

Elecsys Anti-HAV IgM

cobas®

REF



SYSTEM

07026773190

07026773500

300

cobas e 402

cobas e 801

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (application code number – codice di applicazione)
AHAVIGM	10162

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione qualitativa *in vitro* degli anticorpi IgM diretti contro il virus dell'epatite A nel siero e nel plasma umani. Il test viene impiegato per coadiuvare la diagnosi di un'infezione da virus dell'epatite A acuta o recentemente acquisita.

L'esecuzione dell'ImmunoAssay in ElettroChemiluminescenza "ECLIA" è destinata all'uso sugli immunoanalizzatori **cobas e**.

Sommario

Il virus dell'epatite A (HAV) è un virus contenente RNA a filamento singolo, privo di involucro e appartenente alla famiglia dei picornavirus. Finora sono stati descritti solo un unico sierotipo umano e 6 genotipi, dei quali 3 colpiscono gli esseri umani (genotipi I, II e III).¹ Inizialmente erano stati descritti 7 genotipi, ma le analisi effettuate successivamente suggeriscono che i genotipi II e VII sono sottotipi del genotipo II.² Il capsido virale è costituito da 3 proteine strutturali principali (VP1-VP3) e una quarta proteina putativa (VP4) che, sulla superficie della particella virale, formano una struttura immunodominante e altamente conservata tra tutti i genotipi, contro la quale è diretta la risposta immunitaria dopo vaccinazione o infezione naturale.^{1,3}

L'HAV è una delle cause più frequenti di ittero infettivo, e la sua trasmissione avviene per via oro-fecale. L'HAV causa epatite acuta e non è associato alle epatopatie croniche; nemmeno persiste il virus nell'organismo.^{1,3} Per la diagnosi differenziale dell'epatite A acuta sono necessari test sierologici per la rilevazione degli anticorpi IgM (immunoglobulina M) anti-HAV.^{1,4} Gli anticorpi IgM anti-HAV sono sempre rilevabili all'inizio della malattia e, nella maggior parte dei casi, scompaiono entro 3-6 mesi; in alcuni pazienti, però, sono rilevabili anche per un periodo di tempo più lungo.^{1,4} Dopo vaccinazione si riscontrano anticorpi IgM anti-HAV solo in casi rari.¹

Principio del test

Principio di μ -cattura. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: pretrattamento di 6 μ L del campione diluito automaticamente 1:400 (con Diluent Universal) con reattivo anti-Fdy per il bloccaggio dell'IgG specifica in presenza di anticorpi monoclonali anti-HAV, marcati con un complesso di rutenio^a.
- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di anticorpi monoclonali biotinilati specifici anti-h-IgM, di antigene dell'HAV nonché di microparticelle rivestite di streptavidina, gli anticorpi IgM anti-HAV presenti nel campione formano, con l'antigene dell'HAV e con l'anticorpo anti-HAV marcato con rutenio, un complesso sandwich, che si lega alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.
- La miscela di reazione viene aspirata nella cella di misura dove le microparticelle vengono attratte magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Successivamente si eliminano le sostanze non legate impiegando ProCell II M. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione chemiluminescente che viene misurata mediante il fotomoltiplicatore.
- I risultati vengono calcolati automaticamente dal software, confrontando il segnale elettrochemiluminescente proveniente dal prodotto di reazione del campione con quello del valore di cutoff, ottenuto precedentemente mediante calibrazione.

a) Complesso di rutenio (III) tris(2,2'-bipiridile) (Ru(bpy)₃)²⁺

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

Il **cobas e** pack (M, R1, R2) è contrassegnato con AHAVIGM.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 flacone, 12.4 mL:
microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.

- R1 Anticorpi anti-HAV~Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacone, 21.0 mL:
anticorpo (murino) monoclonale anti-HAV marcato con un complesso di rutenio 0.15 μ g/mL; anticorpo (pecora) anti-Fdy umano 0.04 mg/mL; tampone HEPES^b 50 mmol/L, pH 7.2; conservante.
- R2 Anticorpi anti-h-IgM-biotina; antigene dell'HAV, 1 flacone, 21.0 mL:
anticorpo (murino) monoclonale biotinilato anti-h-IgM 0.4 μ g/mL; antigene dell'HAV (coltura cellulare) 25 U/mL (unità Roche); tampone HEPES 50 mmol/L, pH 7.2; conservante.

b) HEPES = acido [4-(2-idrossietil)-piperazina]-etansolfonico

- AHAVIGM Cal1 Calibratore negativo 1, 1 flacone da 0.67 mL:
siero umano, negativo per IgM anti-HAV; conservante.
- AHAVIGM Cal2 Calibratore positivo 2, 1 flacone da 0.67 mL:
IgM (umana) anti-HAV ca. 5 U/mL (unità Roche), in siero umano; conservante.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

2-methyl-2H-isothiazol-3-one hydrochloride

EUH 208 Può provocare una reazione allergica.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Tutto il materiale di origine umana deve essere considerato come potenzialmente infettivo.

