

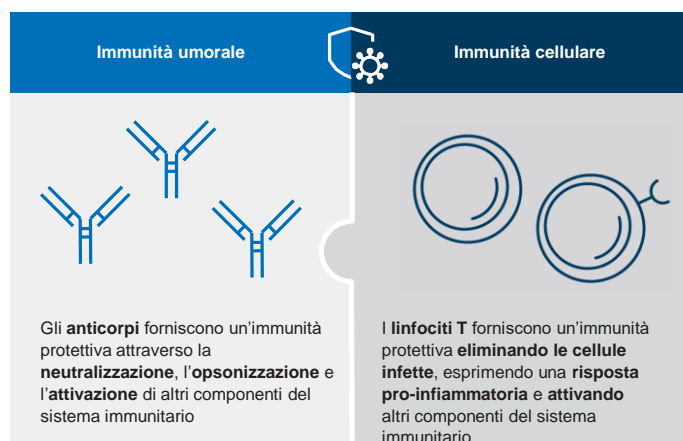
Elecsys® IGRA SARS-CoV-2

Immunodosaggio per la determinazione qualitativa della risposta immunitaria a SARS-CoV-2 mediata dai linfociti T

Il coronavirus 2 da sindrome respiratoria acuta grave (SARS-CoV-2) è un virus a singolo filamento di RNA racchiuso da un involucro e appartenente alla famiglia *Coronaviridae*. È l'agente responsabile della malattia da coronavirus 2019 (COVID-19)¹. SARS-CoV-2 si trasmette per contatto interpersonale principalmente attraverso le goccioline respiratorie ed entra nelle cellule ospiti attraverso l'enzima 2 di conversione dell'angiotensina (ACE2), che è particolarmente abbondante nei polmoni². Il periodo di incubazione di COVID-19 varia da 2 a 14 giorni dopo l'esposizione al virus; nella maggior parte dei casi, i sintomi si manifestano circa 4-5 giorni dopo l'esposizione³. La manifestazione clinica dell'infezione da SARS-CoV-2 è eterogenea e può variare da un'infezione asintomatica a una polmonite grave con sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) fino alla morte³. Benché la maggior parte dei casi sintomatici non siano gravi, la malattia può manifestarsi in forma grave e richiedere il ricovero in terapia intensiva, soprattutto negli adulti in età avanzata o con comorbidità sottostanti³. I componenti cellulari e umorali del sistema immunitario adattativo agiscono insieme per combattere le invasioni di agenti patogeni esterni⁴.

Una risposta immunitaria antivirale efficace richiede un'attività coordinata da parte dei linfociti T e B. Mentre i linfociti B producono anticorpi in grado di neutralizzare potenzialmente il virus⁵, l'azione dei linfociti T è mirata alle cellule infette per prevenire un'ulteriore replicazione e diffusione del virus⁶. L'infezione da SARS-CoV-2 e la vaccinazione anti-COVID-19 inducono sia una risposta dei linfociti T sia una dei linfociti B. Una risposta tempestiva e ben coordinata da parte dei linfociti T e B è verosimilmente la chiave per il controllo dell'infezione⁷. La misurazione della risposta dei linfociti T può essere utilizzata per la valutazione complessiva della risposta immunologica nei confronti dell'infezione da SARS-CoV-2 e/o della vaccinazione anti-COVID-19, può essere di supporto agli studi per l'identificazione di una possibile correlazione con la progressione verso la forma grave della malattia all'atto dell'infezione da SARS-CoV-2 e potrebbe fungere da potenziale correlato di protezione nei soggetti convalescenti e vaccinati, unitamente alla risposta dei linfociti B⁸. Inoltre, il dosaggio dei linfociti T può apportare ulteriori informazioni nei soggetti con risposta anticorpale bassa o indeterminata⁸, nei soggetti con carenza di linfociti B dovuta a malattia o terapie mirate contro i linfociti B⁹ e nei soggetti in cui con il passare del tempo si osserva una diminuzione del titolo anticorpale^{8,9}.

