavage 1X
- Minuteur de laboratoire
- Couvrecles en plastique pour plaque
- Chambre humide
- Lecteur de microplaques 96 puits (filtre à 450nm, filtre de référence entre 630nm et 650nm)
- Système de lavage de microplaques (manuel, semi-automatique or automatique)

L'OPTI SARS-CoV-2 Antibody Test a été validé à l'aide de matériel de laboratoire disponible habituellement chez les principaux fournisseurs d'équipement de laboratoire (voir [www.vwr.com](http://www.vwr.com), [www.fisherscientific.com](http://www.fisherscientific.com) à titre d'exemple).

## Avertissements et précautions

### Général

- Le test est destiné au diagnostic in vitro (IVD) et soumis à l'autorisation d'essai en urgence de la FDA.
- Pour utilisation sur ordonnance médicale uniquement.
- Ce test n'a pas été évalué par la FDA.
- Des résultats négatifs n'excluent pas une infection aiguë à SARS-CoV-2. En cas de suspicion d'une infection aiguë, il est nécessaire de réaliser un test de détection directe du SARS-CoV-2.
- Les résultats du test de détection des anticorps ne doivent pas être utilisés pour diagnostiquer ou exclure une infection aiguë à SARS-CoV-2.
- Des résultats positifs peuvent provenir d'une infection ancienne ou récente par des souches de coronavirus différentes du SARS-CoV-2, comme les coronavirus HKU1, NL63, OC43, or 229E.
- Manipuler tous les échantillons comme étant potentiellement infectieux selon les bonnes pratiques de laboratoire. Voir les lignes directrices nationales de biosécurité en laboratoire pour la manipulation et le traitement des échantillons associés au SARS-CoV-2:  
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- Utiliser un équipement de protection individuelle (EPI) conforme aux directives en vigueur pour la manipulation d'échantillons potentiellement infectieux.
- Ne pas manger, boire, fumer, appliquer des produits cosmétiques ou manipuler des lentilles de contact dans les zones où sont manipulés des réactifs et des échantillons humains.
- Les modifications des réactifs du test, du protocole de test ou de l'instrumentation ne sont pas autorisées, et constituent une violation de l'autorisation d'utilisation en urgence du produit.
- Eliminer les déchets conformément aux dispositions locales, régionales et nationales.
- Dans certains pays, les laboratoires sont tenus de signaler tous les résultats positifs aux autorités compétentes de santé publique.
- Consulter la fin de la notice pour les risques et mesures de prévention liés aux réactifs.

## **Prélèvement des échantillons**

Les tubes de prélèvement de sang ne font pas partie du kit de test. Prélever les échantillons de sang par ponction veineuse et les centrifuger selon les procédures établies de laboratoire pour obtenir du sérum ou du plasma. Consulter les directives CLSI GP41-A6 et GP44-A4 pour le prélèvement, le traitement et la manipulation des échantillons.

## **Transport des échantillons**

Les échantillons doivent être emballés, expédiés et transportés conformément à l'édition actuelle des dispositions de l'Association du transport aérien international (IATA) sur les matières dangereuses. Respecter le règlement sur le transport des substances biologiques UN 3373, catégorie B pour envoyer des échantillons potentiellement contaminés par le 2019-nCoV. Conserver les échantillons entre 2–8°C et les expédier avec des blocs réfrigérants.

## **Conservation des échantillons**

Les échantillons peuvent être conservés entre 2–8°C pendant 72 heures après le prélèvement. Si un retard dans la réalisation du test est prévu, conserver les échantillons à –20°C ou moins.

## **Pratiques de laboratoire**

- Des résultats optimaux seront obtenus en suivant strictement ce protocole. Précision et exactitude nécessitent un pipetage, minutage et lavage soigneux durant toute la procédure. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon et contrôle.
- Ne pas exposer le TMB à une forte lumière ou un agent oxydant. Manipuler la solution de TMB dans du matériel en verre ou en plastique propre.
- Tous les déchets doivent être décontaminés correctement avant leur élimination. Éliminer les contenus selon les dispositions locales, régionales et nationales.
- Éviter soigneusement de contaminer les composants du kit. Ne pas remettre les réactifs non utilisés dans des récipients.
- Ne pas utiliser un kit après sa date de péremption et de pas mélanger les composants de différents kits avec des numéros de lots différents.

## **Préparation de la solution de lavage**

Ramener la solution de lavage concentrée (10X) à température ambiante (18–25°C) et bien mélanger pour dissoudre les éventuels sels précipités. Diluer la solution de lavage concentrée (10X) au 1/10 avec de l'eau distillée/déionisée avant utilisation (par exemple, 100 mL de solution concentré pour 900 mL d'eau).

## **Préparation des échantillons et des contrôles**

Diluer les échantillons à tester et les contrôles au demi (1:2) avec le Conjugué en ajoutant à 60 µL d'échantillon à 60 µL de Conjugué. S'assurer de bien changer d'embout pour chaque échantillon et de noter la position de chaque échantillon. Mélanger les échantillons avant de les distribuer sur les plaques sensibilisées avec le CoV-2. Le mélange obtenu peut être conservé 60 min au maximum à température ambiante (18–25°C) avant d'être transféré dans les plaques de microtitrage sensibilisées avec de l'antigène.



## Mode opératoire

Laisser revenir tous les réactifs à 18–25°C avant utilisation. Mélanger délicatement par retournement ou par rotation. Replacer tous les composants du test à 2–8°C après utilisation. Lors des étapes d'incubation, pour minimiser l'évaporation, couvrir les plaques avec un couvercle en plastique pour plaque et les placer dans une chambre humide ou une enceinte.

- 1 Réserver le nombre de plaque(s) sensibilisées nécessaire(s) pour le test et noter la position de l'échantillon. En cas d'utilisation d'une portion de plaque seulement, retirer le nombre de barrettes requises pour les échantillons à tester. Replacer le reste de la plaque avec le dessicant dans le sachet plastique supplémentaire fourni à 2–8°C.

---

- 2 Distribuer 100 µL de contrôle négatif dilué (CN) (dilué au 1:2) dans 2 puits.

---

- 3 Distribuer 100 µL de contrôle positif dilué (CP) (dilué au 1:2) dans 2 puits.

---

- 4 Distribuer 100 µL de l'échantillon dilué (dilué au 1:2) dans les puits appropriés.

---

- 5 Incuber 60 minutes à 18–25°C.

---

- 6 Eliminer le liquide contenu dans les puits et laver 5 fois chaque puits avec approximativement 300 µL de solution de lavage. Eviter l'assèchement de la plaque entre les lavages avant de distribuer un nouveau réactif. Tapoter chaque plaque sur un matériel absorbant après le dernier lavage pour éliminer tout liquide de lavage résiduel.

---

- 7 Distribuer 100 µL de substrat TMB dans chaque puits.

---

- 8 Incuber 15 minutes à 18–25°C.

---

- 9 Distribuer 100 µL de la solution d'arrêt dans chaque puits.

---

- 10 Mesurer et enregistrer l'absorbance A(450) pour les échantillons et les contrôles. Les plaques peuvent être également lues à 450nm en utilisant un filtre de référence entre 630nm et 650nm.

### 11 Calculs:

#### Contrôles

$$CN\bar{x} = \frac{A1 A(450) + A2 A(450)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{A3 A(450) + A4 A(450)}{2}$$

#### Critères de validité

$$CN\bar{x} < 0.150$$

$$0.250 \leq CP\bar{x} < 1.00$$

Si le test est invalide, la réalisation technique doit être suspectée et le test répété en suivant scrupuleusement la notice.

## Échantillons

$$E/P = \frac{\text{Échantillon A(450)} - \text{CN}\bar{x} \text{ A(450)}}{\text{CP}\bar{x} - \text{CN}\bar{x}}$$

La présence ou l'absence d'anticorps dirigés contre l'antigène est déterminée en calculant la valeur du ratio E/P de chaque échantillon.

### 12 Interprétation:

Négatif

Positif

$E/P < 0.25$

$E/P \geq 0.25$

### Limites

- Les caractéristiques de performance du test n'ont pas été établies pour une lecture à l'œil nu du résultat.
- Les caractéristiques de performance du test n'ont pas été établies pour des matrices autres que celles spécifiées.
- Ce test ne doit pas être utilisé pour diagnostiquer ou exclure une infection aiguë. Les résultats ne doivent pas être utilisés comme seule base de décision pour la prise en charge du patient.
- Un résultat positif peut ne pas indiquer une infection au SARS-CoV-2 antérieure. Prendre en considération d'autres informations, comme les antécédents cliniques et la prévalence locale de la maladie, et évaluer le besoin de réaliser un second test sérologique différent pour confirmer une réponse immunitaire.
- Un résultat négatif pour un individu indique l'absence d'anticorps détectables anti-SARS-CoV-2. Des résultats négatifs n'excluent pas une infection à SARS-CoV-2 et ne doivent pas être utilisés comme seule base de décision pour la prise en charge du patient. Un résultat peut être négatif si la quantité d'anticorps anti-SARS-CoV-2 présents dans l'échantillon est inférieure à la limite de détection du test, ou si les anticorps qui sont détectés ne sont pas présents au stade de la maladie où le prélèvement a été réalisé.
- Actuellement, on ne sait pas si la présence d'anticorps anti-SARS-CoV-2 confère une immunité.
- Des résultats faux positifs peuvent provenir d'une réactivité croisée avec les anticorps dirigés contre d'autres coronavirus.
- Les caractéristiques de performance du test n'ont pas été établies pour du sang de cordon ombilical, de nouveau-nés, un screening prénatal ou pour un screening général de la population.
- Éviter d'analyser avec ce test des échantillons hémolysés.
- Les résultats de patients immunodéprimés doivent être interprétés avec prudence.
- Ce test n'a pas été évalué avec des échantillons prélevés moins de 14 jours avant le début des symptômes.
- Les résultats du test doivent être interprétés uniquement avec d'autres résultats de laboratoire et le statut clinique complet du patient.

## Caractéristiques de performance

### Sensibilité analytique et spécificité

#### Réactivité/Inclusivité

Malgré l'identification de mutations dans le génome du SARS-CoV-2 lors de sa propagation, aucune souche distincte d'un point de vue sérologique par rapport au virus isolé initialement n'a été décrite (la recherche à ce sujet est particulièrement limitée actuellement).

#### Réactivité croisée

Les échantillons suivants correspondant à diverses affections ont été testés à l'aide de OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test pour évaluer la réactivité croisée. Un (1) échantillon sur 108 a été détecté positif par OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Affection clinique	Nombre testé	Nombre de positifs
Coronavirus humain OC43	12	0
Coronavirus humain 229E	12	0
Coronavirus humain HKU1	12	0
Coronavirus humain NL63	12	0
Haemophilus influenzae	7	0
Mycoplasma pneumoniae	4	0
IgG anti-Influenza A	5	1
IgG anti-Influenza B	5	0
IgG anti-Virus respiratoire syncytial	5	0
Anti-virus de l'hépatite A	5	0
Anti-virus de l'hépatite B	5	0
Anti-virus de l'hépatitis C	5	0
Séropositif pour le HIV	10	0
RF	5	0
Anticorps antinucléaires (AAN)	4	0
<b>Total</b>	<b>108</b>	<b>1</b>

#### Substances interférentes

Des échantillons négatifs et positifs au SARS-CoV-2 répartis sur toute la gamme dynamique du test ont été additionnés des substances suivantes, aux concentrations indiquées, et testés à l'aide de OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test. Aucun résultat faux positif ou faux négatif n'a été observé.

Substance testée	Conc.	Échantillon positif		Échantillon positif		Échantillon positif		Échantillon négatif		Échantillon négatif	
		E/P	Résultat	E/P	Résultat	E/P	Résultat	E/P	Résultat	E/P	Résultat
Contrôle	NA	1.66	Positif	0.92	Positif	0.58	Positif	0.01	Négatif	0.01	Négatif
Cholestérol	30 mg/mL	1.66	Positif	1.10	Positif	0.62	Positif	0.01	Négatif	0.00	Négatif
Hémoglobine	10 mg/mL	1.50	Positif	0.96	Positif	0.54	Positif	0.01	Négatif	0.09	Négatif
Bilirubine	0.4 mg/mL	1.78	Positif	0.90	Positif	0.54	Positif	0.01	Négatif	0.01	Négatif

#### Spécificité de classe d'immunoglobulines

Non applicable. OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test détecte les anticorps totaux sans distinction entre les différentes classes d'immunoglobulines.

## Sensibilité clinique/Pourcentage de concordance positive (PCP)

La sensibilité clinique de OPTI SARS-CoV-2 test a été déterminée à l'aide d'échantillons prélevés sur 155 patients avec un délai connu entre l'apparition des symptômes et la prise de sang et sur 201 patients avec un délai connu après obtention d'un résultat positif au test PCR.

Le tableau suivant présente les résultats de sensibilité clinique en fonction du délai entre le prélèvement et le début des symptômes:

### Anticorps totaux anti-OPTI SARS-CoV-2

Nombre de jours après apparition des symptômes	Nombre total d'échantillons positifs par PCR	Nombre de positifs au test	Nombre de négatifs au test	PCP	IC 95%
≤7	0	0	0	NA	NA
8 à 14	1	0	1	0%	-2.9% ; 82.9%
≥15	154	148	6	96.1%	91.5% ; 98.4%
<b>Total des échantillons</b>	155				

Le tableau suivant présente les résultats de sensibilité clinique en fonction du délai entre le prélèvement et le résultat positif par PCR:

### Anticorps totaux anti-OPTI SARS-CoV-2

Nombre de jours après le résultat de PCR positif	Nombre total d'échantillons positifs par PCR	Nombre de positifs au test	Nombre de négatifs au test	PCP	IC 95%
≤7	2	2	0	100%	28.9% ; 100%
8 à 14	9	8	1	88.9%	54% ; 99.8%
≥15	190	184	6	96.8%	93.1% ; 98.7%
<b>Total des échantillons</b>	201				

## Spécificité Clinique/ Pourcentage de concordance négative (PCN)

La spécificité clinique de OPTI SARS-CoV-2 test a été évaluée à l'aide d'échantillons prélevés en 2019, avant l'apparition du SARS-CoV-2.