Per la preparazione dei calibratori (AHAVIGM Cal1 e AHAVIGM Cal2) viene utilizzato solo sangue di donatori che sono stati testati individualmente e sono risultati negativi per la ricerca di HBsAg e di anticorpi anti-HCV e anti-HIV.

Per i metodi di dosaggio sono stati impiegati test approvati dall'FDA o rilasciati in conformità con la Direttiva Europea 98/79/CE, Allegato II, Lista A.

Il siero contenente IgM anti-HAV e l'antigene dell'HAV (coltura cellulare) sono stati inattivati con β -propiolattone e con raggi ultravioletti.

Poiché non è comunque possibile escludere con sicurezza il pericolo di infezione con nessun metodo di inattivazione o di dosaggio, è necessario manipolare il materiale con le stesse precauzioni adottate per i campioni prelevati dai pazienti. Nel caso di una esposizione, si deve procedere secondo le specifiche indicazioni sanitarie.^{5,6}

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

I reattivi della confezione (M, R1, R2), forniti nel **cobas e** pack, sono pronti all'uso.

Calibratori:

I calibratori forniti sono pronti all'uso e contenuti in flaconi compatibili con il sistema.

Se, per la calibrazione sull'analizzatore, non è necessario l'intero volume, trasferire le aliquote dei calibratori pronti all'uso in flaconi vuoti con chiusura a scatto (CalSet Vials). Applicare le etichette fornite nella confezione a questi flaconi aggiuntivi. Conservare le aliquote a 2-8 °C per impieghi successivi.

Ogni aliquota può essere utilizzata per una sola calibrazione.

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas** link.

Elecsys Anti-HAV IgM

cobas®

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Non congelare.

Conservare il **cobas e** pack in **posizione verticale** in modo da garantire la completa disponibilità delle microparticelle durante il mescolamento automatico prima dell'uso.

Stabilità del cobas e pack:	
prima dell'apertura a 2-8 °C	fino alla data di scadenza indicata
sugli analizzatori	16 settimane

Stabilità dei calibratori:	
prima dell'apertura a 2-8 °C	fino alla data di scadenza indicata
dopo l'apertura a 2-8 °C	16 settimane
sugli analizzatori a 20-25 °C	per 1 impiego unico

Conservare i calibratori in **posizione verticale** per evitare l'adesione del liquido di calibrazione nel tappo con chiusura a scatto.

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero, prelevato con provette standard per prelievi di campioni o con provette contenenti gel di separazione.

Plasma con litio eparina, sodio eparina, K₂-EDTA, K₃-EDTA e citrato di sodio.

Criterio di valutazione: assegnazione corretta dei campioni positivi e negativi. Campioni con un ICO (indice di cutoff) ≥ 1.0 : recupero $\pm 20\%$; campioni con un ICO < 1.0 : recupero ± 0.20 .

Stabilità: 7 giorni a 15-25 °C, 14 giorni a 2-8 °C, 3 mesi a -20 °C (± 5 °C). I campioni possono essere congelati 5 volte.

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni o sistemi disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette / dei sistemi per il prelievo di campioni.

I campioni contenenti precipitati e quelli scongelati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Non impiegare campioni inattivati a caldo.

Non impiegare campioni e controlli stabilizzati con azide.

Assicurarsi che i campioni ed i calibratori al momento della misura siano alla temperatura di 20-25 °C.

Per evitare un'eventuale evaporazione, analizzare/misurare i campioni e calibratori che si trovano sugli analizzatori entro 2 ore.

Le prestazioni del test Elecsys Anti-HAV IgM non sono state stabilite con campioni cadaverici o fluidi corporei diversi da siero o plasma.

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

- 2 x 4 etichette per flaconi

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 11876368122, PreciControl Anti-HAV IgM, 16 x 0.67 mL
- [REF] 11776576322, CalSet Vials, 2 x 56 flaconi vuoti con chiusura a scatto
- [REF] 07299001190, Diluent Universal, 45.2 mL di diluente per campioni
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Analizzatore **cobas e**

Altri materiali per gli analizzatori **cobas e** 402 e **cobas e** 801:

- [REF] 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L di soluzione di sistema
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura

- [REF] 07485409001, Reservoir Cup, 8 coppette per la fornitura di ProCell II M e CleanCell M
- [REF] 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio
- [REF] 05694302001, Assay Tip/Assay Cup tray, 6 pile da 6 supporti, ciascuno contenente 105 puntali e 105 cuvette per il test, 3 scatole di cartone per rifiuti
- [REF] 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 coppette adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- [REF] 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 coppetta adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- [REF] 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL di soluzione di lavaggio per il sistema

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

La risospensione delle microparticelle prima dell'uso avrà luogo automaticamente.

