

Xpert® HCV Viral Load

REF **GXHCV-VL-CE-10**
GXHCV-VL-IN-10



Dispositivo medico per uso
diagnostico *in vitro*

CE 2797

IVD

301-3019-IT, Rev. H dicembre 2020

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, Xpert®, and Xpertise™ are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

Notice to Purchaser: Armored RNA® is technology jointly owned by Asuragen, Inc. and Cenetron Diagnostics, Ltd. Armored RNA is a registered trademark of Asuragen, Inc. and Cenetron Diagnostics, Ltd.

ORTHO® is a registered trademark of Ortho-Clinical Diagnostics.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © 2015-2020 Cepheid. All rights reserved.

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid®, il logo Cepheid, GeneXpert®, Xpert® ed Xpertise™ sono marchi di fabbrica di Cepheid.

Windows® è un marchio di fabbrica di Microsoft Corporation.

Avviso per l'acquirente: Armored RNA® è una tecnologia di proprietà comune di Asuragen, Inc. e Cenetron Diagnostics, Ltd. Armored RNA è un marchio registrato di Asuragen, Inc. e Cenetron Diagnostics, Ltd.

ORTHO® è un marchio di registrato di Ortho-Clinical Diagnostics.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO D'ACCORDO CON QUESTO FOGLIETTO ILLUSTRATIVO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

Copyright © 2015-2020 Cepheid. Tutti i diritti riservati.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert® HCV Viral Load

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

1 Nome registrato

Xpert® HCV Viral Load

2 Nome comune o usuale

HCV VL (Carica virale del virus dell'epatite C)

3 Uso previsto

Il saggio HCV VL, eseguito sui sistemi di strumentazione GeneXpert®, è stato ideato per la quantificazione rapida dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) in campioni umani di plasma (in EDTA) o siero prelevati da individui con infezione da HCV. Il test si avvale della reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione (RT-PCR) automatizzata, che utilizza la fluorescenza per rilevare l'RNA di interesse per la quantificazione dell'HCV.

Il saggio HCV VL quantifica i genotipi dell'HCV da 1 a 6 nell'intervallo da 10 UI/mL a 100.000.000 UI/mL. Il saggio HCV VL è indicato come ausilio nella gestione dei pazienti con infezione da HCV sottoposti a terapia antivirale. Il test misura i livelli di RNA dell'HCV alla linea basale e durante il trattamento, e può essere utilizzato per prevedere la risposta virologica sostenuta e quella non sostenuta alla terapia contro l'HCV.

I risultati del saggio HCV VL possono anche essere usati per confermare l'infezione da HCV in individui anti-HCV positivi. Nei soggetti anti-HCV positivi che risultano negativi all'RNA dell'HCV, si può prendere in considerazione l'uso di un altro saggio per gli anticorpi dell'HCV, in modo da distinguere tra la reale esposizione all'HCV e la falsa positività biologica. Può essere indicato ripetere il test dell'RNA dell'HCV se il soggetto è stato esposto all'HCV negli ultimi 6 mesi o in caso di evidenza clinica di malattia da HCV.

Il saggio Xpert HCV VL è previsto per l'uso da parte di professionisti di laboratorio o di operatori sanitari con formazione specifica.

Il saggio non è destinato a essere utilizzato come test di screening dell'HCV per i donatori di sangue.

4 Riepilogo e spiegazione

L'HCV appartiene alla famiglia dei Flaviviridae ed è stato riconosciuto come il principale agente eziologico delle epatopatie croniche, tra cui l'epatite attiva cronica, la cirrosi e il carcinoma epatocellulare.¹ Il genoma dell'HCV è una molecola di RNA a polarità positiva di circa 9500 nucleotidi.¹ L'HCV si trasmette normalmente attraverso esposizione percutanea a sangue infetto, principalmente per assunzione di sostanze per via endovenosa e infusione di prodotti ematici da donatori non sottoposti a screening. È stato dimostrato che, meno frequentemente, l'HCV viene trasmesso mediante esposizione occupazionale, perinatale e sessuale.²

Si stima che 185 milioni di persone, ossia approssimativamente il 3% della popolazione mondiale, presentino infezione da HCV, di cui oltre l'80% vive nei Paesi a basso-medio reddito (Low and Middle Income Countries, LMIC).³ Il carico della malattia è maggiore nei paesi in via di sviluppo; la più alta prevalenza segnalata è in Cina (3,2%)⁴, Pakistan (4,8%)⁴, Nigeria (18,3%)⁵ ed Egitto (22%).⁴ In Europa, circa 15 milioni di adulti sono affetti da HCV e la maggior parte di essi non è a conoscenza della propria infezione.⁶ Ogni anno, dalle 350.000 alle 500.000 persone muoiono a causa di epatopatie correlate all'HCV.⁷