### Anticorps totaux anti-OPTI SARS-CoV-2

Donneurs sains	Matrice	Nombre total d'échantillons	Nombre de positifs	Nombre de négatifs	Pourcentage de concordance négative (PCN)	IC 95%
UK 2019	Sérum	98	1	97	99.0%	93.8% ; 100%
UK 2019	Plasma	99	3	96	97.0%	91% ; 99.3%
USA 2019 N° 1	Sérum	50	2	48	96.0%	85.6% ; 99.6%
USA 2019 N° 2	Plasma	50	1	49	98.0%	88.3% ; 100%
	Sains Total	297	7	290	97.6%	95.1% ; 98.9%

### Affection clinique

Collecte de 2019	<b>Variée</b>	<b>108</b>	<b>1</b>	<b>107</b>	<b>99.1%</b>	<b>94.3% ; 100%</b>
------------------	---------------	------------	----------	------------	--------------	---------------------

<b>Total général 2019</b>		<b>405</b>	<b>8</b>	<b>397</b>	<b>98.0%</b>	<b>96.1% ; 99.1%</b>
---------------------------	--	------------	----------	------------	--------------	----------------------

## Equivalence entre matrices

Du sérum prélevé sur tubes secs (bouchon rouge) ou tubes SST, mais également du plasma prélevé sur tubes avec citrate de sodium ou EDTA dipotassique ont été utilisés pendant le développement du test. Au cours d'une étude clinique, des prélèvements sur tubes SST (sérum) et sur tubes EDTA dipotassique (plasma) ont été réalisés en parallèle sur 57 patients différents. Une analyse de régression a été réalisée pour comparer les résultats du plasma K2 EDTA et du sérum SST. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

	<b>K2 EDTA plasma</b>
n	57
K2 EDTA plasma	0,039 - 4,43
Plage de DO (plasma)	0,0103 - 5,04
équation de régression (y = plasma, x = sérum)	-0,010 + 1,0614 x
IC à 95 % de l'ordonnée à l'origine	-0,06342 - 0,04284
IC à 95 % de la pente	1,038 - 1,085
Coefficient de détermination R2	0,9934

## Précision

Une étude de précision a été réalisée dans un laboratoire avec des contrôles du kit (positif et négatif), et des échantillons négatifs, faiblement positifs et positifs intermédiaires. Les échantillons ont été testés en triplicats par 2 opérateurs, 2 fois par jour pendant 5 jours, avec un lot de OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Echantillon	N	DO moyenne	Inter-opérateur		Inter-jour		Inter-séance		Intra-séance		Global	
			ET	%CV	ET	%CV	ET	%CV	ET	%CV	ET	%CV
<b>Contrôle positif du kit</b>	59	0.64	0.01	1.3	0.02	2.6	0.01	1.5	0.02	3.4	0.03	4.7
<b>Contrôle négatif du kit</b>	60	0.01	0.00	9.3	0.00	5.7	0.00	4.9	0.00	15.5	0.00	19.6
<b>Négatif 1</b>	60	0.02	0.00	3.3	0.00	4.6	0.00	3.4	0.00	10.5	0.00	12.4
<b>Positif 1</b>	60	0.35	0.02	5.9	0.02	6.9	0.01	3.0	0.02	5.9	0.04	11.2
<b>Positif 2</b>	60	0.52	0.05	8.7	0.03	6.5	0.02	3.2	0.02	4.2	0.06	12.1
<b>Positif 3</b>	60	0.70	0.01	1.4	0.01	1.4	0.00	0.1	0.01	1.6	0.02	2.6
<b>Positif 4</b>	60	0.88	0.02	2.4	0.05	6.1	0.02	1.9	0.03	3.1	0.07	7.5
<b>Positif 5</b>	60	1.07	0.02	1.7	0.01	1.2	0.00	0.3	0.02	1.4	0.03	2.5

**Pour toute assistance technique sur OPTI SARS-CoV-2 Total Antibody Test:**

OPTI Medical Systems Tel: +1 770 510 4444

IDEXX EE. UU. Tel.: +1 800 490 6784

IDEXX Europa Tel.: +800 727 43399

Comuníquese con su gerente o distribuidor de área de IDEXX o visite nuestro sitio web: [www.optimedical.com](http://www.optimedical.com)

\*IDEXX et OPTI sont des marques commerciales ou des marques commerciales déposées d'IDEXX Laboratories ou de ses filiales aux Etats Unis et/ou d'autres pays. Tous les autres logos, noms de produits et de sociétés sont des marques de leurs détenteurs respectifs.

© 2021 OPTI Medical Systems, Inc. Tous droits réservés.

## Prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2

### Nombre y uso previsto

La prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2 es un formato de captura de antígenos de un solo paso, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA), destinado a la detección cualitativa de anticuerpos totales (incluidas las IgM/IgA/IgG) frente a SARS-CoV-2 en suero y plasma humanos (EDTA K2 y citrato sódico). La prueba de anticuerpos totales OPTI CoV-2 está diseñada para su uso como ayuda para identificar a las personas con una respuesta inmunitaria adaptativa al SARS-CoV-2, lo que indica infección reciente o previa. En este momento, se desconoce cuánto tiempo persisten los anticuerpos después de la infección y si la presencia de anticuerpos confiere inmunidad protectora. El análisis de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2 no debe utilizarse para diagnosticar infección aguda por SARS-CoV-2. Las pruebas se limitan a laboratorios certificados en virtud de las Enmiendas de Mejora de Laboratorios Clínicos de 1988 (CLIA), 42 U.S.C 263a, para realizar pruebas de alta complejidad.

Los resultados son para la detección de anticuerpos totales contra el SARS CoV-2. Los anticuerpos totales (incluidas las IgM/IgA/IgG) contra SARS-CoV-2 son, por lo general, detectables en sangre varios días después de la infección inicial, aunque la duración del tiempo en que los anticuerpos están presentes después de la infección no está bien caracterizada. Las personas pueden tener virus detectables presentes durante varias semanas después de la seroconversión.

Los laboratorios de los Estados Unidos y sus territorios deben informar de todos los resultados positivos a las autoridades de salud pública correspondientes.

Se desconoce la sensibilidad del análisis de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2 en estadios tempranos de la infección. Los resultados negativos no descartan una infección aguda de SARS-CoV-2. Si se sospecha de una infección aguda, es necesario realizar pruebas directas para detectar el SARS-CoV-2. Pueden producirse resultados falsos positivos con el análisis de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2 debido a la reactividad cruzada de anticuerpos preexistentes u otras posibles causas.

El análisis de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2 es solo para su uso bajo la autorización de uso de emergencia de la Administración Estadounidense de Alimentos y medicamentos.

### Antecedentes clínicos

En diciembre de 2019 surgió una nueva enfermedad respiratoria grave denominada COVID-19 (enfermedad por coronavirus de 2019) en Wuhan, China. El agente causante se identificó como un nuevo *betacoronavirus* y se denominó SARS-CoV-2 (síndrome respiratorio agudo grave por coronavirus 2). La rápida propagación del virus dio lugar a una pandemia mundial de COVID-19 en 2020.

El SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo. Este virus encapsulado es el séptimo coronavirus descrito que se sabe que causa enfermedad en humanos. Los otros coronavirus que infectan a humanos incluyen cuatro virus menos virulentos asociados a resfriados comunes (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 y HCoV- HKU1) y dos cepas adicionales de origen zoonótico que causan síntomas respiratorios graves que pueden provocar la muerte: SARS-CoV y MERS-CoV (síndrome respiratorio de Oriente Medio por coronavirus).

La mayoría de los pacientes con COVID-19 muestran síntomas respiratorios de leves a graves con fiebre, tos y mialgia o fatiga. Algunos pacientes con infección confirmada son asintomáticos. Las formas más graves de la enfermedad están asociadas a neumonía aguda, dificultad respiratoria, tormentas de citocinas, así como disfunciones multiorgánicas. La transmisión se produce principalmente por inhalación de gotículas respiratorias y contacto directo o indirecto con personas infectadas. El período de incubación informado hasta el momento varía generalmente entre 1 y 14 días (en su mayoría 3-7 días).

Las proteínas estructurales del SARS-CoV-2 incluyen la envoltura (E), la membrana (M), la nucleocápside (N) y las proteínas de la espícula (S). El dominio de unión al receptor (receptor binding domain, RBD) de la proteína de la espícula es el antígeno de elección para un ensayo serológico debido a su elevada inmunogenicidad. Además, se sabe que el RBD es la diana de una respuesta de anticuerpos neutralizantes que puede conferir protección frente a futuras infecciones víricas.

En ausencia de vacunas y tratamientos antivíricos, la disponibilidad de herramientas diagnósticas precisas es clave para limitar la transmisión del virus. La respuesta de anticuerpos al SARS-CoV-2 se detecta en la mayoría de las personas infectadas en distintos momentos después del inicio de los síntomas. Las pruebas de anticuerpos pueden ser de gran valor junto con las pruebas de PCR para aumentar la sensibilidad diagnóstica general y desplegar una respuesta eficiente a la pandemia. Las pruebas serológicas pueden ayudar a identificar a las personas infectadas en un estadio posterior de la enfermedad cuando una prueba de PCR es negativa. Además, el uso de pruebas serológicas puede ayudar a comprender el estado de propagación del virus y el nivel de inmunidad dentro de una comunidad determinada.

## Descripciones y principios

La prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2 es un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2 en muestras de suero y plasma humanos. La prueba detecta anticuerpos totales, incluidas las IgG, IgM e IgA.

La proteína recombinante del dominio de unión al receptor (RBD) del SARS-CoV-2 se recubre en los pocillos de la placa de microtitulación y representa la fase sólida del ensayo. El conjugado del dominio de unión al receptor del SARS-CoV-2 (RBD) con la proteína peroxidasa de rábano picante (Horseradish Peroxidase, HRPO) se utiliza como detector del ensayo. En el paso 1 del ensayo, las muestras se diluyen 1:2 con conjugado RBD-HRPO. Si hay presencia de anticuerpos del SARS-CoV-2, se unirán al conjugado RBD-HRPO para formar un complejo. En el paso 2 del ensayo, las muestras diluidas se transfieren a pocillos en placas de microtitulación que contienen RBD inmovilizado. Si están presentes, los complejos de anticuerpos contra SARS-CoV-2/RBD-HRPO se unirán al RBD inmovilizado. Después de un paso de lavado, se añade el sustrato TMB que reacciona con los complejos unidos para producir un color azul. La reacción de color se detiene con la adición de una solución de parada acidificada, cambiando el color de azul a amarillo.

Se leen las densidades ópticas (A450 nm) y los resultados se calculan generando un cociente entre muestra y control positivo (M/P). El cociente muestra-positivo se calcula utilizando la absorbancia obtenida con la muestra de prueba y un control positivo (A450 nm), corregida para la absorbancia del control negativo. El desarrollo del color indica la presencia de anticuerpos SARS-CoV-2 en la muestra de prueba.

### Reactivos

### Volumen

1	Placas recubiertas de antígeno SARS-CoV-2	5
2	Control positivo	1 x 3,6 ml
3	Control negativo	1 x 3,6 ml
4	RBD conjugado	1 x 30 ml
A	Solución de sustrato	1 x 60 ml
B	Solución de parada	1 x 60 ml
C	Concentrado de lavado (10X)	2 x 235 ml
<b>Otros componentes:</b> Bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable		1

**Nota:** Consulte la tabla al final del prospecto para ver una descripción de los símbolos usados en el prospecto y las etiquetas.



## Almacenamiento

Almacenar los reactivos a entre 2 y 8 °C. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad, siempre que se hayan almacenado correctamente.

## Materiales necesarios pero no proporcionados

- Placas de dilución de muestras o tubos de dilución en gradilla
- Micropipetas de precisión o micropipetas de dispensación múltiple con volúmenes de pipeteo de entre 50  $\mu$ l y 100  $\mu$ l
- Utilizar únicamente agua destilada o desionizada para la preparación de los reactivos utilizados en la prueba
- Probeta o equivalente para preparar 1X de solución de lavado
- Temporizador de laboratorio
- Cubiertas de placa de plástico
- Cámara húmeda
- Lector de microplacas de 96 pocillos (filtro de 450 nm, filtro de referencia entre 630 nm y 650 nm)
- Lavador de microplacas (sistema manual, semiautomático o automático)

La prueba de anticuerpos OPTI SARS-CoV-2 se ha validado utilizando equipos de laboratorio generalmente disponibles a través de los principales proveedores de equipos de laboratorio ([www.vwr.com](http://www.vwr.com), [www.fisherscientific.com](http://www.fisherscientific.com) por ejemplo).

## Precauciones y advertencias

### Generalidades

- El ensayo es para uso de diagnóstico in vitro (in vitro diagnostic, IVD) solo en virtud de la Autorización de uso de emergencia de la FDA.
- Solo para uso con receta.
- Esta prueba no ha sido revisada por la FDA.
- Los resultados negativos no descartan una infección aguda de SARS-CoV-2. Si se sospecha de una infección aguda, es necesario realizar pruebas directas para detectar el SARS-CoV-2.
- Los resultados de las pruebas de anticuerpos no deben utilizarse para diagnosticar o excluir una infección aguda de SARS-CoV-2.
- Los resultados positivos pueden deberse a una infección pasada o presente con cepas de coronavirus que no son del tipo SARS-CoV-2, como el coronavirus HKU1, NL63, OC43 o 229E.
- Manipular todas las muestras como infecciosas mediante procedimientos de laboratorio seguros. Consultar las Pautas provisionales de bioseguridad de laboratorio para la manipulación y el procesamiento de muestras asociadas con SARS-CoV-2: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- Utilizar equipo de protección individual (EPI) acorde con las pautas actuales para la manipulación de las muestras potencialmente infecciosas.
- No comer, beber, fumar, aplicar cosméticos ni manipular lentes de contacto en zonas en las que se manipulen los reactivos y las muestras humanas.
- Las modificaciones de los reactivos del ensayo, el protocolo del ensayo o la instrumentación no están permitidas e infringen la autorización de uso de emergencia del producto.
- Desechar los residuos de conformidad con las normativas locales, estatales y federales.
- Los laboratorios de los Estados Unidos y sus territorios deben informar de todos los resultados positivos a las autoridades de salud pública correspondientes.
- Consultar el final de este prospecto para ver las advertencias sobre peligros y precauciones de los reactivos.

## **Recogida de muestras**

Los tubos de recogida de muestras de sangre no se incluyen en el kit de prueba. Obtener muestras de sangre mediante venopunción y centrifugación de acuerdo con las directrices de laboratorio establecidas para generar suero o plasma. Consultar las directrices de CLSI GP41-A6 y GP44-A4 para la recogida, procesamiento y manipulación de muestras.

## **Transporte de muestras**

Las muestras deben ser empaquetadas, enviadas y transportadas de acuerdo con la edición actual del Reglamento de Mercancías Peligrosas de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (International Air Transport Association, IATA). Seguir las normativas de envío para Sustancias biológicas, Categoría B de la ONU 3373 al enviar muestras de posible 2019-nCoV. Almacenar las muestras a 2–8°C y enviarlas en paquetes de hielo.

## **Almacenamiento de muestras**

Las muestras se pueden almacenar a 2–8°C durante un máximo de 72 horas después de la recogida. Si se prevé un retraso en la extracción, almacenar las muestras a -20°C o menos.

## **Prácticas de laboratorio**

- Se obtendrán resultados óptimos mediante el estricto cumplimiento de este protocolo. Es necesario pipetear, cronometrar y lavar con cuidado durante todo este procedimiento para mantener la precisión y exactitud. Utilizar una punta de pipeta distinta para cada muestra y control.
- No exponer la solución de TMB a una luz fuerte ni a ningún oxidante. Manipular la solución de TMB con vidrio limpio o material de plástico.
- Todos los residuos deben descontaminarse adecuadamente antes de desecharlos. Deshacerse del contenido conforme a las normativas locales, regionales y nacionales.
- Debe tenerse cuidado para evitar la contaminación de los componentes del kit. No verter los reactivos no utilizados de nuevo en los recipientes.
- No utilizar el kit después de la fecha de caducidad y no mezclar componentes de kits con números de lote diferentes.

## **Preparación de la solución de lavado**

El concentrado de lavado (10X) debe alcanzar 18–25°C y mezclarse para asegurar la disolución de cualquier sal precipitada. El concentrado de lavado (10X) debe diluirse 1/10 con agua destilada/desionizada antes de su uso (p. ej., 100 ml de concentrado más 900 ml de agua).

## **Preparación de muestras y controles**

Diluir las muestras de análisis y los controles dos veces (1:2) con conjugado diluyendo 60  $\mu$ l de muestra con 60  $\mu$ l de conjugado. Asegurarse de cambiar las puntas para cada muestra y registrar la posición de cada muestra. Las muestras deben mezclarse antes de dispensarlas en la placa recubierta con CoV-2. La mezcla resultante se puede conservar durante un máximo de 60 minutos a temperatura ambiente (18–25°C) antes de transferirla a la placa de microtitulación recubierta de antígeno.

