

Dipartimento di Medicina Molecolare
Laboratorio di Microbiologia e Virologia

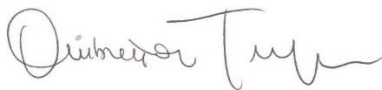
REPORT

**“Valutazione della sensibilità e specificità del test SARS-CoV-2 antibody test (colloidal gold immunochromatography) della LEPU Medical Technology Co.Ltd
Committente: VIOLATECH srl c/o Via Kenia 74 – 00144 Roma**

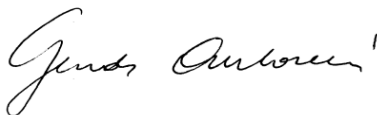
Roma 22/10/2020

I responsabili della ricerca:

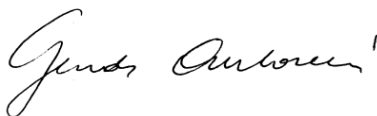
Prof.ssa Ombretta Turriziani
Dipartimento di Medicina Molecolare



Prof. Guido Antonelli
Dipartimento di Medicina Molecolare



Visto e approvato da:
Prof. G. Antonelli
Responsabile del Laboratorio di Microbiologia e Virologia
Dipartimento di Medicina Molecolare
Sapienza Università di Roma



SCHEMA SPERIMENTALE E REAGENTI

Residui di campioni di siero, raccolti e esaminati presso la AOU “Policlinico Umberto I” durante il follow-up di pazienti affetti da COVID-19 e altre patologie, sono stati utilizzati per verificare la validità diagnostica del test sierologico [SARS-CoV-2 Antibody test (colloidal gold immunchromatography)] in uso per la rilevazione di anticorpi anti-SARS-CoV-2 prodotto dalla Beijing Lepu Medical Technology Co., Ltd - Beijing P.R. China e commercializzato dalla VIOLATECH srl.

Per la valutazione di cui sopra sono state seguite nel dettaglio tutte le procedure indicate nel foglietto illustrativo (in allegato).

Il kit per l'esecuzione del saggio immunocromatografico a flusso laterale contiene singole strip (numero 20 per confezione). Esse presentano un “pozzetto” dove debbono essere introdotti 10 µL di siero (plasma o sangue intero). In un secondo “pozzetto” debbono essere introdotte, invece, due gocce di diluente fornito nel kit. Come indicato dall'Azienda produttrice, se nel siero sono presenti anticorpi specifici anti SARS-CoV-2 dopo 15 minuti compare sulla striscia una banda di colore rosso in corrispondenza delle linee che indicano: IgM o IgG. Dopo la reazione, è possibile siano presenti entrambe le bande: IgM e IgG. Affinché il test sia valido si dovrà verificare la presenza di una banda rossa nell'area di controllo del test (Figura 1).

La diagnosi virologica e clinica di infezione da SARS-CoV-2 è stata stabilita secondo i criteri correnti.

Per valutare la sensibilità e la specificità, sono stati saggiati:

- 105 campioni di siero SARS-CoV-2 positivi derivanti da soggetti ricoverati nei reparti COVID-19, positivi alla diagnosi molecolare di SARS-CoV-2 (**tampone positivi**) che presentavano una sintomatologia COVID-19 da almeno 10 giorni;

- 100 campioni di siero derivanti da soggetti SARS-CoV-2 negativi raccolti con patologia respiratoria contestualmente all'esecuzione del tampone naso-faringeo per la ricerca di SARS-CoV-2 (**tampone negativi**);

Dipartimento di Medicina Molecolare
Laboratorio di Microbiologia e Virologia

- 50 campioni raccolti in epoca pre-COVID-19 (settembre-novembre 2019) positivi per anticorpi anti-HBV, anti-HCV, anti-EBV e anti-CMV;
- 30 campioni di siero derivanti da soggetti positivi per autoanticorpi (positivi per il fattore reumatoide e/o per anticorpi antinucleo);

Tutti i sieri sono stati raccolti e tenuti a -20° C prima dell'analisi.

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico della AOU Policlinico Umberto I (prot. N. 416/2020 del 10-06-2020).

RISULTATI

Per quanto riguarda la sensibilità, i risultati del saggio eseguito sui sieri sopraelencati indicano che: dei 105 campioni raccolti da soggetti con diagnosi virologica e clinica di COVID-19, 97 sono risultati positivi al test in esame e 8 negativi. In particolare, 76 dei 97 sono risultati positivi sia alle IgG che alle IgM; 14 positivi solo alle IgG e 7 positivi solo alle IgM.

Per quanto riguarda la specificità, i risultati del saggio eseguito sui sieri sopraelencati indicano che: dei 100 campioni raccolti da soggetti negativi non infetti da SARS-CoV-2, 99 sono risultati negativi al test immunocromatografico in esame e 1 positivo (in particolare IgM positivo).