I farmaci antivirali possono curare l'HCV, ma l'accesso alla diagnosi e al trattamento è limitato.⁷ Attualmente, la maggior parte dei pazienti può guarire dall'infezione da HCV con combinazioni altamente efficaci, sicure e tollerabili di antivirali orali ad azione diretta (direct-acting antivirals, DAA), assunti per 8–24 settimane.⁵ Per la prima volta, l'eradicazione del virus dell'epatite C viene oggi considerata un traguardo verosimile.⁵

La quantificazione dell'RNA dell'HCV si è dimostrata utile nel fornire un parametro di valutazione dell'efficacia della risposta antivirale al trattamento contro l'HCV. Le linee guida per la gestione e il trattamento dell'HCV raccomandano l'analisi quantitativa dell'RNA dell'HCV prima, durante e dopo la terapia antivirale. L'obiettivo primario del trattamento è la risposta virologica sostenuta (Sustained Virologic Response, SVR), definita come RNA dell'HCV non rilevabile da parte di un test sensibile 12 o 24 settimane dopo il termine del trattamento, a seconda della terapia anti-HCV.⁸

5 Principio della procedura

I sistemi di strumentazione GeneXpert consentono di automatizzare e integrare la purificazione dei campioni, l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento della sequenza bersaglio in campioni semplici o complessi mediante RT-PCR che utilizza la fluorescenza per il rilevamento dell'RNA di interesse. I sistemi comprendono uno strumento, un computer e un software già installato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso delle cartucce GeneXpert monouso che contengono i reagenti RT-PCR e in cui si svolgono i processi RT-PCR. Essendo le cartucce chiuse, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa dei sistemi, vedere il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Infinity*, come appropriato.

Il saggio HCV VL include i reagenti per il rilevamento dell'RNA dell'HCV nei campioni di analisi, oltre a due controlli interni usati per la quantificazione dell'RNA dell'HCV. I controlli interni monitorano il recupero e la presenza di inibitori nelle reazioni di RT e PCR. Il controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC) verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del colorante.

6 Reagenti

6.1 Materiali in dotazione



Il kit del saggio HCV VL contiene una quantità di reagenti sufficiente per il trattamento di 10 campioni di analisi o campioni di controllo qualità. Il contenuto del kit è descritto di seguito.

Cartucce del saggio HCV VL con provette di reazione integrate	10
• Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate)	1 di ciascuna per cartuccia
• Reagente di lisi (guanidina tiocianato)	2,0 mL per cartuccia
• Reagente di risciacquo	0,5 mL per cartuccia
• Reagente di eluizione	1,5 mL per cartuccia
• Reagente legante	2,4 mL per cartuccia
• Reagente proteinasi K	0,48 mL per cartuccia
Pipette di trasferimento da 1 mL monouso	10 per kit
CD	1 per kit
• File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)	
• Istruzioni per l'importazione dell'ADF nel software GeneXpert	
• Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)	

Nota Le schede dati di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili sul sito www.cepheidinternational.com nella scheda **SUPPORT** (ASSISTENZA).

Nota L'albumina di siero bovino (BSA) presente nelle microsfere di questo prodotto è stata prodotta esclusivamente da plasma bovino di origine statunitense. Gli animali non sono stati alimentati con proteine di ruminanti o con altre proteine animali; gli animali sono stati sottoposti ad analisi ante e post mortem. Durante la lavorazione, il materiale non è stato miscelato con altro materiale animale.

7 Conservazione e manipolazione



- Conservare le cartucce e i reagenti del saggio HCV VL a temperature comprese fra 2 °C e 28 °C.
- Aprire la cartuccia solo al momento dell'esecuzione del saggio.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.
- Non usare le cartucce e i reagenti del saggio HCV VL se sono stati precedentemente congelati.
- Non utilizzare i reagenti o le cartucce oltre la data di scadenza.

8 Materiali necessari ma non forniti

- Sistemi GeneXpert Dx o GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer con software proprietario GeneXpert Dx 4.7b o versione successiva (sistemi GeneXpert Dx), oppure Xpertise 6.4b o versione successiva (Infinity-80/Infinity-48s), lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.
- Stampante: se fosse necessaria una stampante, contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Candeggina o ipoclorito di sodio.