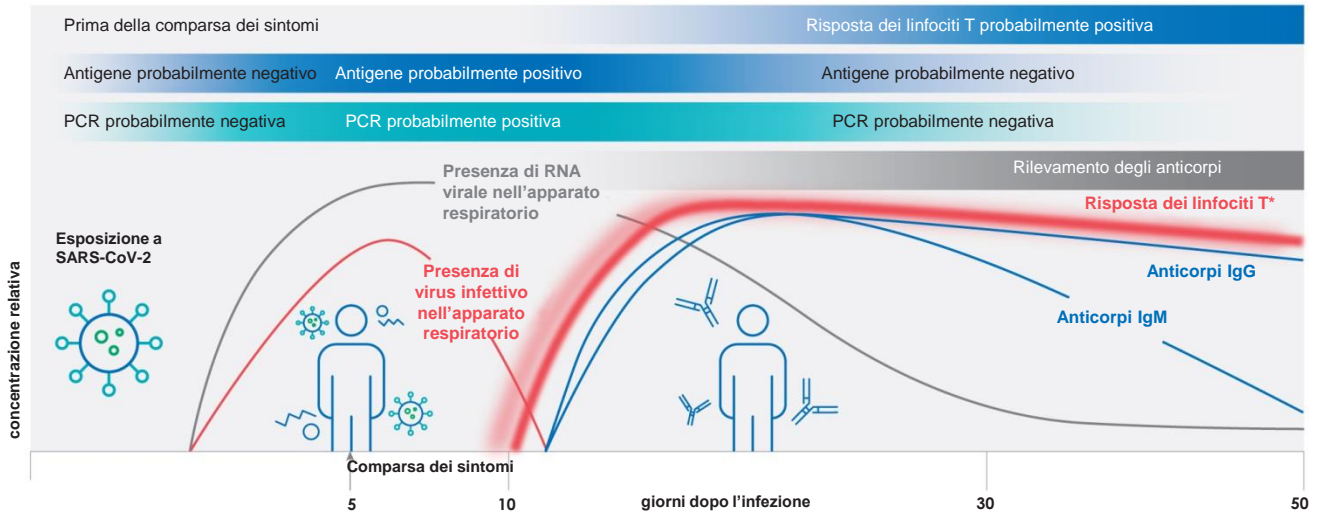
L'immunità umorale e l'immunità cellulare svolgono un ruolo complementare nella protezione^{4, 5, 10}



La risposta specifica dei linfociti T contro SARS-CoV-2 è stata osservata nella fase acuta, durante il recupero e nella convalescenza dopo un'infezione naturale^{4, 11, 12}. Una risposta dei linfociti T reattiva a SARS-CoV-2 è stata osservata anche all'atto della vaccinazione anti-COVID-19 con vaccini a mRNA¹³, a vettore adenovirale¹⁴, a subunità¹⁴ e a virione inattivato¹⁵.

La reattività dei linfociti T è estremamente importante e può svolgere un ruolo nei soggetti che presentano una diminuzione dei livelli di IgG. In effetti, una percentuale elevata di soggetti che si sono ristabiliti dopo 2-3 mesi o addirittura già dopo 6-7 settimane dall'esordio della malattia ha evidenziato una riduzione del titolo di IgG⁹.

Profilo dei marcatori nel decorso dell'infezione da SARS-CoV-2^{16, 17}



Solo a scopi illustrativi. * La risposta dei linfociti T può essere eterogenea sotto il profilo della funzionalità e della cinetica

Il test Elecsys® IGRA SARS-CoV-2 associa la stimolazione dei linfociti T *in vitro* da parte degli antigeni di SARS-CoV-2 contenuti nelle provette cobas® IGRA SARS-CoV-2 a un immunodosaggio automatizzato in elettrochemiluminescenza (ECLIA) dell'interferone gamma (IFN- γ) ai fini della determinazione qualitativa

della risposta immunitaria a SARS-CoV-2 mediata dai linfociti T nel sangue intero umano¹⁷.