## Procedimiento de análisis

Todos los reactivos deben alcanzar una temperatura de 18–25°C antes de ser utilizados. Invertir o girar suavemente los reactivos para mezclarlos. Volver a poner todos los componentes del ensayo a 2–8°C después del uso. Para todos los pasos de incubación, para minimizar la evaporación, cubrir las placas con cubiertas de placa de plástico y colocarlas en una cámara o receptáculo húmedos.

- 1 Obtener placa(s) recubiertas de antígeno y registrar la posición de la muestra. Si se usan las placas de manera parcial, sacar solo los pocillos suficientes para las muestras que se vayan a analizar. Colocar el resto de pocillos, junto con el desecante, en la bolsa adicional con cierre hermético proporcionada y almacenarla de nuevo a 2–8°C.
- 2 Dispensar 100 µl de control negativo (CN) DILUIDO (DILUIDO 1:2) en pocillos duplicados.
- 3 Dispensar 100 µl de control positivo (CP) DILUIDO (DILUIDO 1:2) en pocillos duplicados.
- 4 Dispensar 100 µl de muestra DILUIDA (DILUIDA 1:2) en pocillos adecuados.
- 5 Incubar durante 60 minutos a 18–25°C.
- 6 Retirar la solución y lavar cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado 5 veces. Evitar que se seque la placa entre lavados de placa y antes de añadir el siguiente reactivo. Golpear suavemente cada placa sobre un material absorbente después del último lavado para eliminar el líquido de lavado residual.
- 7 Dispensar 100 µl de sustrato TMB en cada pocillo.
- 8 Incubar durante 15 minutos a 18–25°C.
- 9 Dispensar 100 µl de solución de parada en cada pocillo.
- 10 Medir y registrar la A(450) para muestras y controles. Alternativamente, las placas pueden leerse a 450 nm utilizando un filtro de referencia entre 630 nm y 650 nm.

### 11 Cálculos:

#### Controles

$$CN\bar{x} = \frac{A1 A(450) + A2 A(450)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{A3 A(450) + A4 A(450)}{2}$$

#### Criterios de validez

$$CN\bar{x} < 0,150$$

$$0,250 \leq CP\bar{x} < 1,00$$

En el caso de ensayos no válidos, debe sospecharse de la técnica y el ensayo debe repetirse tras una revisión exhaustiva del prospecto.

## Muestras

$$M/P = \frac{\text{Muestra A(450)} - \text{CN}\bar{x} \text{ A(450)}}{\text{CP}\bar{x} - \text{CN}\bar{x}}$$

La presencia o ausencia de anticuerpos contra el antígeno se determina calculando primero el valor de M/P de cada muestra.

## 12 Interpretación:

Negativa

$$M/P < 0,25$$

Positiva

$$M/P \geq 0,25$$

## Limitaciones

- Las características de rendimiento del ensayo no se han establecido para la determinación de resultados visuales.
- Las características de rendimiento del ensayo no se han establecido para matrices distintas de las especificadas.
- El ensayo no debe utilizarse para diagnosticar o excluir una infección aguda. Los resultados no están pensados para utilizarse como la única base para las decisiones de gestión de pacientes.
- Un resultado positivo puede no indicar infección previa por SARS-CoV-2. Se debe considerar otra información, incluidos los antecedentes clínicos y la prevalencia local de la enfermedad, al evaluar la necesidad de una segunda prueba serológica, pero diferente, para confirmar una respuesta inmunitaria.
- Un resultado negativo para un sujeto individual indica ausencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 detectables.
- Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como única base para las decisiones de gestión del paciente. Puede producirse un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 presente en la muestra está por debajo de los límites de detección del análisis o si los anticuerpos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge la muestra.
- Se desconoce en este momento si la presencia de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 confiere inmunidad.
- Pueden producirse resultados falsos positivos debido a la reactividad cruzada con anticuerpos contra otros coronavirus.
- No se han establecido las características del rendimiento del ensayo para las pruebas de sangre del cordón umbilical, para las pruebas de neonatos, para el cribado prenatal o para el cribado de la población general.
- Las muestras hemolizadas no deben analizarse con este ensayo.
- Los resultados de los pacientes inmunodeprimidos deben interpretarse con precaución.
- El ensayo no se ha evaluado con muestras recogidas <14 días después del inicio de los síntomas.
- Los resultados del ensayo deben interpretarse únicamente en el contexto de otros hallazgos analíticos y del estado clínico total del paciente.

## Características de rendimiento

### Sensibilidad analítica y especificidad

#### Reactividad/Inclusividad

Aunque se han identificado mutaciones en el genoma del SARS-CoV-2 a medida que el virus se ha extendido, no se han descrito cepas serológicamente únicas en relación con el virus aislado originalmente (esta investigación es excepcionalmente limitada en la actualidad).

#### Reactividad cruzada

Las siguientes muestras del estado de la enfermedad se analizaron en la prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2 para evaluar la reactividad cruzada. Una (1) muestra de 108 dio un resultado positivo en la prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Afección clínica	Número de pruebas	Número de positivos
Coronavirus humano OC43	12	0
Coronavirus humano 229E	12	0
Coronavirus humano HKU1	12	0
Coronavirus humano NL63	12	0
Haemophilus influenzae	7	0
Mycoplasma pneumoniae	4	0
IgG antigripal A	5	1
IgG antigripal B	5	0
IgG antiviral respiratorio sincitial	5	0
antivirus de la hepatitis A	5	0
antivirus de la hepatitis B	5	0
antivirus de la hepatitis C	5	0
Seropositivo para VIH	10	0
RF	5	0
Anticuerpos antinucleares (AAN)	4	0
<b>Total</b>	<b>108</b>	<b>1</b>

#### Sustancias interferentes

Se adicionaron muestras de SARS-CoV-2 negativas y positivas para anticuerpos que abarcan el intervalo dinámico de la prueba con los siguientes materiales, a las concentraciones observadas y se analizaron en la prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2. No se observaron falsos positivos ni falsos negativos.

Sustancia analizada	Conc.	Muestra positiva		Muestra positiva		Muestra positiva		Muestra negativa		Muestra negativa	
		M/P	Resultado	M/P	Resultado	M/P	Resultado	M/P	Resultado	M/P	Resultado
Control	NA	1,66	Positiva	0,92	Positiva	0,58	Positiva	0,01	Negativa	0,01	Negativa
Colesterol	30 mg/ml	1,66	Positiva	1,10	Positiva	0,62	Positiva	0,01	Negativa	0,00	Negativa
Hemoglobina	10 mg/ml	1,50	Positiva	0,96	Positiva	0,54	Positiva	0,01	Negativa	0,09	Negativa
Bilirrubina	0,4 mg/ml	1,78	Positiva	0,90	Positiva	0,54	Positiva	0,01	Negativa	0,01	Negativa

#### Especificidad de clase

No procede: la prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2 está destinada a la detección de anticuerpos totales sin diferenciación entre inmunoglobulinas diferentes.

## Sensibilidad clínica/Porcentaje de acuerdo positivo (Positive Percent Agreement, PPA)

La sensibilidad clínica se determinó evaluando la prueba OPTI SARS-CoV-2 con muestras recogidas de un total de 155 pacientes en los que se observó el tiempo entre el inicio de los síntomas y la recogida de sangre y de 201 pacientes en los que se registró el tiempo después de la PCR.

En la tabla siguiente se describe la sensibilidad clínica en el momento de la obtención de muestras después de la aparición de los síntomas:

### Resultados de anticuerpos totales de OPTI SARS-CoV-2

Días desde la aparición de los síntomas	Total de muestras positivas de PCR	Número de reactivas	Número de no reactivas	PPA	IC de 95 %
≤7	0	0	0	NA	NA
8 a 14	1	0	1	0%	-2,9% ; 82,9%
≥15	154	148	6	96,1%	91,5% ; 98,4%
<b>Total de muestras</b>	<b>155</b>				

En la tabla siguiente se describe la sensibilidad clínica en el momento de obtención de las muestras después del resultado positivo de la PCR:

### Resultados de anticuerpos totales de OPTI SARS-CoV-2

Días desde el resultado positivo de PCR	Total de muestras positivas de PCR	Número de reactivas	Número de no reactivas	PPA	IC de 95 %
≤7	2	2	0	100%	28,9% ; 100%
8 a 14	9	8	1	88,9%	54% ; 99,8%
≥15	190	184	6	96,8%	93,1% ; 98,7%
<b>Total de muestras</b>	<b>201</b>				

## Especificidad clínica/Porcentaje de acuerdo negativo (Negative Percent Agreement, NPA)

La especificidad clínica se determinó evaluando la prueba OPTI SARS-CoV-2 con muestras recogidas en 2019, antes de la aparición de SARS-CoV-2.

### Resultados de anticuerpos totales de OPTI SARS-CoV-2

Donantes sanos	Matriz	Total de muestras	Número de reactivas	Número de no reactivas	Porcentaje de acuerdo negativo (NPA)	IC de 95 %
RU 2019	Suero	98	1	97	99,0%	93,8% ; 100%
RU 2019	Plasma	99	3	96	97,0%	91% ; 99,3%
EE, UU, 2019 n.º 1	Suero	50	2	48	96,0%	85,6% ; 99,6%
EE, UU, 2019 n.º 2	Plasma	50	1	49	98,0%	88,3% ; 100%
	<b>Total sanos</b>	<b>297</b>	<b>7</b>	<b>290</b>	<b>97,6%</b>	<b>95,1% ; 98,9%</b>

Afección clínica						
Recogidas de 2019	<b>Varios</b>	<b>108</b>	<b>1</b>	<b>107</b>	<b>99,1%</b>	<b>94,3% ; 100%</b>
<b>Total General 2019</b>		<b>405</b>	<b>8</b>	<b>397</b>	<b>98,0%</b>	<b>96,1% ; 99,1%</b>

## Equivalencia de matriz

El suero derivado de las recogidas con tapón rojo y SST, así como el plasma derivado de citrato de sodio y EDTA dipotásico se contabilizaron durante el desarrollo del ensayo. Para un estudio clínico, se recogieron tubos emparejados de suero SST y EDTA dipotásico de 57 pacientes únicos. Se realizó un análisis de regresión para comparar el plasma EDTA K2 con el suero SST; los resultados se muestran en la figura siguiente.

	Plasma EDTA K2
n	57
Intervalo de DO (suero)	0,039-4,43
Intervalo DO (plasma)	0,0103-5,04
Ecuación de regresión (y = plasma, x = suero)	-0,010 + 1,0614 x
IC 95 % de la intersección	-0,06342 - 0,04284
IC 95 % de la pendiente	1,038 - 1,085
Coefficiente de determinación R2	0,9934

## Análisis de precisión

Se realizó un estudio de precisión en un único centro e incluyó controles del kit (negativos y positivos), junto con muestras negativas, positivas débiles y moderadamente positivas. Las muestras se analizaron por triplicado por 2 operadores, 2 veces al día durante 5 días, utilizando un lote de la prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2. Los resultados se presentan en la tabla siguiente.

Muestra	N	DO media	Entre operadores		Entre días		Entre procesos		Dentro del proceso		General	
			DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV
<b>Control del kit positivo</b>	59	0,64	0,01	1,3	0,02	2,6	0,01	1,5	0,02	3,4	0,03	4,7
<b>Control del kit negativo</b>	60	0,01	0,00	9,3	0,00	5,7	0,00	4,9	0,00	15,5	0,00	19,6
<b>Negativo 1</b>	60	0,02	0,00	3,3	0,00	4,6	0,00	3,4	0,00	10,5	0,00	12,4
<b>Positivo 1</b>	60	0,35	0,02	5,9	0,02	6,9	0,01	3,0	0,02	5,9	0,04	11,2
<b>Positivo 2</b>	60	0,52	0,05	8,7	0,03	6,5	0,02	3,2	0,02	4,2	0,06	12,1
<b>Positivo 3</b>	60	0,70	0,01	1,4	0,01	1,4	0,00	0,1	0,01	1,6	0,02	2,6
<b>Positivo 4</b>	60	0,88	0,02	2,4	0,05	6,1	0,02	1,9	0,03	3,1	0,07	7,5
<b>Positivo 5</b>	60	1,07	0,02	1,7	0,01	1,2	0,00	0,3	0,02	1,4	0,03	2,5

**Para obtener asistencia técnica con la prueba de anticuerpos totales OPTI SARS-CoV-2:**

OPTI Medical Systems Tel.: +1 770 510 4444

IDEXX EE. UU. Tel.: +1 800 490 6784

IDEXX Europa Tel.: +800 727 43399

Comuníquese con su representante local o distribuidor de área de IDEXX o visite nuestro sitio web:

[www.optimedical.com](http://www.optimedical.com)

\*IDEXX y OPTI son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de IDEXX Laboratories o sus filiales en los Estados Unidos o en otros países. Todos los demás nombres de productos y empresas, y logotipos son marcas registradas de sus propietarios correspondientes..

© 2021 OPTI Medical Systems, Inc. Todos los derechos reservados.



## Teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2

### Nome e uso pretendido

O ensaio de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 é um formato de captura de antígeno em uma única etapa, ensaio imunoadsorvente de ligação enzimática (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA), destinado à detecção qualitativa de anticorpos totais (incluindo IgM/IgA/IgG) para SARS-CoV-2 no soro e no plasma humanos (K2 EDTA e citrato de sódio). O ensaio de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 destina-se ao uso como auxílio na identificação de indivíduos com uma resposta imune adaptativa ao SARS-CoV-2, indicando infecção recente ou anterior. Neste momento, não se sabe por quanto tempo os anticorpos persistem depois da infecção e se a presença de anticorpos confere imunidade protetora. O ensaio de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 não deve ser usado para diagnosticar infecção aguda por SARS-CoV-2. Os testes são limitados a laboratórios certificados sob as Emendas de melhoria do laboratório clínico de 1988 (Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, CLIA), 42 U.S.C 263a, para realizar testes de alta complexidade.

Os resultados são para a detecção de anticorpos totais contra SARS CoV-2. Os anticorpos totais (incluindo IgM/IgA/IgG) contra o SARS-CoV-2 geralmente são detectáveis no sangue vários dias depois da infecção inicial, embora a duração do tempo em que os anticorpos ficam presentes depois da infecção não seja bem caracterizada. Os indivíduos podem apresentar o vírus detectável por várias semanas depois da soroconversão.

Os laboratórios dos Estados Unidos e seus territórios devem informar todos os resultados positivos às autoridades sanitárias públicas aplicáveis.

A sensibilidade do ensaio de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 logo depois da infecção é desconhecida. Os resultados negativos não excluem a infecção aguda por SARS-CoV-2. Se houver suspeita de infecção aguda, é necessário realizar testes diretos para SARS-CoV-2.

Podem ocorrer resultados falsos positivos com o ensaio de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 devido à reatividade cruzada de anticorpos preexistentes ou outras causas possíveis.

O ensaio de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 destina-se apenas ao uso sob a Autorização de uso emergencial da Agência de Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA.

### Informações clínicas

Uma nova doença respiratória grave chamada COVID-19 (doença do coronavírus 2019) surgiu em dezembro de 2019 em Wuhan, China. O agente causador foi identificado como um novo betacoronavírus e chamado de SARS-CoV-2 (Síndrome respiratória aguda grave por coronavírus 2). A rápida disseminação do vírus resultou em uma pandemia de COVID-19 em 2020.

SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples de sentido positivo. Esse vírus envelopado é o sétimo coronavírus descrito, conhecido por causar doença em humanos. Os outros coronavírus que infectam seres humanos incluem quatro vírus menos virulentos associados a resfriados comuns (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 e HCoV- HKU1 e duas cepas adicionais de origem zoonótica que causam sintomas respiratórios graves, o que pode resultar em morte: SARS-CoV e MERS-CoV (coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio).

A maioria dos pacientes com COVID-19 apresenta sintomas respiratórios leves a graves com febre, tosse e mialgia ou fadiga. Alguns pacientes com infecção confirmada são assintomáticos. As formas mais graves da doença estão associadas com pneumonia aguda, angústia respiratória, tempestades de citocinas, bem como disfunções de vários órgãos. A transmissão ocorre principalmente por inalação de gotículas respiratórias e contato direto ou indireto com indivíduos infectados. O período de incubação relatado até o momento varia geralmente entre 1 e 14 dias (principalmente de 3 a 7 dias).

As proteínas estruturais do SARS-CoV-2 incluem as proteínas de envelope (E), de membrana (M), do nucleocapsídeo (N) e espícula (S). O domínio de ligação ao receptor (RBD) da proteína espícula é o antígeno de escolha para um ensaio sorológico devido à sua alta imunogenicidade. Além disso, o RBD é conhecido por ser o alvo de uma resposta de anticorpos neutralizantes que pode conferir proteção contra infecção viral futura.

Na ausência de vacina e de tratamento antiviral, a disponibilidade de ferramentas diagnósticas precisas é fundamental para limitar a transmissão viral. A resposta de anticorpos ao SARS-CoV-2 é detectada na maioria dos indivíduos infectados em tempos variados depois do início dos sintomas. O teste de anticorpos pode ser de grande valor em conjunto com o teste de PCR, para aumentar a sensibilidade geral de diagnóstico e implementar uma resposta eficiente à pandemia. O teste sorológico pode ajudar a identificar pessoas infectadas em um estágio posterior da doença, quando um teste de PCR for negativo. Além disso, o uso de testes sorológicos pode ajudar a entender o estado da disseminação do vírus e o nível de imunidade dentro de uma determinada comunidade.

## **Descrições e princípios**

O teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 é um ensaio imunoabsorvente de ligação enzimática (ELISA) para a detecção de anticorpos contra SARS-CoV-2 em amostras de soro e de plasma humanos. O teste detecta anticorpos totais, incluindo IgG, IgM e IgA.

A proteína recombinante do domínio de ligação ao receptor do SARS-CoV-2 (RBD) é revestida em poços de placas de microtitulação e representa a fase sólida do ensaio. O conjugado de proteína-peroxidase de rábano (HRPO) do domínio de ligação ao receptor do SARS-CoV-2 (RBD) é usado como detector de ensaio. Na etapa 1 do ensaio, as amostras são diluídas na proporção de 1:2 com conjugado RBD-HRPO. Se anticorpos SARS-CoV-2 estiverem presentes, eles se ligarão ao conjugado RBD-HRPO para formar um complexo. Na etapa 2 do ensaio, as amostras diluídas são então transferidas para poços de microtitulação contendo RBD imobilizado. Se presentes, complexos de anticorpo SARS-CoV-2/RBD-HRPO se ligarão/se conectarão ao RBD imobilizado. Depois de uma etapa de lavagem, o substrato TMB é adicionado e reage com complexos ligados para gerar uma cor azul. A reação de cor é então interrompida com a adição de uma solução de interrupção acidificada, mudando a cor de azul para amarelo.

As densidades ópticas (A450 nm) são lidas e os resultados são calculados gerando uma proporção amostra/controlado positivo (S/P). A proporção amostra/positivo é calculada usando a absorbância obtida com a amostra de teste e um controle positivo (A450 nm), corrigido para a absorbância do controle negativo. O desenvolvimento de cores indica a presença de anticorpos SARS-CoV-2 na amostra de teste.

<b>Reagentes</b>		<b>Volume</b>
1	Placas revestidas com antígeno de SARS-CoV-2	5
2	Controle positivo	1 x 3.6 mL
3	Controle negativo	1 x 3.6 mL
4	Acrescente o conjugado de RBD	1 x 30 mL
A	Solução de substrato	1 x 60 mL
B	Solução de paragem	1 x 60 mL
C	Concentrado de lavagem (10X)	2 x 235 mL
<b>Outros componentes:</b> embalagem tipo ziplock.		1

**Observação:** Ver a tabela no final do inserte para uma descrição dos símbolos utilizados no inserte e nos rótulos deste kit.

## Armazenamento

Armazene os reagentes a 2–8°C. Os reagentes são estáveis até a data de expiração, contanto que tenham sido armazenados adequadamente.

## Materiais requeridos, mas não fornecidos

- Placas de diluição de amostras ou tubos de diluição em rack
- Micropipetas de precisão ou micropipetas de multidispensação capazes de pipetar volumes entre 50 µl e 100 µl
- Use somente água destilada ou deionizada para a preparação dos reagentes a serem usados no teste
- Cilindro graduado ou equivalente para preparar 1X de solução de lavagem
- Temporizador de laboratório
- Tampas de placa de plástico
- Câmara úmida
- Leitor de microplacas de 96 poços (filtro de 450 nm, filtro de referência entre 630 nm e 650 nm)
- Arruela de microplacas (sistema manual, semiautomático ou automático)

O teste de anticorpos OPTI SARS-CoV-2 foi validado usando equipamentos laboratoriais geralmente disponíveis pelos principais fornecedores de equipamentos laboratoriais ([www.vwr.com](http://www.vwr.com), [www.fisherscientific.com](http://www.fisherscientific.com) como exemplos).

## Advertências e precauções

### Gerais

- O ensaio é para diagnóstico in vitro (in vitro diagnostic, IVD) somente conforme Autorização de uso emergencial da FDA.
- Somente para uso com prescrição.
- Este teste não foi analisado pela FDA.
- Os resultados negativos não excluem a infecção aguda por SARS-CoV-2. Se houver suspeita de infecção aguda, é necessário realizar testes diretos para SARS-CoV-2.
- Os resultados dos testes de anticorpos não devem ser usados para diagnosticar ou excluir infecção aguda por SARS-CoV-2.
- Os resultados positivos podem ser decorrentes de infecção passada ou presente com cepas do coronavírus não-SARS-CoV-2, como o coronavírus HKU1 NL63, OC43 ou 229E.
- Manuseie todas as amostras como se fossem infecciosas usando procedimentos laboratoriais seguros. Consulte as Diretrizes provisórias de biossegurança laboratorial para manipulação e processamento de amostras associadas ao SARS-CoV-2:  
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- Use equipamento de proteção individual (EPI) condizente com as diretrizes atuais para o manuseio de amostras possivelmente infecciosas.
- Não coma, não beba, não fume, não aplique cosméticos nem manuseie lentes de contato em áreas em que são manipulados reagentes e amostras humanas.
- Modificações nos reagentes, no protocolo ou na instrumentação de teste não são permitidas e violam a Autorização de uso emergencial do produto.
- Descarte os resíduos de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais.
- Os laboratórios dos Estados Unidos e seus territórios devem informar todos os resultados positivos às autoridades sanitárias públicas aplicáveis.
- Consulte os avisos de precaução e perigos do reagente no final deste folheto.

### Coleta de amostras

Os tubos de coleta de amostra de sangue não estão incluídos no kit de teste. Colete amostras de sangue por punção venosa e centrifugue de acordo com as diretrizes laboratoriais estabelecidas para gerar soro ou plasma. Consulte as diretrizes CLSI GP41-A6 e GP44-A4 para coleta, processamento e manuseio de amostras.

### Transporte de amostras

As amostras devem ser embaladas, enviadas e transportadas de acordo com a edição atual do Regulamento de mercadorias perigosas da Associação Internacional de Transporte Aéreo (International Air Transport Association, IATA). Siga os regulamentos de remessa para Substâncias biológicas, categoria B (UN 3373) ao enviar possíveis amostras de 2019-nCoV. Armazene as amostras entre 2 °C e 8 °C e envie-as em sacos de gelo.

## **Armazenamento de amostras**

As amostras podem ser armazenadas de 2–8°C por até 72 horas após a coleta. Se for esperado um atraso nos testes, armazene as amostras a -20°C ou menos.

## **Práticas de laboratório**

- Os resultados ideais serão alcançados obtendo adesão rigorosa à este protocolo. É necessário ter cuidado para fazer a pipetagem, temporização e lavagem ao longo deste procedimento para manter a precisão e exatidão. Use uma ponta de pipeta separada para cada amostra e controle.
- Não exponha a solução TMB à forte iluminação ou quaisquer agentes oxidantes. Manuseie a solução TMB com itens de vidro ou plástico limpos.
- Todos os resíduos devem ser descontaminados de maneira adequada antes do descarte. Descarte esse conteúdo de acordo com as regulações locais, regionais e nacionais.
- Tome cuidado para evitar a contaminação dos componentes do kit. Não despeje reagentes não utilizados de volta aos recipientes.
- Não use kits vencidos e não misture componentes de kits com números de lote diferentes.

## **Preparação da solução de lavagem**

O concentrado de lavagem (10X) deve ser trazido a uma temperatura entre 18–25°C e misturado para garantir a dissolução de quaisquer sais precipitados. O concentrado de lavagem (10X) deve ser diluído 1/10 com água destilada/deionizada antes do uso (por exemplo, 100 mL de concentrado, mais 900 mL de água).

## **Preparação de amostras e de controles**

Dilua as amostras de teste e de controle duas vezes (1:2) com conjugado, diluindo 60  $\mu$ L da amostra com 60  $\mu$ L de conjugado. Certifique-se de trocar as pontas para cada amostra e de registrar a posição de cada amostra. As amostras devem ser misturadas antes de serem dispensadas na placa revestida com CoV-2. A mistura resultante pode ser mantida por um máximo de 60 minutos em temperatura ambiente (18–25°C) antes da transferência para a placa de microtitulação revestida com antígeno.

## Procedimento de teste

Todos os reagentes devem atingir 18–25°C antes do uso. Misture os reagentes invertendo ou agitando suavemente. Retorne todos os componentes do ensaio entre 2–8°C depois do uso. Para todas as etapas de incubação, para minimizar a evaporação, cubra as placas com coberturas de placa de plástico e coloque em uma câmara ou compartimento úmido.

- 1 Obtenha placa(s) revestidas com antígeno e registre a posição da amostra. Se usar placas parciais, remova apenas os poços suficientes para as amostras a serem testadas. Coloque os poços restantes, juntamente com o dessecante, no saco ziplock extra fornecido e retorne a 2–8°C.
- 2 Distribua 100 µl de controle negativo DILUÍDO (NC) (DILUÍDO 1:2) em poços duplicados.
- 3 Distribua 100 µl de controle positivo DILUÍDO (PC) (DILUÍDO 1:2) em poços duplicados.
- 4 Distribua 100 µl da amostra DILUÍDA (DILUÍDA 1:2) nos poços apropriados.
- 5 Incube por 60 minutos entre 18–25°C.
- 6 Remova a solução e lave cada poço com aproximadamente 300 µl de solução de lavagem 5 vezes. Evite a secagem da placa entre as lavagens da placa e antes da adição do próximo reagente. Bata bem em cada placa sobre o material absorvente depois da lavagem final para remover qualquer fluido de lavagem residual.
- 7 Coloque 100 µL do substrato TMB em cada poço.
- 8 Incube por 15 minutos entre 18–25°C.
- 9 Dispense 100 µL of Stop Solution into each well.
- 10 Meça e registre o A(450) para amostras e controles. Alternativamente, as placas podem ser lidas a 450 nm usando um filtro de referência entre 630 nm e 650 nm.

### 11 Cálculos:

#### Controles

$$NC\bar{x} = \frac{A1 A(450) + A2 A(450)}{2}$$

$$PC\bar{x} = \frac{A3 A(450) + A4 A(450)}{2}$$

#### Critérios de validade

$$NC\bar{x} < 0.150$$

$$0.250 \leq PC\bar{x} < 1.00$$

Para ensaios inválidos, a técnica pode ser suspeita e o ensaio deve ser repetido depois de uma revisão minuciosa do folheto informativo.

#### Amostras

$$S/P = \frac{\text{Amostra } A(450) - NC\bar{x} A(450)}{PC\bar{x} - NC\bar{x}}$$

A presença ou ausência de anticorpo para o antígeno é determinada primeiramente pelo cálculo do valor de S/P de cada amostra.

## 12 Interpretação:

Negativo

Positivo

S/P < 0.25

S/P ≥ 0.25

### Limitações

- As características de desempenho do ensaio não foram estabelecidas para determinação de resultado visual.
- As características de desempenho do ensaio não foram estabelecidas para matrizes além daquelas especificadas.
- O ensaio não deve ser usado para diagnosticar ou excluir infecção aguda. Os resultados não se destinam ao uso como única base para decisões de tratamento dos pacientes.
- Um resultado positivo pode não indicar infecção anterior por SARS-CoV-2. Considere outras informações, incluindo histórico clínico e prevalência local da doença, na avaliação da necessidade de um segundo teste sorológico diferente para confirmar uma resposta imunológica.
- Um resultado negativo para um participante individual indica ausência de anticorpos anti-SARS-CoV-2 detectáveis.
- Resultados negativos não excluem infecção por SARS-CoV-2 e não devem ser usados como única base para decisões de gerenciamento de pacientes. Um resultado negativo pode ocorrer, se a quantidade de anticorpos anti-SARS-CoV-2 presente na amostra estiver abaixo dos limites de detecção do ensaio, ou se os anticorpos que são detectados não estiverem presentes durante o estágio da doença em que uma amostra é coletada.
- Não se sabe neste momento, se a presença de anticorpos contra o SARS-CoV-2 confere imunidade.
- Podem ocorrer resultados falso-positivos devido à reatividade cruzada com anticorpos contra outros coronavírus.
- As características de desempenho do ensaio não foram estabelecidas para testes de sangue do cordão umbilical, para testes de neonatos, para triagem pré-natal nem para triagem da população geral.
- Deve-se evitar a análise de amostras hemolizadas com este ensaio.
- Os resultados de pacientes imunossuprimidos devem ser interpretados com cautela.
- O ensaio não foi avaliado com amostras coletadas < 14 dias depois do início dos sintomas.
- Os resultados do ensaio devem ser interpretados apenas no contexto de outros achados laboratoriais e do estado clínico geral do paciente.

## Características de desempenho

### Sensibilidade e especificidade analítica

#### Reatividade/inclusividade

Embora mutações no genoma do SARS-CoV-2 tenham sido identificadas à medida que o vírus se espalhou, nenhuma cepa sorologicamente única foi descrita em relação ao vírus originalmente isolado (essa pesquisa é excepcionalmente limitada no momento).

#### Reatividade cruzada

As seguintes amostras do estado da doença foram testadas no teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 para avaliar a reatividade cruzada. Uma (1) amostra entre 108 produziu um resultado positivo no teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2. Os resultados são resumidos na Tabela a seguir.

Quadro clínico	Número de testados	Número de positivos
Coronavírus humano OC43	12	0
Coronavírus humano 229E	12	0
Coronavírus humano HKU1	12	0
Coronavírus humano NL63	12	0
Haemophilus influenzae	7	0
Mycoplasma pneumoniae	4	0
IgG anti influenza A	5	1
IgG anti influenza B	5	0
IgG anti vírus sincicial respiratório	5	0
Anti vírus da hepatite A	5	0
Anti vírus da hepatite B	5	0
Anti vírus da hepatite C	5	0
Soropositivo para HIV	10	0
RF	5	0
Anticorpos antinucleares (ANA)	4	0
<b>Total</b>	<b>108</b>	<b>1</b>

#### Substâncias interferentes

As amostras de SARS-CoV-2 negativas e positivas para anticorpos, abrangendo a faixa dinâmica do teste, foram fortificadas com os seguintes materiais, em concentrações observadas e testadas no teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2. Não foram observados falsos positivos nem falsos negativos.