9 Avvertenze e precauzioni



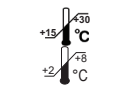
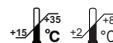
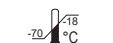
- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce usate, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁹ e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).¹⁰
- Per evitare la contaminazione dei campioni di analisi o dei reagenti durante la manipolazione, si consiglia di osservare le buone pratiche di laboratorio e cambiarsi i guanti tra un campione di analisi e l'altro.
- Attenersi alle procedure di sicurezza del proprio istituto per l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche e campioni biologici.
- Non sostituire i reagenti del saggio HCV VL con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia del saggio HCV VL se non per l'aggiunta del campione.
- Non utilizzare una cartuccia che è caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia cade o viene agitata dopo l'apertura del coperchio, si potrebbero ottenere risultati non validi.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione sia danneggiata.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.
- ② • Ciascuna cartuccia monouso del saggio HCV VL serve per l'esecuzione di un singolo test. Non riutilizzare le cartucce.
- ② • Ciascuna pipetta monouso serve per il trasferimento di un singolo campione di analisi. Non riutilizzare le pipette monouso usate.
- Indossare camice da laboratorio e guanti puliti. Cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro durante il trattamento.
- Nel caso in cui l'area di lavoro o le apparecchiature vengano contaminate dai campioni o dai controlli, pulire a fondo le zone interessate con una soluzione di candeggina per uso domestico o di ipoclorito di sodio con diluizione in rapporto 1:10 e poi con etanolo al 70% o etanolo denaturato al 70%. Asciugare completamente le superfici di lavoro prima di continuare.
- Consultare il personale addetto allo smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Controllare le normative regionali e locali in quanto possono differire dalle normative nazionali sullo smaltimento. Questo materiale può presentare le caratteristiche dei rifiuti pericolosi e richiedere specifici requisiti di smaltimento. Gli istituti sono tenuti a verificare le normative sullo smaltimento dei rifiuti pericolosi in vigore.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali della propria struttura sanitaria per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi richiedenti uno specifico smaltimento. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione mondiale della sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.

10 Pericoli chimici^{11,12}

- Avvertenza: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS:**
 - Nocivo se ingerito
 - Provoca lieve irritazione cutanea
 - Provoca irritazione oculare
- **Frase di prudenza UN GHS:**
 - **Prevenzione:**
 - Lavare accuratamente dopo l'uso.
 - **Risposta:**
 - In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
 - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.
 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 - Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.

11 Prelievo, conservazione e trasporto dei campioni di analisi

Il sangue intero va prelevato in provette con EDTA K2, PPT EDTA o per raccolta di siero e centrifugato per separare plasma e siero dai globuli rossi, secondo le istruzioni del produttore.

- Il saggio HCV VL richiede un minimo di 1 mL di plasma o siero. Se si usa la pipetta di trasferimento inclusa nel kit, sono necessari almeno 1,2 mL di plasma o siero. In alternativa, se si usa una pipetta di precisione, è necessario un minimo di 1 mL di plasma o siero.
- 
 - Prima della preparazione del plasma/siero, il sangue intero può essere conservato a 15–30 °C fino a 24 ore o a 2–8 °C fino a 3 giorni. La centrifugazione deve essere eseguita in conformità alle istruzioni del produttore.
- 
 - Dopo la centrifugazione e la separazione, il plasma e il siero possono essere conservati a 15–35 °C fino a 24 ore o a 2–8 °C fino a 3 giorni, prima di sottoporli al test.
- 
 - I campioni di analisi di plasma e siero sono stabili se congelati (a temperature comprese fra -70 °C e -18 °C) per 6 settimane.
 - I campioni di analisi di plasma e siero sono stabili per un massimo di tre cicli di congelamento-decongelamento.
 - I campioni di analisi di plasma e siero devono essere decongelati e stabilizzati a temperatura ambiente prima del trasferimento nella cartuccia.
- 
 - Spedire i campioni di analisi di sangue intero, plasma o siero a temperature comprese fra 2 °C e 8 °C.
 - Il trasporto dei campioni di analisi di sangue intero, plasma o siero deve essere effettuato in conformità ai regolamenti nazionali, regionali e locali riguardanti il trasporto degli agenti eziologici.