Collocare il **cobas e** pack refrigerato (conservato a 2-8 °C) sul reagent manager. Evitare la formazione di schiuma. La regolazione della temperatura esatta dei reattivi nonché l'apertura e la chiusura del **cobas e** pack avranno luogo automaticamente nello strumento.

Calibratori

Collocare i calibratori nelle posizioni dedicate per i campioni.

Leggere nello strumento tutti i dati necessari per la calibrazione del test.

Calibrazione

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro uno standard di riferimento di Roche. Le unità sono state scelte arbitrariamente.

Frequenza di calibrazione: effettuare una calibrazione per ogni lotto di reagente con AHAVIGM Cal1, AHAVIGM Cal2 e reagente fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione della confezione di reagente sull'analizzatore).

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Si consiglia di ripetere la calibrazione come segue:

- dopo 8 settimane se si impiega lo stesso lotto di reagente
- dopo 28 giorni se si impiega lo stesso **cobas e** pack sull'analizzatore
- all'occorrenza: ad esempio se i risultati di un controllo di qualità sono al di fuori dei limiti definiti

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl Anti-HAV IgM.

I controlli per le diverse concentrazioni devono essere eseguiti individualmente almeno 1 volta ogni 24 ore quando il test è in uso, al cambio di ogni **cobas e** pack e dopo ogni calibrazione.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Se necessario, va ripetuta la misura dei corrispondenti campioni.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

L'analizzatore effettua il calcolo automatico del cutoff in base alla misura di AHAVIGM Cal1 e di AHAVIGM Cal2.

Il risultato di un campione viene indicato come reattivo o come non reattivo nonché come indice di cutoff (segnale campione/cutoff).

Elecsys Anti-HAV IgM

cobas®

Interpretazione dei risultati

Risultato numerico	Messaggio relativo al risultato	Interpretazione / ulteriori azioni
ICO < 1.0	Non reattivo	Negativo per anticorpi specifici contro IgM anti-HAV
ICO ≥ 1.0	Reattivo	Positivo per anticorpi specifici contro IgM anti-HAV

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Testando le interferenze fino alle concentrazioni elencate, non è stata osservata alcuna influenza sui risultati.

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione testata
Bilirubina	≤855 µmol/L oppure ≤50 mg/dL
Emoglobina	≤0.621 mmol/L oppure ≤1000 mg/dL
Intralipid	≤1000 mg/dL
Biotina	≤205 nmol/L oppure ≤50 ng/mL
Fattori reumatoidi	≤1200 IU/mL
IgG	≤7.0 g/dL
IgA	≤1.6 g/dL

Valutazione: campioni con un ICO ≥ 1.0: recupero ± 20 %; campioni con un ICO < 1.0: recupero ± 0.20.

Ai pazienti sottoposti a terapia con alti dosaggi di biotina (>5 mg/die), il campione dovrà essere prelevato almeno 8 ore dopo l'ultima somministrazione di biotina.

L'effetto hook non provoca risultati falsamente negativi nel test Elecsys Anti-HAV IgM.

Sostanze farmaceutiche

Tra 16 farmaci di frequente impiego, testati *in vitro*, non si è osservata alcuna interferenza con il test.

In rari casi possono riscontrarsi interferenze causate da alti titoli di anticorpi contro componenti immunologiche, di anticorpi anti-streptavidina o anti-rutenio.

Come in molti test che impiegano il principio di µ-cattura, si osserva un'interferenza con le IgM non specifiche. Quantità crescenti di IgM non specifiche possono provocare un decremento nel recupero di campioni positivi con il test Elecsys Anti-HAV IgM.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Diluizione

Impiegare Diluent Universal per la prediluizione automatica dei campioni. Ciò vale anche nel caso che sia necessaria un'ulteriore diluizione dei campioni.

Valori di riferimento

Il cutoff viene scelto in modo tale che la concentrazione di IgM anti-HAV, in presenza di un'infezione acuta da HAV, sia superiore all'indice di cutoff. In caso di un'epatite A pregressa, la concentrazione di IgM anti-HAV di regola è inferiore all'indice di cutoff di 1.0.