Substância testada	Conc,	Amostra positiva		Amostra positiva		Amostra positiva		Amostra negativa		Amostra negativa	
		S/P	Resultado	S/P	Resultado	S/P	Resultado	S/P	Resultado	S/P	Resultado
Controle	NA	1,66	Positivo	0,92	Positivo	0,58	Positivo	0,01	Negativo	0,01	Negativo
Colesterol	30 mg/mL	1,66	Positivo	1,10	Positivo	0,62	Positivo	0,01	Negativo	0,00	Negativo
Hemoglobina	10 mg/mL	1,50	Positivo	0,96	Positivo	0,54	Positivo	0,01	Negativo	0,09	Negativo
Bilirrubina	0,4 mg/mL	1,78	Positivo	0,90	Positivo	0,54	Positivo	0,01	Negativo	0,01	Negativo



## Especificidade da classe

Não aplicável - o teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2 destina-se à detecção de anticorpos totais sem diferenciação entre imunoglobulinas diferentes.

## Sensibilidade clínica/Concordância percentual positiva (PPA)

A sensibilidade clínica foi determinada pela avaliação do teste OPTI SARS-CoV-2 com amostras coletadas de um total de 155 participantes, nos quais o tempo entre o início dos sintomas e a coleta de sangue foi observado e de 201 participantes dos quais o resultado do tempo pós-PCR foi registrado.

A tabela a seguir descreve a sensibilidade clínica por tempo de amostragem depois do início dos sintomas:

### Resultados do teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2

Dias desde o início dos sintomas	Total de amostras PCR positivas	Número de reativas	Número de não reativas	PPA	IC de 95%
≤7	0	0	0	NA	NA
8 a 14	1	0	1	0%	-2,9% ; 82,9%
≥15	154	148	6	96,1%	91,5% ; 98,4%
<b>Total de amostras</b>	<b>155</b>				

A tabela a seguir descreve a sensibilidade clínica por tempo de amostragem depois do resultado positivo do PCR:

### Resultados do teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2

Dias desde o resultado positivo do PCR	Total de amostras PCR positivas	Número de reativas	Número de não reativas	PPA	IC de 95%
≤7	2	2	0	100%	28,9% ; 100%
8 a 14	9	8	1	88,9%	54% ; 99,8%
≥15	190	184	6	96,8%	93,1% ; 98,7%
<b>Total de amostras</b>	<b>201</b>				

## Especificidade clínica/Concordância percentual negativa (NPA)

A especificidade clínica foi determinada pela avaliação do teste OPTI SARS-CoV-2 com amostras coletadas em 2019, antes do surgimento do SARS-CoV-2.

### Resultados do teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2

Doadores saudáveis	Matriz	Total de amostras	Número de reativas	Número de não reativas	Concordância percentual negativa (NPA)	IC de 95%
REINO UNIDO 2019	Soro	98	1	97	99,0%	93,8% ; 100%
REINO UNIDO 2019	Plasma	99	3	96	97,0%	91% ; 99,3%
EUA 2019 #1	Soro	50	2	48	96,0%	85,6% ; 99,6%
EUA 2019 #2	Plasma	50	1	49	98,0%	88,3% ; 100%
	Total saudável	297	7	290	97,6%	95,1% ; 98,9%

### Condição clínica

Coletas 2019	Vários	108	1	107	99,1%	94,3% ; 100%
<b>Total geral 2019</b>		<b>405</b>	<b>8</b>	<b>397</b>	<b>98,0%</b>	<b>96,1% ; 99,1%</b>

## Equivalência da matriz

O soro derivado das coletas de tampa vermelha e SST e também o plasma derivado do citrato de sódio e EDTA dipotássico foram contabilizados durante o desenvolvimento do ensaio. Para um estudo clínico, foram coletados tubos de soro SST pareado e tubos de EDTA dipotássicos de 57 pacientes únicos. A análise de regressão foi realizada para a comparação K2 EDTA no plasma com o soro de SST; os resultados estão mostrados na figura abaixo.

	K2 EDTA no plasma
n	57
Faixa de OD (soro)	0.039-4.43
Faixa de OD (plasma)	0.0103-5.04
Equação de regressão (y = plasma, x = soro)	-0.010 + 1.0614 x
IC de 95% da interseção	-0.06342 - 0.04284
IC de 95% da inclinação	1.038 - 1.085
Coefficiente de R2 de determinação	0.9934

## Análise de precisão

Um estudo de precisão de centro único foi realizado e incluiu controles de kit (negativo e positivo), juntamente com amostras negativas, fracas positivas e moderadamente positivas. As amostras foram testadas em triplicata, por 2 operadores, 2 vezes por dia, durante 5 dias, usando um lote do teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2. Os resultados estão apresentados na tabela abaixo.

Amostra	N	OD média	Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Dentro da execução		Geral	
			DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV
Controle positivo do kit	59	0,64	0,01	1,3	0,02	2,6	0,01	1,5	0,02	3,4	0,03	4,7
Controle negativo do kit	60	0,01	0,00	9,3	0,00	5,7	0,00	4,9	0,00	15,5	0,00	19,6
Negativo 1	60	0,02	0,00	3,3	0,00	4,6	0,00	3,4	0,00	10,5	0,00	12,4
Positivo 1	60	0,35	0,02	5,9	0,02	6,9	0,01	3,0	0,02	5,9	0,04	11,2
Positivo 2	60	0,52	0,05	8,7	0,03	6,5	0,02	3,2	0,02	4,2	0,06	12,1
Positivo 3	60	0,70	0,01	1,4	0,01	1,4	0,00	0,1	0,01	1,6	0,02	2,6
Positivo 4	60	0,88	0,02	2,4	0,05	6,1	0,02	1,9	0,03	3,1	0,07	7,5
Positivo 5	60	1,07	0,02	1,7	0,01	1,2	0,00	0,3	0,02	1,4	0,03	2,5

## Para obter assistência técnica para o teste de anticorpos totais OPTI SARS-CoV-2:

OPTI Medical Systems Tel: +1 770 510 4444

IDEXX USA Tel: +1 800 490 6784

IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Entre em contato com o gerente ou distribuidor regional da IDEXX ou visite o nosso site:  
[www.optimedical.com](http://www.optimedical.com)

\*IDEXX e OPTI são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da IDEXX Laboratories ou de suas afiliadas nos Estados Unidos e/ou em outros países. Todos os outros nomes de produtos, empresas e logotipos são marcas comerciais de seus respectivos proprietários.

© 2021 OPTI Medical Systems, Inc. Todos os direitos reservados.

# OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Test

## Bezeichnung und Verwendungszweck

Das OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Nachweisverfahren ist ein einstufiger Enzymimmunoassay (ELISA) im Antigen-Capture-Format für den qualitativen Nachweis von Gesamtantikörpern (einschließlich IgM/IgA/IgG) gegen SARS-CoV-2 in Humanserum und -plasma (K2 EDTA und Natriumcitrat). Der OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Assay ist für die Verwendung als Hilfsmittel zur Identifizierung von Personen mit einer adaptiven Immunantwort auf SARS-CoV-2 vorgesehen, die auf eine kürzliche oder frühere Infektion hinweist. Zurzeit ist nicht bekannt, wie lange Antikörper nach einer Infektion persistieren und ob das Vorhandensein von Antikörpern eine schützende Immunität verleiht. Das OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Nachweisverfahren sollte nicht zur Diagnose einer akuten SARS-CoV-2-Infektion verwendet werden. Die Tests sind auf Laboratorien beschränkt, die gemäß den Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA), 42 U.S.C 263a, für die Durchführung hochkomplexer Tests zertifiziert sind.

Die Ergebnisse beziehen sich auf den Nachweis von SARS-CoV-2-Gesamtantikörpern. Gesamtantikörper (einschließlich IgM/IgA/IgG) gegen SARS-CoV-2 sind im Allgemeinen mehrere Tage nach der Erstinfektion im Blut nachweisbar, obwohl die Dauer der Anwesenheit von Antikörpern nach der Infektion nicht gut charakterisiert ist. Das Virus kann bei Patienten noch mehrere Wochen nach der Serokonversion nachweisbar sein.

Laboratorien innerhalb der Vereinigten Staaten und ihrer Territorien sind verpflichtet, alle positiven Ergebnisse den zuständigen Gesundheitsbehörden zu melden.

Die Sensitivität des OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Assays kurz nach der Infektion ist nicht bekannt. Negative Ergebnisse schließen eine akute SARS-CoV-2-Infektion nicht aus. Bei Verdacht auf akute Infektion ist eine direkte Testung auf SARS-CoV-2 notwendig.

Falsch positive Ergebnisse mit dem OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Assay können aufgrund von Kreuzreaktivität durch bereits vorhandene Antikörper auftreten oder andere mögliche Ursachen haben.

Der OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Assay ist nur für die Verwendung im Rahmen der Zulassung in Notfällen der Food and Drug Administration (FDA) vorgesehen.

## Klinischer Hintergrund

Eine neue schwere Atemwegserkrankung mit der Bezeichnung COVID-19 (Coronavirus-Krankheit 2019) trat im Dezember 2019 in Wuhan, China, auf. Der verursachende Erreger wurde als ein neues *Betacoronavirus* identifiziert und als SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) bezeichnet. Die schnelle Ausbreitung des Virus führte im Jahr 2020 zu einer globalen COVID-19-Pandemie.

SARS-CoV-2 ist ein Positiv-Sense-Einzelstrang-RNA-Virus. Dieses behüllte Virus ist das siebte beschriebene Coronavirus, von dem bekannt ist, dass es den Menschen krank macht. Zu den anderen Coronaviren, die Infektionen beim Menschen auslösen, gehören vier weniger virulente Viren, die mit Erkältungskrankheiten in Verbindung gebracht werden (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 und HCoV-HKU1), und zwei weitere Stämme zoonotischen Ursprungs, die schwere respiratorische Symptome verursachen, die zum Tod führen können: SARS-CoV und MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus).

Die meisten COVID-19-Patienten zeigen leichte bis schwere respiratorische Symptome mit Fieber, Husten und Myalgien oder Ermüdung. Einige Patienten mit bestätigter Infektion sind asymptomatisch. Die schwersten Formen der Erkrankung gehen mit akuter Pneumonie, Atemnot, Zytokinstürmen sowie multiplen Organdysfunktionen einher. Die Übertragung erfolgt hauptsächlich durch Einatmen von Atemtröpfchen und direkten oder indirekten Kontakt mit infizierten Personen. Die bisher berichtete Inkubationszeit variiert allgemein zwischen 1 und 14 Tagen (meist 3–7 Tage).

Zu den Strukturproteinen von SARS-CoV-2 gehören die Hüll- (E), Membran- (M), Nukleokapsid- (N) und Spike-Proteine (S). Die Rezeptorbindungsdomäne (RBD) des Spike-Proteins ist aufgrund seiner hohen Immunogenität das Antigen der Wahl für ein serologisches Nachweisverfahren. Außerdem ist bekannt, dass RBD das Ziel einer neutralisierenden Antikörperreaktion ist, die möglicherweise Schutz vor einer zukünftigen Virusinfektion bietet.

In Ermangelung eines Impfstoffs und einer antiviralen Behandlung ist die Verfügbarkeit genauer Diagnoseinstrumente der Schlüssel zur Begrenzung der viralen Übertragung. Eine Antikörperreaktion auf SARS-CoV-2 wird bei den meisten infizierten Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Auftreten der Symptome nachgewiesen. Antikörpertests können in Verbindung mit PCR-Tests von großem Wert sein, um die diagnostische Sensitivität insgesamt zu erhöhen und eine effiziente Pandemiebekämpfung zu ermöglichen. Serologische Tests können dabei helfen, infizierte Personen in einem späteren Stadium der Krankheit zu identifizieren, wenn ein PCR-Test negativ ist. Darüber hinaus kann der Einsatz von serologischen Tests dazu beitragen, den Status der Virusverbreitung und den Grad der Immunität innerhalb einer bestimmten Gemeinschaft zu verstehen.

## Beschreibung und Prinzip

Der OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Test ist ein Enzymimmunoassay (ELISA) zum Nachweis von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in menschlichen Serum- und Plasmaproben. Der Test weist die Gesamtantikörper nach, einschließlich IgG, IgM und IgA.

SARS-CoV-2-RBD-rekombinantes Protein ist in Mikrotiterplatten-Vertiefungen beschichtet und stellt die Assay-Festphase dar. SARS-CoV-2-RBD-Protein-HRPO-Konjugat (Meerrettichperoxidase-Konjugat) wird als Assay-Detektor verwendet. In Schritt 1 des Nachweisverfahrens werden die Proben 1:2 mit RBD-HRPO-Konjugat verdünnt. Wenn SARS-CoV-2-Antikörper vorhanden sind, binden sie an das RBD-HRPO-Konjugat und bilden einen Komplex. In Schritt 2 des Assays werden die verdünnten Proben dann in Mikrotiterplatten-Vertiefungen übertragen, die die immobilisierte RBD enthalten. Falls vorhanden, binden SARS-CoV-2-Antikörper/RBD-HRPO-Komplexe an die immobilisierte RBD und verbinden sich damit. Nach einem Waschschrift wird TMB-Substrat zugegeben, das mit den gebundenen Komplexen reagiert und eine blaue Farbe erzeugt. Die Farbreaktion wird dann durch Zugabe einer angesäuerten Stopplösung gestoppt, wobei sich die blaue Farbe in Gelb verändert.

Die optischen Dichten (A450 nm) werden abgelesen und die Ergebnisse durch Bildung eines Verhältnisses von Probe zu Positivkontrolle (P/PK) berechnet. Das Verhältnis von Probe zu Positiv wird berechnet, indem die mit der Testprobe und einer Positivkontrolle (A450 nm) erhaltene Extinktion, korrigiert um die Extinktion der Negativkontrolle, verwendet wird. Die Farbentwicklung zeigt das Vorhandensein von SARS-CoV-2-Antikörpern in der Testprobe an.

## Reagenzien

Reagenzien		Volumen
1	SARS-CoV-2-antigenbeschichtete Platten	5
2	Positivkontrolle	1 x 3,6 mL
3	Negativkontrolle	1 x 3,6 mL
4	RBD-Konjugat	1 x 30 mL
A	Substratlösung	1 x 60 mL
B	Stopplösung	1 x 60 mL
C	Waschkonzentrat (10X)	2 x 235 mL
<b>Sonstige Komponenten:</b> Wiederverwendbarer Druckverschlussbeutel		1

**Hinweis:** Am Ende dieser Gebrauchsinformation befindet sich eine Tabelle, welche die im Text und auf den Etiketten verwendeten Symbole erläutert.

## Lagerung

Reagenzien bei 2–8°C lagern. Die Reagenzien sind bei sachgemäßer Lagerung bis zum Verfallsdatum stabil.

## Nicht enthaltene, erforderliche Materialien

- Probenverdünnungsplatten oder gerackte Verdünnungsröhrchen
- Präzisionsmikropipetten oder Mehrfachdispenser-Mikropipetten, die Volumina zwischen 50 µl und 100 µl pipettieren können
- Verwenden Sie nur destilliertes oder deionisiertes Wasser für die Zubereitung der im Test verwendeten Reagenzien
- Messzylinder oder Äquivalent für die Herstellung von 1X Waschlösung
- Labor-Timer
- Kunststoffplattenabdeckungen
- Feuchte Kammer
- 96-Well-Mikroplattenleser (450-nm-Filter, Referenzfilter zwischen 630 nm und 650 nm)
- Mikrotiterplatten-Waschgerät (manuelles, halbautomatisches oder automatisches System)

Der OPTI SARS-CoV-2-Antikörpertest wurde unter Verwendung von Laborgeräten validiert, die in der Regel bei großen Laborausüstern erhältlich sind (beispielsweise ([www.vwr.com](http://www.vwr.com), oder [www.fisherscientific.com](http://www.fisherscientific.com)).

## Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

### Allgemein

- Der Assay ist für in-vitro-diagnostische (IVD) Zwecke im Rahmen der FDA-Zulassung für die Verwendung in Notfällen bestimmt.
- Nur für den verschreibungspflichtigen Gebrauch.
- Dieser Test wurde nicht von der FDA geprüft.
- Negative Ergebnisse schließen eine akute SARS-CoV-2-Infektion nicht aus. Bei Verdacht auf akute Infektion ist eine direkte Testung auf SARS-CoV-2 notwendig.
- Die Ergebnisse von Antikörpertests sollten nicht zur Diagnose oder zum Ausschluss einer akuten SARS-CoV-2-Infektion verwendet werden.
- Positive Ergebnisse können auf eine frühere oder aktuelle Infektion mit Nicht-SARS-CoV-2-Coronavirus-Stämmen zurückzuführen sein, z. B. Coronavirus HKU1, NL63, OC43 oder 229E.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiös wären, indem Sie sichere Laborverfahren anwenden. Siehe Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with SARS-CoV-2: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- Verwenden Sie persönliche Schutzausrüstung (PSA) in Übereinstimmung mit den aktuellen Richtlinien für den Umgang mit infektiösen Proben.
- In Bereichen, in denen mit Reagenzien und menschlichen Proben umgegangen wird, nicht essen, trinken, rauchen, Kosmetika anwenden oder Kontaktlinsen handhaben.
- Änderungen an den Testreagenzien, dem Testprotokoll oder der Instrumentierung sind nicht zulässig und verstoßen gegen die Zulassung zur Verwendung des Produkts in Notfällen.
- Entsorgen Sie Abfall in Übereinstimmung mit den örtlichen, staatlichen und bundesstaatlichen Vorschriften.
- Laboratorien innerhalb der Vereinigten Staaten und ihrer Territorien sind verpflichtet, alle positiven Ergebnisse den zuständigen Gesundheitsbehörden zu melden.
- Gefahren- und Sicherheitshinweise für Reagenzien finden Sie am Ende dieser Beilage.

## Probenahme

Blutentnahmeröhrchen sind nicht im Testkit enthalten. Entnehmen Sie Blutproben durch Venenpunktion und zentrifugieren Sie diese nach den gängigen Laborrichtlinien, um Serum oder Plasma zu gewinnen. Beachten Sie die CLSI-Richtlinien GP41-A6 und GP44-A4 für die Entnahme, Verarbeitung und Handhabung von Proben.

## Transport der Proben

Die Proben müssen gemäß der aktuellen Ausgabe der Gefahrgutvorschriften der International Air Transport Association (IATA) verpackt, versandt und transportiert werden. Befolgen Sie die Versandvorschriften für UN 3373 Biologischer Stoff, Kategorie B, wenn Sie potenzielle 2019-nCoV-Proben versenden. Die Proben bei 2 bis 8°C lagern und auf Eispackungen versenden.

## Aufbewahrung von Proben

Die Proben können nach der Entnahme bis zu 72 Stunden bei 2–8°C gelagert werden. Wenn eine Verzögerung beim Testen zu erwarten ist, lagern Sie die Proben bei -20°C oder niedriger.

## Laborpraktiken

- Optimale Ergebnisse werden durch strikte Einhaltung dieses Protokolls erzielt. Sorgfältiges Pipettieren, Timing und Waschen während des gesamten Verfahrens sind notwendig, um Präzision und Genauigkeit zu wahren. Verwenden Sie für jede Probe und Kontrolle eine separate Pipettenspitze.
- Setzen Sie die TMB-Lösung weder starkem Licht noch Oxidationsmitteln aus. De TMB-Lösung muss mit sauberem Glas- oder Kunststoffgeschirr gehandhabt werden.
- Alle Abfälle müssen vor der Entsorgung ordnungsgemäß dekontaminiert werden. Entsorgen Sie den Inhalt gemäß den lokalen, regionalen und nationalen Vorschriften.
- Achten Sie darauf, dass die Komponenten des Kits nicht kontaminiert werden. Schütten Sie unbenutzte Reagenzien nicht zurück in Behälter.
- Verwenden Sie das Kit nicht nach Ablauf des Verfallsdatums und mischen Sie keine Komponenten aus Kits mit unterschiedlichen Chargennummern.

## Vorbereitung der Waschlösung

Das Waschkonzentrat (10X) sollte auf 18–25°C gebracht und gemischt werden, um die Auflösung aller ausgefällten Salze sicherzustellen. Das Waschkonzentrat (10X) muss vor Gebrauch 1/10 mit destilliertem/deionisiertem Wasser verdünnt werden (z. B. 100 ml Konzentrat plus 900 ml Wasser).

## Vorbereitung der Proben und Kontrollen

Verdünnen Sie Testproben und Kontrollen zweifach (1:2) mit Konjugat, indem Sie 60 µl Probe mit 60 µl Konjugat verdünnen. Achten Sie darauf, für jede Probe die Spitzen zu wechseln und notieren Sie die Position jeder Probe. Die Proben sollten vor dem Dispensieren in die CoV-2-beschichtete Platte gemischt werden. Die resultierende Mischung kann für maximal 60 Minuten bei Raumtemperatur (18–25°C) aufbewahrt werden, bevor sie auf die antigenbeschichtete Mikrotiterplatte übertragen wird.

## Testverfahren

Alle Reagenzien vor der Verwendung auf 18–25 °C erwärmen lassen. Reagenzien durch vorsichtiges Schwenken mischen. Alle Assay-Komponenten nach Gebrauch wieder auf 2–8°C bringen. Die Platten bei allen Inkubationsschritten mit Kunststoffplatten abdecken, um die Verdunstung zu minimieren, und in eine feuchte Kammer oder ein Gehäuse stellen.

- 1 Die antigenbeschichtete(n) Platte(n) holen und die Probenposition notieren. Wenn Teilplatten verwendet werden, nur die für die zu prüfenden Proben benötigte Anzahl an Vertiefungen entfernen. Die übrigen Vertiefungen zusammen mit dem Trockenmittel in den im Lieferumfang enthaltenen zusätzlichen verschließbaren Beutel geben und bei 2–8°C aufbewahren.

---

- 2 100 µl der VERDÜNNTEN Negativkontrolle (NC) (1:2 VERDÜNNT) in doppelte Vertiefungen geben.

---

- 3 100 µl der VERDÜNNTEN Positivkontrolle (PK) (1:2 VERDÜNNT) in doppelte Vertiefungen geben.

---

- 4 100 µl der VERDÜNNTEN Probe (1:2 VERDÜNNT) in die entsprechenden Vertiefungen geben.

---

- 5 60 Minuten lang bei 18–25 °C inkubieren.

---

- 6 Die Lösung entfernen und jede Vertiefung 5-mal mit ca. 300 µl Waschlösung waschen. Das Trocknen der Platte zwischen den Plattenwaschgängen und vor der Zugabe des nächsten Reagenzes vermeiden. Jede Platte nach dem letzten Waschvorgang auf saugfähiges Material abklopfen, um alle Reste der Waschlöslichkeit zu entfernen.

---

- 7 100 µl des TMB-Substrats in jede Vertiefung geben.

---

- 8 15 Minuten lang bei 18–25°C inkubieren.

---

- 9 100 µl der Stopplösung in jede Vertiefung geben.

---

- 10 Den A(450) für Proben und Kontrollen messen und notieren. Alternativ können die Platten bei 450 nm unter Verwendung eines Referenzfilters zwischen 630 nm und 650 nm gelesen werden.

### 11 Berechnungen:

#### Kontrollen

$$NK\bar{x} = \frac{A1 A(450) + A2 A(450)}{2}$$

$$PK\bar{x} = \frac{A3 A(450) + A4 A(450)}{2}$$

#### Validitätskriterien

$$NK\bar{x} < 0.150$$

$$0.250 \leq PK\bar{x} < 1.00$$

Ungültige Assays können auf die Technik zurückzuführen sein, und der Test sollte nach gründlichem Lesen der Packungsbeilage wiederholt werden.

## Proben

$$P/PK = \frac{\text{Sample A}(450) - NK\bar{x} A(450)}{PK\bar{x} - NK\bar{x}}$$

Das Vorhandensein oder Fehlen von Antikörpern gegen das Antigen wird bestimmt, indem zunächst der P/PK-Wert jeder Probe berechnet wird.

## 12 Interpretation:

Negativ	Positiv
P/PK < 0.25	P/PK ≥ 0.25

## Einschränkungen

- Die Leistungsmerkmale des Assays wurden nicht für die visuelle Ergebnisbestimmung festgelegt.
- Die Leistungsmerkmale des Assays wurden nicht für andere als die angegebenen Matrizen ermittelt.
- Der Assay sollte nicht zur Diagnose oder zum Ausschluss einer akuten Infektion verwendet werden. Die Ergebnisse sind nicht als alleinige Grundlage für Entscheidungen zur Patientenbehandlung gedacht.
- Ein positives Ergebnis muss nicht unbedingt auf eine frühere SARS-CoV-2-Infektion hinweisen. Berücksichtigen Sie andere Informationen, z. B. die klinische Vorgeschichte und lokale Krankheitsprävalenz, um zu beurteilen, ob ein zweiter, anderer serologischer Test zur Bestätigung einer Immunantwort erforderlich ist.
- Ein negatives Ergebnis für eine einzelne Person bedeutet, dass keine nachweisbaren Anti-SARS-CoV-2-Antikörper vorhanden sind.
- Negative Ergebnisse schließen eine SARS-CoV-2-Infektion nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für Entscheidungen des Patientenmanagements herangezogen werden. Ein negatives Ergebnis kann auftreten, wenn die Menge der in der Probe vorhandenen Anti-SARS-CoV-2-Antikörper unter den Nachweisgrenzen des Assays liegt oder die nachgewiesenen Antikörper in dem Krankheitsstadium, in dem eine Probe entnommen wird, nicht vorhanden sind.
- Es ist derzeit nicht bekannt, ob das Vorhandensein von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 Immunität verleiht.
- Falsch-positive Ergebnisse aufgrund von Kreuzreaktivität mit Antikörpern gegen andere Coronaviren können auftreten.
- Die Leistungsmerkmale des Assays wurden für das Testen von Nabelschnurblut, das Testen von Neugeborenen, das pränatale Screening oder das Screening der breiten Bevölkerung nicht festgelegt.
- Proben, die hämolytisch sind, sollten für die Analyse mit diesem Assay vermieden werden.
- Die Ergebnisse von immunsupprimierten Patienten müssen mit Vorsicht interpretiert werden.
- Der Assay wurde nicht mit Proben bewertet, die < 14 Tage nach Beginn der Symptome entnommen wurden.
- Assay-Ergebnisse sollten nur im Zusammenhang mit anderen Laborbefunden und dem gesamten klinischen Status des Patienten interpretiert werden.



## Leistungsmerkmale

### Analytische Sensitivität und Spezifität

#### Reaktivität/Inklusivität

Obwohl im Zuge der Ausbreitung des Virus Mutationen im SARS-CoV-2-Genom identifiziert wurden, sind bisher keine serologisch eindeutigen Stämme im Vergleich zum ursprünglich isolierten Virus beschrieben worden (diese Forschung ist derzeit außergewöhnlich begrenzt).

#### Kreuzreaktivität

Die folgenden Proben im Krankheitszustand wurden mit dem OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Test getestet, um die Kreuzreaktivität zu beurteilen. Eine (1) Probe von 108 ergab ein positives Ergebnis im OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Test. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Klinischer Zustand	Anzahl getestet	Anzahl positiv
Human Coronavirus OC43	12	0
Human Coronavirus 229E	12	0
Human Coronavirus HKU1	12	0
Human Coronavirus NL63	12	0
Hämophilus influenzae	7	0
Mycoplasma pneumoniae	4	0
anti-Influenza A IgG	5	1
anti-Influenza B IgG	5	0
Anti-Respiratorisches Synzytial-Virus IgG	5	0
anti-Hepatitis A Virus	5	0
anti-Hepatitis B Virus	5	0
anti-Hepatitis C Virus	5	0
HIV-seropositiv	10	0
RF	5	0
Antinukleäre Antikörper (ANA)	4	0
<b>Gesamt</b>	<b>108</b>	<b>1</b>

#### Störende Substanzen

Antikörper-negative und -positive SARS-CoV-2-Proben, die den dynamischen Bereich des Tests abdecken, wurden mit den folgenden Materialien in den angegebenen Konzentrationen aufgestockt (gespikt) und mit dem OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Test getestet. Es wurden keine falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnisse beobachtet.

Geprüfte Substanz	Konz.	Positiv Probe		Positiv Probe		Positiv Probe		Negativ Probe		Negativ Probe	
		P/PK	Ergebnis	P/PK	Ergebnis	P/PK	Ergebnis	P/PK	Ergebnis	P/PK	Ergebnis
Kontrolle	NA	1,66	Positiv	0,92	Positiv	0,58	Positiv	0,01	Negativ	0,01	Negativ
Cholesterin	30 mg/ml	1,66	Positiv	1,10	Positiv	0,62	Positiv	0,01	Negativ	0,00	Negativ
Hämoglobin	10 mg/ml	1,50	Positiv	0,96	Positiv	0,54	Positiv	0,01	Negativ	0,09	Negativ
Bilirubin	0,4 mg/ml	1,78	Positiv	0,90	Positiv	0,54	Positiv	0,01	Negativ	0,01	Negativ

#### Klassenspezifität

Nicht anwendbar – der OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Test ist für den Nachweis von Gesamtantikörpern ohne Differenzierung zwischen verschiedenen Immunglobulinen vorgesehen.

## Klinische Sensitivität/positive prozentuale Übereinstimmung (Positive Percent Agreement, PPA)

Die Bestimmung der klinischen Sensitivität erfolgte durch Auswertung des OPTI SARS-CoV-2-Tests mit Proben von insgesamt 155 Patienten, bei denen die Zeit zwischen dem Auftreten der Symptome und der Blutentnahme notiert wurde, und von 201 Patienten, bei denen die Zeit nach dem PKR-Ergebnis erfasst wurde.

Die folgende Tabelle beschreibt die klinische Sensitivität nach dem Zeitpunkt der Probenahme nach Beginn der Symptome:

### OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Ergebnisse

Tage ab Auftreten der Symptome	PKR-positive Proben insgesamt	Anzahl reaktiv	Anzahl nicht-reaktiv	PPA	95% CI
≤7	0	0	0	NA	NA
8 bis 14	1	0	1	0%	-2,9% ; 82,9%
≥15	154	148	6	96,1%	91,5% ; 98,4%
<b>Proben insgesamt</b>	155				

Die folgende Tabelle beschreibt die klinische Sensitivität nach dem Zeitpunkt der Probenahme nach PKR-positivem Ergebnis:

### OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Ergebnisse

Tage ab PKR-positivem Ergebnis	PKR-positive Proben insgesamt	Anzahl reaktiv	Anzahl nicht-reaktiv	PPA	95% CI
≤7	2	2	0	100%	28,9% ; 100%
8 bis 14	9	8	1	88,9%	54% ; 99,8%
≥15	190	184	6	96,8%	93,1% ; 98,7%
<b>Proben insgesamt</b>	201				

## Klinische Spezifität/negative prozentuale Übereinstimmung (Negative Percent Agreement, NPA)

Die klinische Spezifität wurde durch die Auswertung des OPTI SARS-CoV-2-Tests mit Proben ermittelt, die im Jahr 2019, vor dem Auftreten von SARS-CoV-2, entnommen wurden.

### OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Ergebnisse

Gesunde Spender	Matrix	Proben insgesamt	Anzahl reaktiv	Anzahl nicht-reaktiv	Negative prozentuale Übereinstimmung (NPA)	95% CI
UK 2019	Serum	98	1	97	99,0%	93,8% ; 100%
UK 2019	Plasma	99	3	96	97,0%	91% ; 99,3%
USA 2019 Nr. 1	Serum	50	2	48	96,0%	85,6% ; 99,6%
USA 2019 Nr. 2	Plasma	50	1	49	98,0%	88,3% ; 100%
	Gesunde insgesamt	297	7	290	97,6%	95,1% ; 98,9%

### Klinischer Zustand

2019 Entnahmen	<b>Verschiedene</b>	<b>108</b>	<b>1</b>	<b>107</b>	<b>99,1%</b>	<b>94,3% ; 100%</b>
<b>Summe 2019</b>		<b>405</b>	<b>8</b>	<b>397</b>	<b>98,0%</b>	<b>96,1% ; 99,1%</b>

## Matrix-Äquivalenz

Bei der Assay-Entwicklung wurden sowohl Serum aus Red-Top- und SST-Entnahmen als auch Plasma aus Natriumcitrat und Dikalium-EDTA berücksichtigt. Für eine klinische Studie wurden gepaarte SST-Serum- und Dikalium-EDTA-Röhrchen von 57 einzelnen Patienten gesammelt. Für den Vergleich von K2-EDTA-Plasma mit SST-Serum wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt; die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

	<b>K2 EDTA plasma</b>
n	57
OD-Bereich (Serum)	0,039 - 4,43
OD-Bereich (Plasma)	0,0103 - 5,04
Regressionsgleichung (y = Plasma, x = Serum)	-0,010 + 1,0614 x
95 % C.I. des Abschnitts	-0,06342 - 0,04284
95 % C.I. der Steigung	1,038 - 1,085
Bestimmungskoeffizient R <sup>2</sup>	0,9934

## Präzisionsanalyse

Es wurde eine Präzisionsstudie an einem einzigen Standort durchgeführt, die Kit-Kontrollen (negativ und positiv) sowie negative, schwach positive und mäßig positive Proben umfasste. Die Proben wurden in dreifacher Ausfertigung von 2 Bedienern 2-mal pro Tag über 5 Tage mit einer Charge des OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Tests getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Probe	N	Mittlere OD	Zwischen Bediener		Zwischen Tag		Zwischen Lauf		Innerhalb des Laufs		Insgesamt	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
<b>Kit-Positivkontrolle</b>	59	0,64	0,01	1,3	0,02	2,6	0,01	1,5	0,02	3,4	0,03	4,7
<b>Kit-Negativkontrolle</b>	60	0,01	0,00	9,3	0,00	5,7	0,00	4,9	0,00	15,5	0,00	19,6
<b>Negative 1</b>	60	0,02	0,00	3,3	0,00	4,6	0,00	3,4	0,00	10,5	0,00	12,4
<b>Positiv 1</b>	60	0,35	0,02	5,9	0,02	6,9	0,01	3,0	0,02	5,9	0,04	11,2
<b>Positiv 2</b>	60	0,52	0,05	8,7	0,03	6,5	0,02	3,2	0,02	4,2	0,06	12,1
<b>Positiv 3</b>	60	0,70	0,01	1,4	0,01	1,4	0,00	0,1	0,01	1,6	0,02	2,6
<b>Positiv 4</b>	60	0,88	0,02	2,4	0,05	6,1	0,02	1,9	0,03	3,1	0,07	7,5
<b>Positiv 5</b>	60	1,07	0,02	1,7	0,01	1,2	0,00	0,3	0,02	1,4	0,03	2,5

## **Für technische Unterstützung zum OPTI SARS-CoV-2-Gesamtantikörper-Test:**

OPTI Medical Systems Tel: +1 770 510 4444

IDEXX USA Tel: +1 800 490 6784

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Wenden Sie sich an Ihren IDEXX Gebietsleiter oder Vertriebspartner oder besuchen Sie unsere Website:  
[www.optimedical.com](http://www.optimedical.com)

\*IDEXX und OPTI sind Marken oder eingetragene Marken von IDEXX Laboratories oder seinen verbundenen Unternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern. Alle anderen Produkt- und Firmennamen und -logos sind Marken der jeweiligen Inhaber.

© 2021 OPTI Medical Systems, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

## Test completo degli anticorpi OPTI SARS-CoV-2

### Nome e uso previsto

Il saggio degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 è un saggio a immunoassorbimento enzimatico (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) di cattura dell'antigene in una sola fase, destinato al rilevamento qualitativo degli anticorpi totali (inclusi IgM/IgA/IgG) contro SARS-CoV-2 nel siero e nel plasma umano (K2 EDTA e citrato di sodio). Il saggio degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 è destinato all'uso come ausilio nell'identificazione dei soggetti con una risposta immunitaria adattativa a SARS-CoV-2, che indica un'infezione recente o precedente. Al momento, non è noto per quanto tempo gli anticorpi persistano dopo l'infezione e se la presenza di anticorpi conferisca immunità protettiva. Il saggio degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 non deve essere utilizzato per diagnosticare l'infezione acuta da SARS-CoV-2. I test sono limitati ai laboratori certificati ai sensi degli Emendamenti per il miglioramento dei laboratori clinici del 1988 (Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, CLIA), 42 U.S.C 263a, per eseguire test ad alta complessità.

I risultati sono destinati al rilevamento degli anticorpi totali contro SARS-CoV-2. Gli anticorpi totali (inclusi IgM/IgA/IgG) contro SARS-CoV-2 sono generalmente rilevabili nel sangue diversi giorni dopo l'infezione iniziale, sebbene il periodo di tempo in cui gli anticorpi sono presenti dopo l'infezione non sia ben caratterizzato. I soggetti possono presentare virus rilevabile per diverse settimane dopo la sieroconversione. Ai laboratori degli Stati Uniti e dei suoi territori è richiesto di segnalare tutti i risultati positivi alle autorità della sanità pubblica appropriate.

La sensibilità del test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 subito dopo l'infezione non è nota. I risultati negativi non precludono l'infezione acuta da SARS-CoV-2. Se si sospetta un'infezione acuta, sono necessari test diretti per SARS-CoV-2.

Possono verificarsi risultati falsi positivi con il saggio degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 a causa della reattività incrociata da anticorpi preesistenti o altre possibili cause.

Il saggio degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 è destinato solo all'uso ai sensi dell'autorizzazione all'uso di emergenza della Food and Drug Administration.

### Contesto clinico

Una nuova malattia respiratoria grave denominata COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) è emersa nel dicembre 2019 a Wuhan, in Cina. L'agente eziologico è stato identificato come il nuovo *Betacoronavirus* e denominato SARS-CoV-2 (Sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus 2). La rapida diffusione del virus ha portato a una pandemia globale di COVID-19 nel 2020.

SARS-CoV-2 è un virus a RNA a singolo filamento positivo. Questo virus con pericapside è il settimo coronavirus descritto noto come causa di malattie negli esseri umani. Gli altri coronavirus che infettano gli esseri umani includono quattro virus meno virulenti associati al raffreddore comune (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 e HCoV-HKU1) e due ceppi aggiuntivi di origine zoonotica che causano gravi sintomi respiratori che possono portare al decesso: SARS-CoV e MERS-CoV (coronavirus della sindrome respiratoria mediorientale).

La maggior parte dei pazienti con COVID-19 mostra sintomi respiratori da lievi a gravi con febbre, tosse e mialgia o affaticamento. Alcuni pazienti con infezione confermata sono asintomatici. La maggior parte delle forme gravi della malattia è associata a polmonite acuta, difficoltà respiratoria, tempeste di citochine e disfunzioni multiorgano. La trasmissione avviene principalmente attraverso l'inalazione di goccioline per via respiratoria e il contatto diretto o indiretto con individui infetti. Il periodo di incubazione riportato finora varia generalmente tra 1 e 14 giorni (principalmente 3-7 giorni).

Le proteine strutturali di SARS-CoV-2 includono le proteine envelope (E), di membrana (M), nucleocapside (N) e spike (S). Il dominio legante il recettore (RBD) della proteina spike è l'antigene di elezione per un saggio sierologico a causa della sua elevata immunogenicità. Inoltre, è noto che l'RBD è il bersaglio di una risposta anticorpale neutralizzante che può conferire protezione da future infezioni virali.

In assenza di vaccino e trattamento antivirale, la disponibilità di strumenti diagnostici accurati è fondamentale per limitare la trasmissione virale. La risposta anticorpale a SARS-CoV-2 viene rilevata nella maggior parte degli individui infetti in momenti variabili dopo l'insorgenza dei sintomi. Il test degli anticorpi può essere di grande valore in combinazione con il test PCR per aumentare la sensibilità diagnostica complessiva e implementare una risposta pandemica efficiente. I test sierologici possono aiutare a identificare i soggetti infetti in uno stadio successivo della malattia quando il test PCR è negativo. Inoltre, l'uso di test sierologici può aiutare a comprendere lo stato della diffusione del virus e il livello di immunità all'interno di una determinata comunità.

## Descrizioni e principi

Il test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 è un saggio immuno-assorbente legato ad enzima (ELISA) per il rilevamento degli anticorpi contro SARS-CoV-2 in campioni di siero e plasma umani. Il test rileva gli anticorpi totali, tra cui IgG, IgM e IgA.

La proteina ricombinante del dominio legante il recettore (RBD) di SARS-CoV-2 riveste i pozzetti della piastra per microtitolazione e rappresenta la fase solida del saggio. Il coniugato tra proteina del dominio legante il recettore (RBD) di SARS-CoV-2 e perossidasi del rafano (HRPO) viene utilizzato come rilevatore del saggio. Nella fase 1 del saggio, i campioni vengono diluiti 1:2 con il coniugato RBD-HRPO. Se sono presenti anticorpi SARS-CoV-2, si legheranno al coniugato RBD-HRPO per formare un complesso. Nella fase 2 del saggio, i campioni diluiti vengono in seguito trasferiti nei pozzetti di una piastra per microtitolazione contenente RBD immobilizzato. Se presenti, i complessi di anticorpi SARS-CoV-2/RBD-HRPO si legano o creano un ponte con l'RBD immobilizzato. Dopo una fase di lavaggio, il substrato TMB viene aggiunto e reagisce con i complessi legati per generare un colore blu. La reazione cromatica viene quindi interrotta con l'aggiunta di una soluzione di arresto acidificata, con il colore che passa dal blu al giallo.

Le densità ottiche (A450 nm) vengono lette e i risultati vengono calcolati generando un rapporto campione/controllo positivo (S/P). Il rapporto campione/controllo positivo viene calcolato utilizzando l'assorbanza ottenuta con il campione di prova e un controllo positivo (A450 nm), corretto per l'assorbanza del controllo negativo. Lo sviluppo del colore indica la presenza di anticorpi SARS-CoV-2 nel campione di prova.

## Reagents

		<b>Volume</b>
1	Piastre rivestite con antigene SARS-CoV-2	5
2	Controllo positivo	1 x 3.6 mL
3	Controllo negativo	1 x 3.6 mL
4	Coniugato RBD	1 x 30 mL
A	Soluzione substrato	1 x 60 mL
B	Soluzione di arresto	1 x 60 mL
C	Concentrato di lavaggio (10X)	2 x 235 mL
<b>Altri componenti:</b> sacchetto riutilizzabile con chiusura a pressione zip lock		1

**Note:** vedere la tabella al termine dell'inserito per una descrizione dei simboli usati sull'inserito e nelle etichette di questo kit.

## Conservazione

Conservare i reagenti a 2-8 °C. I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza, se conservati correttamente.

## Materiali necessari ma non in dotazione

- Piastre di diluizione dei campioni o provette per diluizione in rack
- Micropipette di precisione o micropipette multi-dispensazione in grado di pipettare volumi compresi tra 50 µl e 100 µl
- Usare solo acqua distillata o deionizzata per la preparazione dei reagenti usati nel test
- Cilindro graduato o equivalente per la preparazione della soluzione di lavaggio 1X
- Timer di laboratorio
- Copripiastra in plastica
- Camera umidificata
- Lettore di micropiastre da 96 pozzetti (filtro 450 nm, filtro di riferimento tra 630 nm e 650 nm)
- Lavaggio micropiastre (sistema manuale, semiautomatico o automatico)

Il test degli anticorpi OPTI SARS-CoV-2 è stato convalidato utilizzando apparecchiature di laboratorio generalmente disponibili tramite i principali fornitori (come ad esempio [www.vwr.com](http://www.vwr.com), e [www.fisherscientific.com](http://www.fisherscientific.com) as examples).

## Precauzioni e avvertenze

### Informazioni generali

- Il saggio è per uso diagnostico in vitro (IVD); utilizzare soltanto previa autorizzazione all'uso di emergenza dell'FDA.
- Esclusivamente per uso su prescrizione.
- Questo test non è stato esaminato dall'FDA.
- I risultati negativi non precludono l'infezione acuta da SARS-CoV-2. Se si sospetta un'infezione acuta, sono necessari test diretti per SARS-CoV-2.
- I risultati delle analisi degli anticorpi non devono essere utilizzati per diagnosticare o escludere l'infezione acuta da SARS-CoV-2.
- I risultati positivi possono essere dovuti a infezione pregressa o presente con ceppi di coronavirus non SARS-CoV-2, come i coronavirus HKU1, NL63, OC43 o 229E.
- Maneggiare tutti i campioni come se fossero infetti, utilizzando procedure di laboratorio sicure. Fare riferimento alle linee guida Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with SARS-CoV-2: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- Utilizzare dispositivi di protezione individuale (DPI) in linea con le attuali linee guida per la gestione dei campioni potenzialmente infetti.
- Evitare di mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o gestire le lenti a contatto nelle aree in cui sono maneggiati reagenti e campioni umani.
- Le modifiche ai reagenti dei saggi, al protocollo dei saggi o alla strumentazione non sono consentite e violano l'autorizzazione all'uso di emergenza del prodotto.
- Smaltire i rifiuti in conformità con le normative locali, statali e federali.
- Ai laboratori degli Stati Uniti e dei suoi territori è richiesto di segnalare tutti i risultati positivi alle autorità della sanità pubblica appropriate.
- Leggere le avvertenze relative ai rischi e alle precauzioni per i reagenti alla fine di questo foglietto illustrativo.

## **Prelievo dei campioni**

Le provette per il prelievo dei campioni di sangue non sono incluse nel kit per il test. Prelevare i campioni di sangue mediante prelievo venoso e centrifugare secondo le linee guida del laboratorio stabilite per generare siero o plasma. Fare riferimento alle linee guida CLSI GP41-A6 e GP44-A4 per la raccolta, il trattamento e la manipolazione dei campioni.

## **Transporting Specimens**

I campioni devono essere imballati, spediti e trasportati in conformità all'attuale edizione della normativa per le merci pericolose dell'International Air Transport Association (IATA). Seguire le normative di spedizione per le sostanze biologiche UN 3373, categoria B, quando si inviano campioni potenzialmente infettati da 2019-nCoV. Conservare i campioni a una temperatura di 2–8°C e spedire in confezioni ghiacciate.