Il test Elecsys® IGRA SARS-CoV-2 è destinato all'uso come ausilio nell'identificazione dei soggetti con risposta adattativa dei linfociti T a SARS-CoV-2, indice di esposizione pregressa al virus o di vaccinazione anti-COVID-19¹⁷.

Configurazione dell'immunodosaggio Elecsys® IGRA SARS-CoV-2¹⁸

Elecsys® IGRA SARS-CoV-2

Fase di stimolazione dei linfociti T del paziente (nel sangue intero) *in vitro* con antigeni di SARS-CoV-2 nella provetta cobas® IGRA SARS-CoV-2

PC

Sangue intero

NC

Ag

Letture automatizzata ECLIA dell'IFN- γ per la determinazione qualitativa *in vitro* della risposta immunitaria a SARS-CoV-2 mediata dai linfociti T del paziente

PC

Plasma

NC

Ag

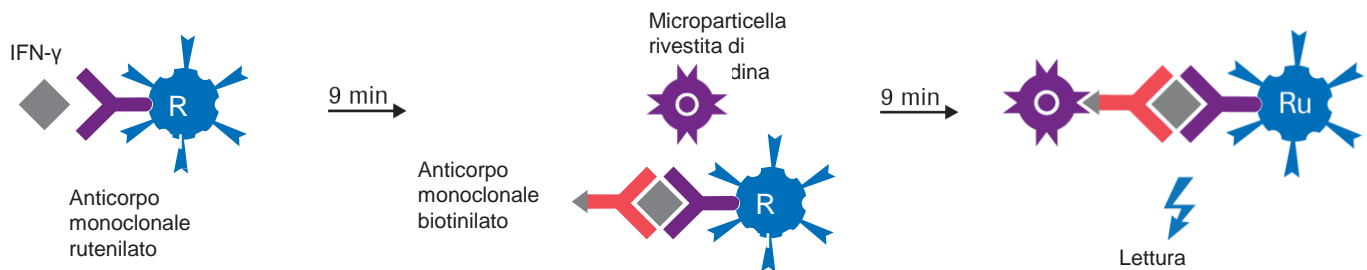
La provetta Ag contiene 189 peptidi diversi derivati da proteine strutturali e non strutturali di SARS-CoV-2. Questa miscela di peptidi è stata concepita per fornire una copertura significativa dei sottotipi comuni di HLA ai fini della stimolazione dei linfociti T sia CD4+ che CD8+

Dosaggio sandwich a doppio anticorpo (DABS) basato su anticorpi monoclonali specifici contro l'IFN- γ umano marcati con un complesso di rutenio, microparticelle rivestite di streptavidina e un anticorpo monoclonale biotinilato specifico contro l'IFN- γ umano

PC: controllo positivo; NC: controllo negativo (provetta Nil); Ag: antigene di SARS-CoV-2

Immunodosaggio in elettrochemiluminescenza (ECLIA)¹⁸

Principio del test: dosaggio sandwich a doppio anticorpo (DABS) (tempo di esecuzione: 18 minuti)



Step 1 (9 minuti):

30 µl* / 18 µl** di campione vengono incubati con anticorpi monoclonali rutenilati specifici contro l'IFN-γ umano.

Step 2 (9 minuti):

Dopo l'aggiunta delle microparticelle rivestite di streptavidina e di un anticorpo monoclonale biotinilato specifico contro l'IFN-γ umano, i complessi DABS si legano alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.

Step 3 (lettura):

La miscela viene trasferita in una cella di misura, dove le microparticelle aderiscono magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Le sostanze non legate vengono eliminate. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione luminosa che viene misurata mediante un fotomoltiplicatore.

Nota: i tre campioni plasmatici (provette NC, Ag e PC) dello stesso paziente devono essere misurati immediatamente l'uno dopo l'altro.