12 Procedura

12.1 Preparazione del campione di analisi

1. Dopo la centrifugazione dei campioni di sangue intero, 1 mL di plasma può essere pipettato direttamente nella cartuccia. Un volume sufficiente è essenziale per ottenere risultati di analisi validi (vedere le istruzioni riportate nella Sezione 12.2, Preparazione della cartuccia Opzione 1 qui di seguito).
- 
 - 2. Prima di usare gli eventuali campioni di analisi congelati, lasciarli a temperatura ambiente (20–35 °C) fino a che non siano completamente decongelati e stabilizzati a tale temperatura.
- 
 - 3. I campioni di plasma e siero conservati a 2–8 °C devono essere tolti dal frigorifero e stabilizzati a temperatura ambiente prima dell'uso.
- 
 - 4. I campioni di plasma conservati a 2–8 °C o congelati e scongelati devono essere miscelati in vortex per 15 secondi prima dell'uso. Se il campione è torbido, chiarificarlo centrifugandolo rapidamente.

12.2 Preparazione della cartuccia

1. Indossare guanti protettivi monouso.
2. Controllare che la cartuccia per il test non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
3. Aprire il coperchio della cartuccia per il test.
 - **Opzione 1** – Se si usa la pipetta di trasferimento inclusa nel kit (Figura 1), riempire appena sotto il bulbo, ma sopra la linea, per trasferire almeno 1 mL di plasma o siero dalla provetta di raccolta alla camera per il campione all'interno della cartuccia per il test (Figura 2). **NON** versare il campione di analisi nella camera.
 - **Opzione 2** – Se si usa una pipetta automatica, trasferire almeno 1 mL di plasma o siero nella camera per il campione all'interno della cartuccia per il test (Figura 2). **NON** versare il campione di analisi nella camera.

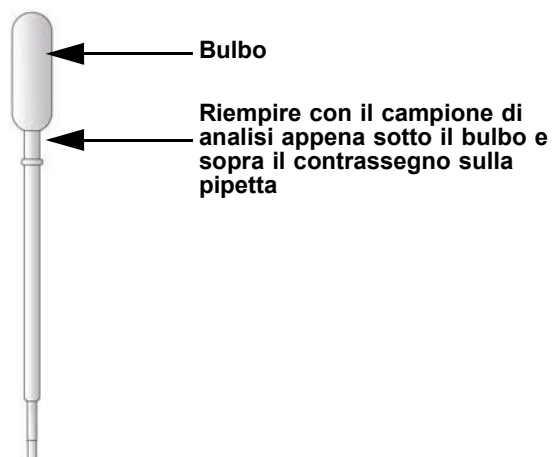


Figura 1. Pipetta di trasferimento del saggio HCV VL

4. Chiudere il coperchio della cartuccia.
5. Caricare la cartuccia sullo strumento GeneXpert Dx o sul sistema Infinity.



Figura 2. Cartuccia del saggio HCV VL (vista superiore)

12.3 Avvio del test

Importante Prima di avviare il test, assicurarsi che il file di definizione (ADF) del saggio HCV VL sia stato importato nel software.

Nota I passaggi da seguire possono variare se l'amministratore del sistema modifica il flusso di lavoro predefinito del sistema.

Questa sezione elenca le fasi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, consultare il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Dx System* o il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Infinity System* in base al modello utilizzato.

1. Accendere lo strumento GeneXpert:
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento e poi il computer. Il software GeneXpert si avvia automaticamente. In caso contrario, fare doppio clic sull'icona del collegamento al software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accenderlo. Il software GeneXpert si avvia automaticamente. In caso contrario, fare doppio clic sull'icona del collegamento al software Xpertise sul desktop di Windows®.
2. Connettersi al software del sistema di strumentazione GeneXpert con il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert, fare clic su **Crea analisi** (GeneXpert Dx) o su **Orders** (Ordini) e **Order Test** (Ordina test) (Infinity).
4. Eseguire la scansione dell'ID del paziente (opzionale). Se l'ID del paziente viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del paziente è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra View Results (Visualizza risultati).
5. Inserire l'ID del campione tramite scansione o manualmente. Se l'ID del campione viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del campione è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra View Results (Visualizza risultati) così come su tutti i rapporti. Verrà visualizzata la finestra di dialogo Scan Cartridge (Esegui scansione del codice a barre della cartuccia).
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia del saggio HCV VL. Verrà visualizzata la finestra Create Test (Crea analisi). Usando le informazioni contenute nel codice a barre, il software riempie automaticamente le caselle corrispondenti ai seguenti campi: Select Assay (Seleziona saggio), Reagent Lot ID (ID lotto reagente), Cartridge SN (N/S cartuccia) e Expiration Date (Data di scadenza).
7. Fare clic su **Avvia analisi** (GeneXpert Dx) o **Submit** (Inoltra) (Infinity). Immettere la password, se richiesto.
8. Per il sistema GeneXpert Infinity, posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia verrà caricata automaticamente, il test verrà eseguito e la cartuccia usata verrà collocata nel contenitore dei rifiuti.

oppure

Per lo strumento GeneXpert Dx:

- A. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
- B. Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
- C. Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo, quindi rimuovere la cartuccia.
- D. Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori per rifiuti biologici attenendosi alla prassi standard del proprio istituto.