Nel corso della maggior parte delle infezioni acute da epatite A, la concentrazione di IgM anti-HAV diminuisce entro 3-4 mesi dall'insorgenza dei primi sintomi e, dopodiché, non può più essere rilevata. Solo in alcuni casi eccezionali gli anticorpi IgM anti-HAV rimangono persistenti e sono rilevabili oltre tale periodo di tempo.^{7,8,9}

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata impiegando reattivi Elecsys, campioni e controlli, eseguiti in base ad un protocollo (EP05-A3) del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*): 2 serie al giorno, ciascuna in duplicato, per 21 giorni (n = 84). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Analizzatori cobas e 402 e cobas e 801					
		Ripetibilità		Precisione intermedia	
Campione	Media ICO	DS ICO	CV %	DS ICO	CV %
SU ^c , negativo	0.317	0.005	1.6	0.008	2.5
SU, leggermente positivo	1.12	0.020	1.8	0.025	2.2
SU, positivo	3.28	0.073	2.2	0.091	2.8
PC ^d Anti-HAV IgM 1	0.310	0.004	1.3	0.006	2.0
PC Anti-HAV IgM 2	1.92	0.054	2.8	0.101	5.3

c) SU = siero umano

d) PC = PreciControl

Specificità analitica

Non sono state osservate reazioni crociate con IgG anti-HAV, HBV, HCV, CMV, EBV, HSV, rosolia e *Toxoplasma gondii*.

Sono stati misurati tutti questi patogeni, impiegando ≥9 campioni di siero o di plasma che sono risultati positivi per anticorpi contro tali patogeni oppure contenevano autoanticorpi (ANA, AMA).

Sensibilità clinica

Campioni prelevati da pazienti durante una fase acuta dell'infezione da HAV

In 211/211 campioni prelevati da pazienti clinicamente caratterizzati con un'infezione acuta da HAV, si sono rilevati anticorpi IgM anti-HAV con il test Elecsys Anti-HAV IgM e con un test di confronto per l'IgM anti-HAV. L'intervallo di confidenza al 95 % per la sensibilità è del 98.3-100 %.

Campioni prelevati da pazienti monitorati dopo un'infezione acuta da HAV

Un totale di 147 campioni prelevati da 45 pazienti monitorati dopo un'infezione acuta da HAV sono stati determinati con il test Elecsys Anti-HAV IgM e con un test di confronto per l'IgM anti-HAV.

122 campioni ne sono risultati positivi con entrambi i test, 14 negativi con entrambi i test. 10 di 11 campioni discrepanti erano stati prelevati da pazienti nella fase di recupero (>4 mesi dopo l'insorgenza dei primi sintomi). 9 di questi campioni sono risultati negativi con il test Elecsys Anti-HAV IgM e positivi o al limite con il test di confronto.

1 campione leggermente positivo con il test Elecsys Anti-HAV IgM è risultato al limite con il test di confronto.

1 campione positivo con il test Elecsys Anti-HAV IgM è risultato negativo con il test di confronto. Questo campione, riscontrato in una primissima fase di sieroconversione dell'HAV, è stato confermato positivo con un terzo test per l'IgM anti-HAV.

Specificità clinica

Per determinare la specificità, sono stati esaminati campioni prelevati da donatori di sangue non selezionati. Tutti i 1032 campioni prelevati da tali donatori sono risultati negativi con il test Elecsys Anti-HAV IgM.

280/280 campioni prelevati da pazienti ospedalizzati, da donne in gravidanza, da pazienti dializzati e da tossicodipendenti, senza indizi di un'infezione da HAV, sono risultati negativi sia con il test Elecsys Anti-HAV IgM che con il test di confronto.

Un ulteriore campione prelevato da una donna in gravidanza è risultato leggermente positivo con entrambi i test. La specificità in entrambi gli studi è pari al 100 %. L'intervallo di confidenza al 95 % è pari al 99.7-100 %.

Letteratura

- Hollinger FB, Emerson SU. Hepatitis A virus. In: Fields Virology, Knipe DM, Howley PM (eds), 2007 5th edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA. Chapter 27, pp911-947.

Elecsys Anti-HAV IgM

cobas®

- 2 Lu L, Ching KZ, de Paula SV, et al. Characterization of the complete genomic sequence of genotype II hepatitis A virus (CF53/Berne isolate). J Gen Virol 2004;85:2943-2952.
- 3 Martin A, Lemon SM. Hepatitis A virus: from discovery to vaccines. Hepatology 2006 Feb;43(2 Suppl 1):S164-172.
- 4 Wasley A, Fiore A, Bell BP. Hepatitis A in the era of vaccination. Epidemiol Rev 2006;28:101-111.
- 5 Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register.
- 6 Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- 7 Stapleton JT. Host Immune Response to Hepatitis A Virus. JID 1995;171(Suppl 1):9-14.
- 8 Gust I. Diagnosis. In: Viral Hepatitis. Eds Zuckerman AJ, Thomas HC, Churchill Livingstone, 1995;55-59.
- 9 Bower WA, Nainan OV, Han X, et al. Duration of Viremia in Hepatitis A Virus Infection. JID 2000;182:12-17.

Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore, i rispettivi fogli di applicazione, la Product Information e le metodiche di tutti i componenti necessari (se disponibili nel vostro paese).

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog. Roche.com):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reattivo
	Calibratore
	Volume dopo ricostituzione o mescolamento
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2020, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.Roche.com