* Analizzatore **cobas e 411** e moduli **cobas e 601/602** ** Unità analitiche **cobas e 801** e **cobas e 402**

Caratteristiche del test Elecsys® IGRA SARS-CoV-2¹⁸

Sistema	Analizzatore cobas e 411 , moduli cobas e 601/602 e unità analitiche cobas e 402 / cobas e 801
Tempo di esecuzione del test	Stimolazione dei linfociti T: 16-24 ore; IFN-γ ECLIA: 18 minuti
Principio del test	Due step: 1. Stimolazione dei linfociti T con peptidi di SARS-CoV-2; 2. Immunodosaggio automatizzato ECLIA per la determinazione dell'IFN-γ (dosaggio sandwich a doppio anticorpo)
Calibrazione	Calibrazione su 2 punti
Tracciabilità	Standardizzato rispetto al primo codice NIBSC britannico per l'INTERFERONE GAMMA (UMANO, DI DERIVAZIONE LEUCOCITARIA): 82/587
Controllo qualità (campioni)	Provetta NC: controllo negativo (livelli al basale di IFN-γ); provetta PC: controllo positivo (fitness dei linfociti T)
Controllo qualità (IFN-γ ECLIA)	PreciControl Interferon Gamma
Tipi di campione	Stimolazione dei linfociti T: sangue intero umano (raccolto in provette con litio-eparina o provette cobas IGRA SARS-CoV-2); IFN-γ ECLIA: plasma*
Volume di campione	Stimolazione dei linfociti T: 3 x 1,2 ml; IFN-γ ECLIA: 30 µl*** / 18 µl****
Stabilità a bordo	14 giorni
Precisione intermedia**	cobas e 411 : CV 2,5-5,1%; cobas e 601/602 : CV 2,5-3,4 %; cobas e 402/801 : 1,4-1,9%

* Risultante dalla centrifugazione del sangue intero dopo stimolazione dei linfociti T ** In campioni di plasma contenenti IFN-γ (~0,4-90 U/ml)

*** Analizzatore **cobas e 411** e moduli **cobas e 601/602** **** Unità analitiche **cobas e 801** e **cobas e 402**

Sensibilità clinica¹⁸

Il test Elecsys® IGRA SARS-CoV-2 è stato eseguito in totale su 214 campioni, di cui 50 di soggetti risultati positivi in passato ad almeno un test molecolare (RT-PCR) a marchio CE, ma non vaccinati all'epoca dello studio, e 164 di soggetti sottoposti a un ciclo completo di vaccinazione anti-COVID-19 (inclusa la dose booster), ma mai risultati positivi a un test SARS-CoV-2 all'epoca dello studio. La sensibilità complessiva (convalescenti e vaccinati) è risultata pari al **92,96%** (IC al 95%: **88,65-96,01%**).

Specificità clinica¹⁸

La specificità del test Elecsys® IGRA SARS-CoV-2 è stata valutata utilizzando 78 campioni di sangue intero da donatori negativi, cioè mai risultati positivi a un test SARS-CoV-2, mai sottoposti a vaccinazione anti-COVID-19 e sieronegativi ai test Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 ed Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S. Sono stati ottenuti 77 risultati validi. Di questi, 71 erano non reattivi, 3 reattivi e 3 indeterminati, con una specificità clinica pari al **92,21%** (IC al 95%: **83,81-97,09%**).

Informazioni per l'ordinazione

Prodotto	Contenuto della confezione	Codice prodotto
Elecsys® IGRA SARS-CoV-2 ^{a)}	200 test	09 542 477 190
Elecsys® IGRA SARS-CoV-2 ^{b)}	300 test	09 542 485 190
cobas® IGRA SARS-CoV-2 Tubes*	3 x 25	09 542 507 190
CalSet IGRA SARS-CoV-2	4 x 1,0 ml	09 542 493 190
PreciControl Interferon Gamma	4 x 1,0 ml	09 437 665 190

* Il prodotto **cobas** IGRA SARS-CoV-2 Tubes è costituito da 25 provette sottovuoto per la raccolta del sangue per ciascuna tipologia di provetta

(NC: controllo negativo; Ag; antigene; PC: controllo positivo), ognuna contenente anticoagulante (eparina di litio).