13 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni dettagliate su come visualizzare e stampare i risultati, consultare il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Dx System* o il *Manuale dell'operatore di GeneXpert Infinity System*, a seconda dello strumento utilizzato.

1. Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona **View Results** (Visualizza risultati).
2. Una volta completato il test, fare clic sul pulsante **Report** (Rapporto) nella finestra View Results (Visualizza risultati) per visualizzare e/o generare un file del rapporto in formato pdf.

14 Controllo qualità

CONTROL

Ciascun test comprende un controllo dell'adeguatezza del volume dei campioni (SVA), un controllo quantitativo standard interno alto e uno basso (Internal Quantitative Standard High, IQS-H e Internal Quantitative Standard Low, IQS-L, che servono anche come controllo per il trattamento dei campioni [SPC]) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

- **Controllo dell'adeguatezza del volume dei campioni (SVA)** – Assicura che il campione sia stato aggiunto correttamente nella cartuccia. Il controllo SVA verifica che la camera per il campione contenga il volume previsto di campione. Il controllo SVA si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati. Se non supera tali criteri, il sistema visualizza l'**ERROR 2096** (ERRORE 2096), nel caso in cui non vi sia alcun campione, o l'**ERROR 2097** (ERRORE 2097), se il campione c'è ma non è sufficiente. Il sistema impedisce all'utente di riprendere il test.
- **Controlli quantitativi standard interni alto e basso (IQS-H e IQS-L)** – Sono due complessi Armored RNA® in forma di microsfere essiccate applicati all'intero procedimento di analisi. I controlli IQS-H e IQS-L sono standard calibrati in base al 4° standard internazionale dell'OMS per l'HCV. Vengono usati per la quantificazione mediante parametri specifici per il lotto finalizzati al calcolo della concentrazione dell'RNA dell'HCV nel campione. Inoltre, i controlli IQS-H e IQS-L rilevano l'inibizione della reazione RT-PCR associata al campione di analisi. I controlli IQS-H e IQS-L si considerano superati se soddisfano i criteri di accettazione convalidati.
- **Controllo per la verifica della sonda (PCC)** – Prima di avviare la reazione PCR, il sistema di strumentazione GeneXpert misura il segnale di fluorescenza proveniente dalle sonde allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfere, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità della sonda e la stabilità dei coloranti. Il PCC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controlli esterni** – Seguendo le corrette prassi di laboratorio, i controlli esterni, non inclusi nel kit, devono essere usati in conformità ai requisiti degli organismi di accreditamento locali e nazionali pertinenti.

15 Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpretati automaticamente dal sistema di strumentazione GeneXpert, utilizzando i segnali di fluorescenza misurati e gli algoritmi di calcolo integrati, e vengono presentati chiaramente nella finestra View Results (Visualizza risultati) (Figura 3 e Figura 5). I risultati possibili sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Risultati del saggio HCV VL e interpretazione

Risultato	Interpretazione
HCV DETECTED (RILEVATO HCV) XX IU/mL (log X.XX) (XX UI/mL [log X,XX]) Vedere la Figura 3.	L'RNA dell'HCV è stato rilevato a XX UI/mL. • L'RNA dell'HCV presenta un titolo entro l'impostazione dell'intervallo lineare del saggio e un endpoint al di sopra del minimo. • IQS-H e IQS-L: AMMESSO. • Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HCV DETECTED (RILEVATO HCV) > 1.00E08 IU/mL (> 1,00E08 UI/mL) Vedere la Figura 4.	L'RNA dell'HCV è stato rilevato al di sopra dell'intervallo quantitativo del saggio. • IQS-H e IQS-L: AMMESSO. • Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HCV DETECTED (RILEVATO HCV) < 10 IU/mL (< 10 UI/mL) Vedere la Figura 5.	L'RNA dell'HCV è stato rilevato al di sotto dell'intervallo quantitativo del saggio. • IQS-H e IQS-L: AMMESSO. • Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HCV NON DETECTED (NON RILEVATO HCV) Vedere la Figura 6.	L'RNA dell'HCV non è stato rilevato. • RNA dell'HCV non rilevato. • IQS-H e IQS-L: AMMESSO. • Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