## **Conservazione dei campioni**

I campioni possono essere conservati a una temperatura di 2-8 °C per un massimo di 72 ore dopo il prelievo. Se si prevede un ritardo nell'analisi, conservare i campioni a una temperatura di -20 °C o inferiore.

## **Pratiche di laboratorio**

- Seguire rigorosamente questo protocollo per ottenere risultati ottimali. Occorre la massima attenzione alla pipettatura, al rispetto dei tempi e al lavaggio nel corso di questa procedura per mantenere precisione e accuratezza. Usare una punta per pipetta diversa per ciascun campione e controllo.
- Non esporre la soluzione TMB a luce intensa o a qualsiasi agente ossidante. Manipolare la soluzione TMB con recipienti in plastica o vetro puliti.
- Tutti i materiali di rifiuto dovranno essere adeguatamente decontaminati prima di essere smaltiti. Smaltire i contenuti in conformità alle normative locali, regionali e nazionali.
- Fare attenzione a impedire la contaminazione dei componenti del kit. Non reintrodurre i reagenti inutilizzati nei contenitori.
- Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza e non mescolare componenti di kit con numeri di lotto diversi.

## **Preparazione della soluzione di lavaggio**

Il Concentrato di lavaggio (10X) deve essere portato a 18-25 °C e miscelato per assicurare la dissoluzione di tutti i sali precipitati. Il Concentrato di lavaggio (10X) deve essere diluito 1/10 con acqua distillata/deionizzata prima dell'uso (p. es. 100 ml di concentrato più 900 ml d'acqua).

## **Preparazione di campioni e controlli**

Diluire i campioni di test e i controlli due volte (1:2) con coniugato diluendo 60 µl di campione con 60 µl di coniugato. Assicurarsi di cambiare i puntali per ogni campione e registrare la posizione di ogni campione. I campioni devono essere miscelati prima di essere dispensati nella piastra rivestita con CoV-2. La miscela risultante può essere mantenuta per un massimo di 60 minuti a temperatura ambiente (18-25 °C) prima di essere trasferita alla piastra per microtitolazione rivestita con antigene.



## Procedura del test

Tutti i reagenti devono essere portati a 18-25°C prima dell'uso. Mescolare i reagenti capovolgendoli o ruotandoli delicatamente. Dopo l'uso, riportare tutti i componenti del saggio a 2–8°C. Per tutte le fasi di incubazione, per ridurre al minimo l'evaporazione, coprire le piastre con coperchi di plastica e collocarle in una camera o in un contenitore umidi.

- 1 Procurarsi la(e) piastra(e) rivestita(e) con antigene e registrare la posizione del campione.  
Se si utilizzano piastre parziali, rimuovere solo i pozzetti sufficienti a eseguire il test dei campioni. Posizionare i pozzetti rimanenti, insieme all'essiccante, nel sacchetto richiudibile supplementare fornito in dotazione e riportare a 2–8°C.

---

- 2 Dispensare 100 µl di controllo negativo DILUITO (NC) (DILUITO 1:2) in pozzetti duplicati.

---

- 3 Dispensare 100 µl di controllo positivo DILUITO (PC) (DILUITO 1:2) in pozzetti duplicati.

---

- 4 Dispensare 100 µl di campione DILUITO (DILUITO 1:2) nei pozzetti appropriati.

---

- 5 Incubare per 60 minuti a 18-25°C.

---

- 6 Rimuovere la soluzione e lavare ogni pozzetto con circa 300 µl di soluzione di lavaggio 5 volte. Non lasciare asciugare la piastra tra due lavaggi e prima dell'aggiunta del reagente successivo. Picchiettare ogni piastra sul materiale assorbente dopo il lavaggio finale per rimuovere eventuali residui di liquido di lavaggio.

---

- 7 Erogare 100 µl di substrato TMB in ciascun pozzetto.

---

- 8 Incubare per 15 minuti a 18-25 °C.

---

- 9 Erogare 100 µl di soluzione di arresto in ciascun pozzetto.

---

- 10 Misurare e registrare A(450) per campioni e controlli. In alternativa, le piastre possono essere lette a 450 nm usando un filtro di riferimento tra 630 nm e 650 nm.

### 11 Calcolo:

#### Controlli

$$NC\bar{x} = \frac{A1 A(450) + A2 A(450)}{2}$$

$$PC\bar{x} = \frac{A3 A(450) + A4 A(450)}{2}$$

#### Criteri di validità

$$NC\bar{x} < 0.150$$

$$0.250 \leq PC\bar{x} < 1.00$$

Per i saggi non validi, la tecnica può essere sospetta e il saggio deve essere ripetuto dopo un esame approfondito del foglietto illustrativo.

## Campioni

$$S/P = \frac{\text{Campione A}(450) - NC\bar{x} A(450)}{PC\bar{x} - NC\bar{x}}$$

La presenza o assenza di anticorpi contro l'antigene viene determinata calcolando per primo il valore S/P di ciascun campione.

### 12 Interpretazione:

Negativo

Positivo

S/P < 0.25

S/P ≥ 0.25

### Limitazioni

- Le caratteristiche prestazionali del saggio non sono state stabilite per la determinazione visiva dei risultati.
- Le caratteristiche prestazionali del saggio non sono state stabilite per matrici diverse da quelle specificate.
- Il saggio non deve essere utilizzato per diagnosticare o escludere un'infezione acuta. I risultati non sono destinati a essere utilizzati come unica base per le decisioni di gestione dei pazienti.
- Un risultato positivo potrebbe non indicare una precedente infezione da SARS-CoV-2. Considerare altre informazioni, tra cui l'anamnesi clinica e la prevalenza locale della malattia, nella valutazione della necessità di un secondo differente test sierologico per confermare una risposta immunitaria.
- Un risultato negativo per un singolo soggetto indica l'assenza di anticorpi anti-SARS-CoV-2 rilevabili.
- I risultati negativi non precludono l'infezione da SARS-CoV-2 e non devono essere utilizzati come unica base per le decisioni di gestione dei pazienti. Un risultato negativo può verificarsi se la quantità di anticorpi anti-SARS-CoV-2 presenti nel campione è al di sotto dei limiti di rilevamento del saggio o se gli anticorpi rilevati non sono presenti durante lo stadio della malattia in cui viene prelevato un campione.
- Non è noto in questo momento se la presenza di anticorpi contro SARS-CoV-2 conferisca immunità.
- Possono verificarsi risultati falsi positivi dovuti alla reattività incrociata con anticorpi contro altri coronavirus.
- Le caratteristiche prestazionali del saggio non sono state stabilite per l'analisi del sangue del cordone ombelicale, per il test dei neonati, per lo screening prenatale o per lo screening generale della popolazione.
- I campioni emolizzati devono essere evitati per l'analisi con questo test.
- I risultati di pazienti immunosoppressi devono essere interpretati con cautela.
- Il saggio non è stato valutato con campioni raccolti meno di 14 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi.
- I risultati dei test devono essere interpretati solo nel contesto di altri risultati di laboratorio e dello stato clinico totale del paziente.

## Caratteristiche prestazionali

### Sensibilità analitica e specificità

#### Reattività/Inclusività

Sebbene le mutazioni nel genoma SARS-CoV-2 siano state identificate quando il virus si è diffuso, non sono stati descritti ceppi sierologicamente unici rispetto al virus originariamente isolato (questa ricerca è attualmente eccezionalmente limitata).

#### Reattività incrociata

I seguenti campioni allo stato della malattia sono stati analizzati con il test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 per valutare la reattività incrociata. Un (1) campione su 108 ha dato un risultato positivo al test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2. I risultati sono riassunti nella seguente tabella.

Condizione clinica	Numero di soggetti testati	Numero di soggetti positivi
Coronavirus umano OC43	12	0
Coronavirus umano 229E	12	0
Coronavirus umano HKU1	12	0
Coronavirus umano NL63	12	0
Haemophilus influenzae	7	0
Mycoplasma pneumoniae	4	0
IgG anti-influenza A	5	1
IgG anti-influenza B	5	0
IgG anti-virus respiratorio sinciziale	5	0
anti-virus epatite A	5	0
anti-virus epatite B	5	0
anti-virus epatite C	5	0
Sieropositività all'HIV	10	0
RF	5	0
Anticorpi anti-nucleo (ANA)	4	0
<b>Totale</b>	<b>108</b>	<b>1</b>

#### Sostanze interferenti

I campioni di SARS-CoV-2 negativi e positivi agli anticorpi che coprono l'intervallo dinamico del test sono stati miscelati con i seguenti materiali a concentrazioni osservate e testati con il test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2. Non sono stati osservati falsi positivi o falsi negativi.

Sostanza testata	Conc.	Campione positivo		Campione positivo		Campione positivo		Campione negativo		Campione negativo	
		S/P	Risultati	S/P	Risultati	S/P	Risultati	S/P	Risultati	S/P	Risultati
Controllo	N/D	1,66	Positivo	0,92	Positivo	0,58	Positivo	0,01	Negativo	0,01	Negativo
Colesterolo	30 mg/ml	1,66	Positivo	1,10	Positivo	0,62	Positivo	0,01	Negativo	0,00	Negativo
Emoglobina	10 mg/ml	1,50	Positivo	0,96	Positivo	0,54	Positivo	0,01	Negativo	0,09	Negativo
Bilirubina	0.4 mg/ml	1,78	Positivo	0,90	Positivo	0,54	Positivo	0,01	Negativo	0,01	Negativo

#### Specificità della classe

Non applicabile - il test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2 è destinato alla rilevazione di anticorpi totali senza differenziazione tra immunoglobuline diverse.

## Sensibilità clinica/Concordanza percentuale positiva (PPA)

La sensibilità clinica è stata determinata valutando il test OPTI SARS-CoV-2 con campioni prelevati da un totale di 155 pazienti in cui è stato osservato il tempo tra l'insorgenza dei sintomi e il prelievo di sangue e da 201 pazienti in cui è stato registrato il tempo dopo il risultato della PCR.

La seguente tabella descrive la sensibilità clinica in base al momento del prelievo dopo l'insorgenza dei sintomi:

### Risultato del test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2

Giorni dall'insorgenza dei sintomi	Campioni PCR positivi totali	Numero soggetti reattivi	Numero soggetti non reattivi	PPA	IC al 95%
≤7	0	0	0	NA	NA
Da 8 a 14	1	0	1	0%	-2,9% ; 82,9%
≥15	154	148	6	96,1%	91,5% ; 98,4%
<b>Campioni totali</b>	155				

La seguente tabella descrive la sensibilità clinica in base al momento del prelievo del risultato positivo post-PCR:

### Risultato del test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2

Giorni dal risultato della PCR positivo	Campioni PCR positivi totali	Numero soggetti reattivi	Numero soggetti non reattivi	PPA	IC al 95%
≤7	2	2	0	100%	28,9% ; 100%
Da 8 a 14	9	8	1	88,9%	54% ; 99,8%
≥15	190	184	6	96,8%	93,1% ; 98,7%
<b>Campioni totali</b>	201				

## Specificità clinica/Concordanza percentuale negativa (NPA)

La specificità clinica è stata determinata valutando il test OPTI SARS-CoV-2 con campioni raccolti nel 2019, prima della comparsa di SARS-CoV-2.

### Risultato del test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2

Donatori sani	Matrice	Campioni totali	Numero soggetti reattivi	Numero soggetti non reattivi	Accordo percentuale negativo (NPA)	IC al 95%
UK 2019	Siero	98	1	97	99,0%	93,8% ; 100%
UK 2019	Plasma	99	3	96	97,0%	91% ; 99,3%
USA 2019 N.1	Siero	50	2	48	96,0%	85,6% ; 99,6%
USA 2019 N.2	Plasma	50	1	49	98,0%	88,3% ; 100%
	Totale soggetti sani	297	7	290	97,6%	95,1% ; 98,9%

### Condizione clinica

Raccolte 2019	Vari	108	1	107	99,1%	94,3% ; 100%
---------------	------	-----	---	-----	-------	--------------

<b>Totale complessivo 2019</b>	<b>405</b>	<b>8</b>	<b>397</b>	<b>98,0%</b>	<b>96,1% ; 99,1%</b>
--------------------------------	------------	----------	------------	--------------	----------------------

## Equivalenza della matrice

Durante lo sviluppo del saggio sono stati presi in considerazione il siero derivato sia dalla raccolta delle provette con tappo rosso che dalla raccolta con provette SST, nonché il plasma derivato da Citrato di sodio e Dipotassio EDTA. Per uno studio clinico sono state raccolte provette SST di siero e Dipotassio EDTA da 57 singoli pazienti. L'analisi della regressione è stata eseguita per il confronto del plasma K2 EDTA con il siero SST; i risultati sono mostrati nella figura seguente.

	<b>Plasma K2 EDTA</b>
<b>N</b>	57
Intervallo OD (siero)	0,039-4,43
Intervallo OD (plasma)	0,0103-5,04
Equazione di regressione (y = plasma, x = siero)	-0,010 + 1,0614 x
IC al 95% dell'intercetta	-0,06342 - 0,04284
IC al 95% della pendenza	1,038 - 1,085
Coefficiente di determinazione R2	0,9934

## Analisi di precisione

È stato condotto uno studio di precisione presso un singolo centro che includeva controlli del kit (negativi e positivi), insieme a campioni negativi, debolmente positivi e moderatamente positivi. I campioni sono stati testati in triplicato, da 2 operatori, 2 volte al giorno per 5 giorni, utilizzando un lotto del test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2. I risultati sono presentati nella tabella seguente.

Campione	N	Tra operatori		Tra un giorno e l'altro		Tra un'analisi e l'altra		Intra-analisi		Complessivo		
		OD medio	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
<b>Controllo positivo del kit</b>	59	0,64	0,01	1,3	0,02	2,6	0,01	1,5	0,02	3,4	0,03	4,7
<b>Controllo negativo del kit</b>	60	0,01	0,00	9,3	0,00	5,7	0,00	4,9	0,00	15,5	0,00	19,6
<b>Negativo 1</b>	60	0,02	0,00	3,3	0,00	4,6	0,00	3,4	0,00	10,5	0,00	12,4
<b>Positivo 1</b>	60	0,35	0,02	5,9	0,02	6,9	0,01	3,0	0,02	5,9	0,04	11,2
<b>Positivo 2</b>	60	0,52	0,05	8,7	0,03	6,5	0,02	3,2	0,02	4,2	0,06	12,1
<b>Positivo 3</b>	60	0,70	0,01	1,4	0,01	1,4	0,00	0,1	0,01	1,6	0,02	2,6
<b>Positivo 4</b>	60	0,88	0,02	2,4	0,05	6,1	0,02	1,9	0,03	3,1	0,07	7,5
<b>Positivo 5</b>	60	1,07	0,02	1,7	0,01	1,2	0,00	0,3	0,02	1,4	0,03	2,5

**Per assistenza tecnica sul test degli anticorpi totali OPTI SARS-CoV-2:**

OPTI Medical Systems Tel: +1 770 510 4444

IDEXX USA Tel: +1 800 490 6784

IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Contattare il responsabile di zona o distributore IDEXX oppure visitare il nostro sito web: [www.optimedical.com](http://www.optimedical.com)

\*IDEXX e OPTI sono marchi commerciali o marchi registrati di IDEXX Laboratories, Inc. o delle sue affiliate negli Stati Uniti e/o in altri paesi. Tutti gli altri prodotti, nomi aziendali e loghi sono marchi commerciali dei rispettivi titolari.

© 2021 OPTI Medical Systems, Inc. Tutti i diritti riservati.