^{a)} utilizzabile sull'analizzatore **cobas e** 411 e sui moduli **cobas e** 601/602; ^{b)} utilizzabile sulle unità analitiche **cobas e** 801 e **cobas e** 402

Bibliografia

- Su S, Wong G, Shi W, et al. *Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses*. *Trends Microbiol*. 2016;24(6):490-502.
- Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. *A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019*. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-733.
- National Institutes of Health. *COVID-19 Treatment guidelines*. Overview of Covid-19. Disponibile su: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/overview-of-covid-19/>. Ultimo accesso 14 luglio 2022.
- Dan JM, et al. (2021). *Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection*. *Science*. 2021 Feb 5;371(6529):eabf4063.
- VanBlargan LA et al. (2016). *Deconstructing the antiviral neutralizing-antibody response: implications for vaccine development and immunity*. *Microbiol Mol Biol Rev* 80:989-1010. doi:10.1128/MMBR.00024-15
- Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. *Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life*. *Immunity*. 2018 Feb 20;48(2):202-213. doi: 10.1016/j.immuni.2018.01.007. PMID: Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. *Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life*. *Immunity*. 2018 Feb 20;48(2):202-213. doi: 10.1016/j.immuni.2018.01.007. PMID: 29466753; PMCID: PMC5826622
- Liu Y, et al. (2022) *Robust induction of B cell and T cell responses by a third dose of inactivated SARS-CoV-2 vaccine*. *Cell Discovery* 8:10.
- Moss, P. (2022) *The T cell immune response against SARS-CoV-2*. *Nat Immunol* 23, 186-193. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01122-w>
- Steiner S, et al. (2022) *SARS-CoV-2 T Cell Response in Severe and Fatal COVID-19 in Primary Antibody Deficiency Patients Without Specific Humoral Immunity*. *Front. Immunol., Sec. Primary Immunodeficiencies* <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.840126>
- Lumley SF et al. *Antibody Status and Incidence of SARS-CoV-2*. *Infection in Health Care Workers*. *N Engl J Med* 2021; 384:533-540. DOI: 10.1056/NEJMoa2034545
- Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, et al. *Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute Covid-19 and Associations with Age and Disease Severity*. *Cell* 2020 Nov;183(4):996-1012.
- Bonifacius A, Tischer-Zimmermann S, Dragon AC, et al. *Covid-19 immune signatures reveal stable antiviral T Cell function despite declining humoral responses*. *Immunity* 2021 Feb 9;54(2):340-354.
- Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, et al. *COVID-19 vaccine Bnt162b1 elicits human antibody and T(H)1 T cell responses*. *Nature* 2020 Oct;586(7830):594-599.
- Zhang Z, Mateus J, Coelho CH, et al. *Humoral and cellular immune memory to four COVID-19 vaccines*. *Cell* 2022;185(14):2434-2451.
- Jeewandara C, Aberathna IS, Pushpakumara PD, et al. *Antibody and T cell responses to Sinopharm/BBIBP-CorV in naïve and previously infected individuals in Sri Lanka*. *medRxiv* 2021.10.14.21265030.
- Sethuraman N, et al. *Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2*. *JAMA*. 2020;323(22):2249-2251.
- Koch T, Mellinghoff SC, Shamsrizi P, et al. *Correlates of Vaccine-Induced Protection against SARS-CoV-2*. *Vaccines* 2021, 9, 238.
- Scheda tecnica Elecsys® IGRA SARS-CoV-2 (Cod. 09542477190), VI 2022-06.

COBAS, COBAS E, ELECSYS e PRECICONTROL sono marchi commerciali di Roche.

© 2022 Roche

A cura di:

Roche Diagnostics SpA
Viale G.B. Stucchi, 110
20900 Monza (MB)

Materiale destinato esclusivamente
agli operatori sanitari
MC-IT-01013