Per valutare ulteriormente la specificità sono stati analizzati altri sieri provenienti da soggetti non COVID-19. I risultati sono i seguenti:

- dei 50 campioni raccolti in epoca pre-COVID-19 (settembre-novembre 2019) selezionati sulla base della positività agli anticorpi anti-HBV, anti-HCV, anti-EBV e anti-CMV, 1 è risultato positivo (in particolare IgM positivo);
- dei 30 campioni di siero derivanti da soggetti positivi per autoanticorpi (per il fattore reumatoidale o per anticorpi antinucleo) 1 è risultato positivo (in particolare IgM positivo).

Ad ulteriore dimostrazione della specificità, sono stati saggiati con il test in esame 30 campioni di siero derivanti da soggetti con diagnosi di infezione per patogeni respiratori nel periodo da settembre a novembre 2019: nessuno è risultato positivo al saggio in esame.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Lo studio è stato eseguito presso il laboratorio di Microbiologia e Virologia del Dipartimento di Medicina Molecolare della Sapienza Università di Roma.

Utilizzando sia il criterio diagnostico (ricerca molecolare del genoma di SARS-CoV-2) che la diagnosi clinica di COVID-19 sono stati stabiliti i soggetti positivi e i negativi a COVID-19. Utilizzando il siero dei suddetti soggetti e sulla base dei risultati ottenuti sono stati calcolati i valori di sensibilità e specificità del test in esame. Aliquote di siero da altri soggetti con documentata positività ad anticorpi diretti contro altri virus sono state utilizzate per ulteriori indagini finalizzate alla valutazione della cross-reattività.

L'analisi dei dati (1) ci consente di indicare che la sensibilità del saggio nelle presenti condizioni sperimentali è uguale a 92.3% (con IC al 95% 87.3-97.3) e la specificità è pari a 99% (con IC al 95% 94.5-99.8).

Dal momento che sono stati pubblicati lavori (2) in cui si dimostra che la quasi totalità dei soggetti infetti producono anticorpi solo a tempi più lunghi di quelli considerati in questo studio non possiamo escludere che con una campionatura posticipata rispetto all'esordio dei sintomi la sensibilità risulti più elevata.

Possiamo quindi indicare che la sensibilità come $\geq 92,3\%$. Sulla base della nostra esperienza (3,4), possiamo quindi affermare che relativamente alla sensibilità il saggio in esame è soddisfacente e paragonabile (o in qualche caso superiore) ad altri test commerciali, inclusi alcuni con metodica CLIA su piattaforma analitica, usati di routine nel nostro laboratorio.

I dati relativi alla specificità, inclusi i risultati ottenuti con sieri provenienti da soggetti non COVID-19 e positivi per altri antigeni, indicano che in queste condizioni e con i campioni selezionati come descritto,

essa è pari al 99%. Ne consegue che il test rileva anticorpi cross-reattivi in quantità minime, compatibili quindi con un suo utilizzo nella routine diagnostica.

Nel caso dei soggetti già diagnosticati come positivi (n.10) o negativi (n.10) all'infezione da SARS-CoV-2, il test è stato eseguito con il plasma e il sangue intero. I risultati sono sovrapponibili a quelli ottenuti con il siero. È possibile quindi concludere che il saggio si presta anche all'utilizzo di campioni diversi (sangue, plasma, siero) e alla metodica cd "pungi-dito".

È importante sottolineare che, sulla base dello schema sperimentale, i risultati possono essere riferiti, direttamente alla sensibilità e specificità clinica. **È possibile, pertanto, concludere che l'utilizzo del test in esame, anche se fornisce una dato qualitativo, si presta per indagini di screening sierologico.**

BIBLIOGRAFIA

- 1 - D G Altman, J M Bland Diagnostic tests. 1: Sensitivity and specificity. BMJ1994 Jun 11;308(6943):1552. doi: 10.1136/bmj.308.6943.1552.
- 2- Quan-Xin Long , Bai-Zhong Liu, Hai-Jun Deng et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 Nat Med 2020 Jun;26(6):845-848. doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.
- 3- Turriziani O, Sciandra I , Mazzuti L , Di Carlo D, Bitossi C, Calabretto M, Guerrizio G, Oliveto G, Riveros Cabral RJ, Viscido A, Falasca F, Gentile M, Pietropaolo VM, Rodio DM, Carattoli A, Antonelli G. SARS-CoV- diagnostics in the virology laboratory of a University Hospital in Rome during the lockdown period. J Med Virol. Jul ;0.00/jmv.633. doi: 0.00/jmv.633. Online ahead of print.
- 4- Riva E, Sainaghi PP, Turriziani O, Antonelli G, Patti G. SARS-CoV-2 infection: diagnostic testing results occasionally require special attention. Emerg Microbes Infect. 2020 Dec;9(1):1955-1957. doi: 10.1080/22221751.2020.1814165

Dipartimento di Medicina Molecolare
Laboratorio di Microbiologia e Virologia

FIGURA

Legenda alla figura

Test rapido per anticorpi anti-SARS-Cov-2 della Violatech srl. Esempio di colorazione in campione positivo per IgG e IgM.

C = banda corrispondente al controllo;

M = banda corrispondente agli anticorpi anti-SARS-CoV-2 della classe IgM;

G = banda corrispondente agli anticorpi anti-SARS-CoV-2 della classe IgG;

A = pozzetto per aggiunta siero;

B = pozzetto per aggiunta diluente.