Tabella 1. Risultati del saggio HCV VL e interpretazione (continua)

Risultato	Interpretazione
INVALID (NON VALIDO) Vedere la Figura 7.	È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA dell'HCV. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test. - IQS-H e/o IQS-L: RESPINTO; le soglie del ciclo (Ct) non rientrano nell'intervallo di validità e l'endpoint è al di sotto dell'impostazione minima. - Verifica della sonda: AMMESSO; tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERROR (ERRORE) Vedere la Figura 8.	È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA dell'HCV. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test. Verifica della sonda: RESPINTO*; uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi. * Se la verifica della sonda è riuscita, l'errore deriva dal superamento del limite massimo di pressione rispetto all'intervallo accettabile o dal guasto di un componente del sistema.
NO RESULT (NESSUN RISULTATO)	È impossibile determinare la presenza o l'assenza dell'RNA dell'HCV. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test. NO RESULT (NESSUN RISULTATO) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test mentre era in corso.

Nota Le schermate del saggio sono soltanto di esempio. Il nome e il numero di versione del saggio possono variare rispetto alle schermate illustrate in questo foglietto illustrativo.

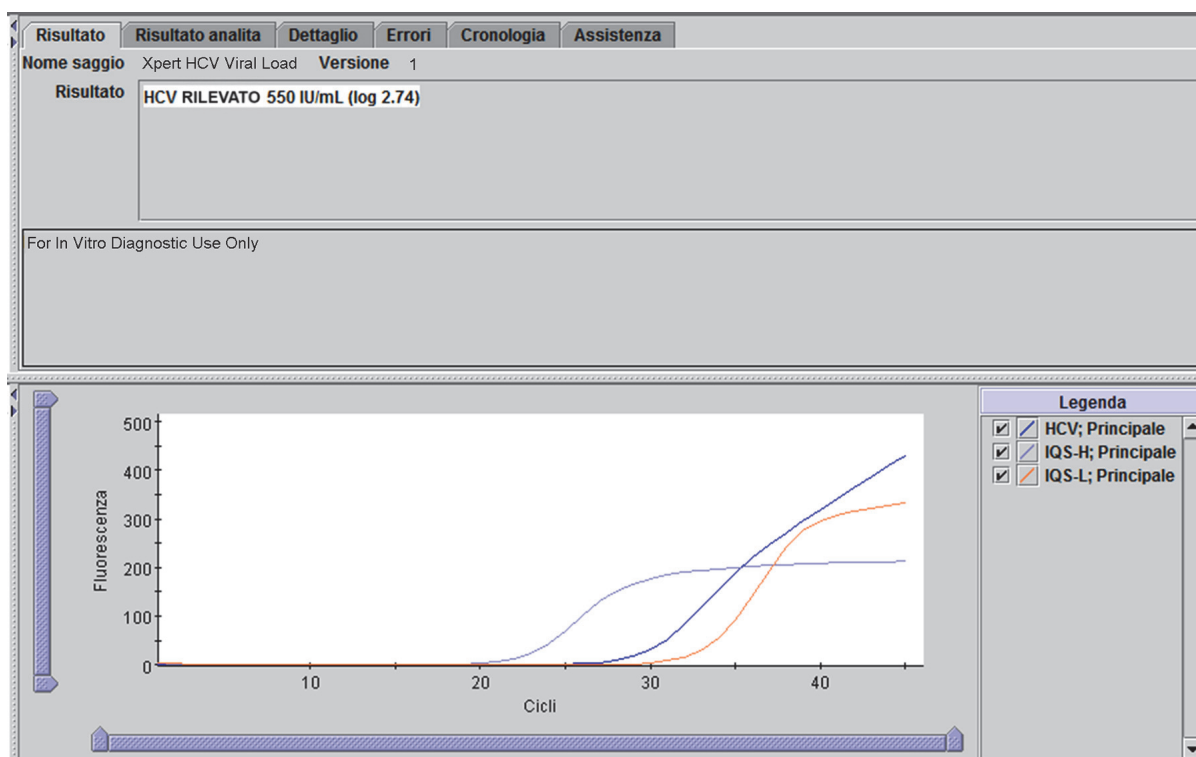


Figura 3. HCV rilevato e quantificato

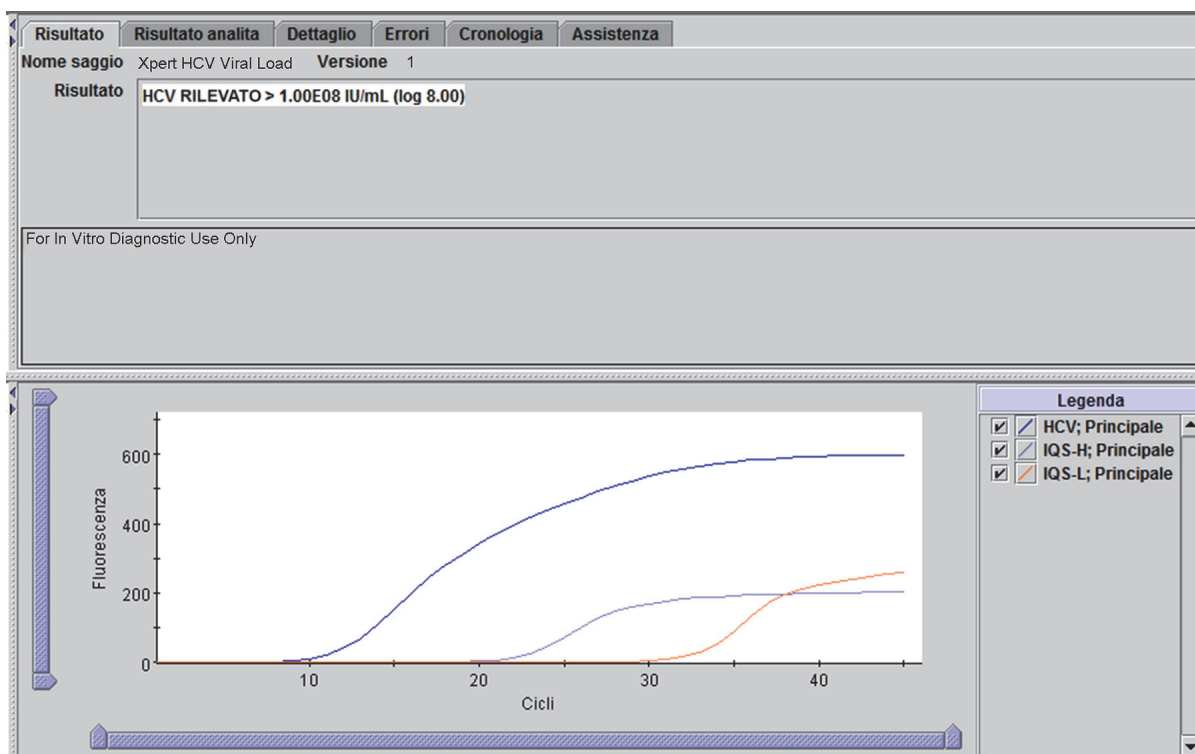


Figura 4. HCV rilevato

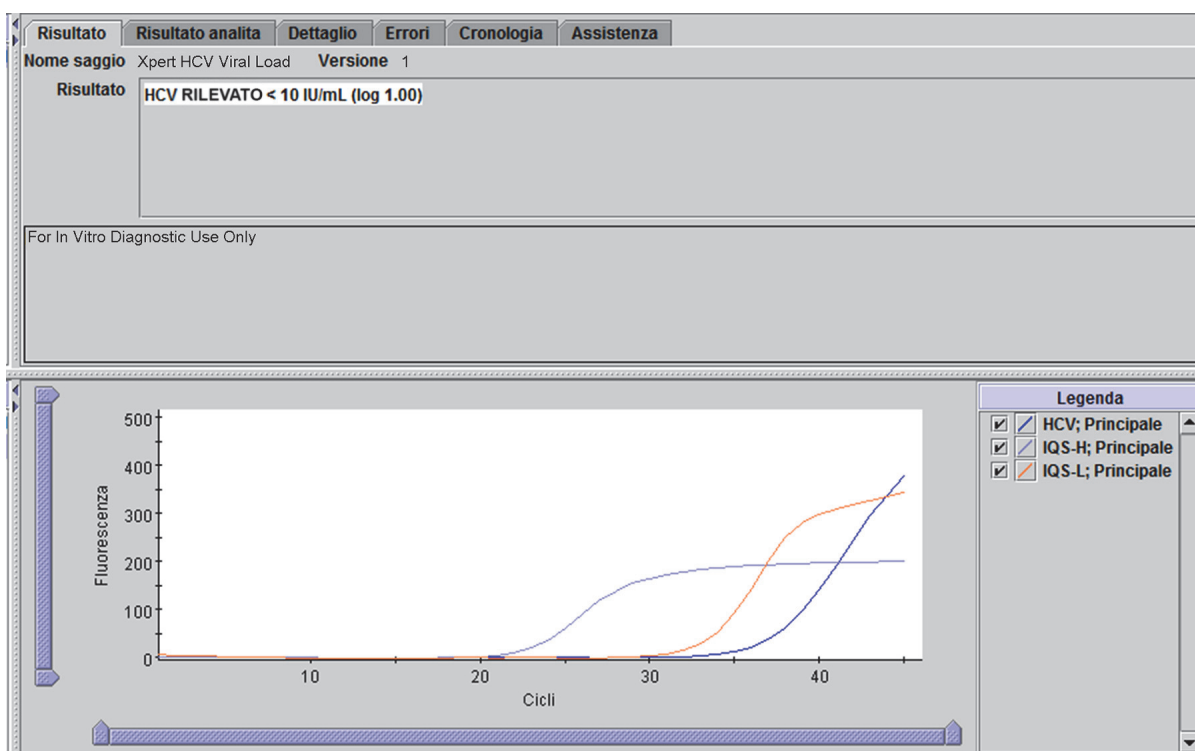


Figura 5. HCV rilevato

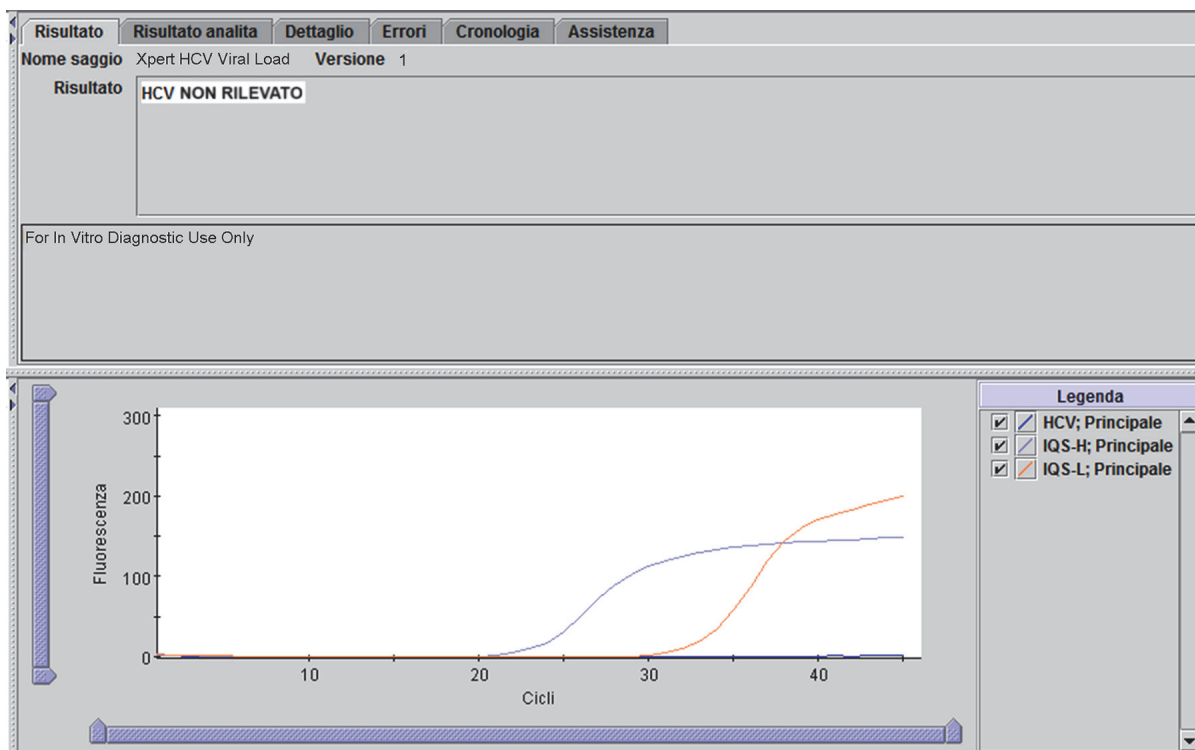


Figura 6. HCV non rilevato

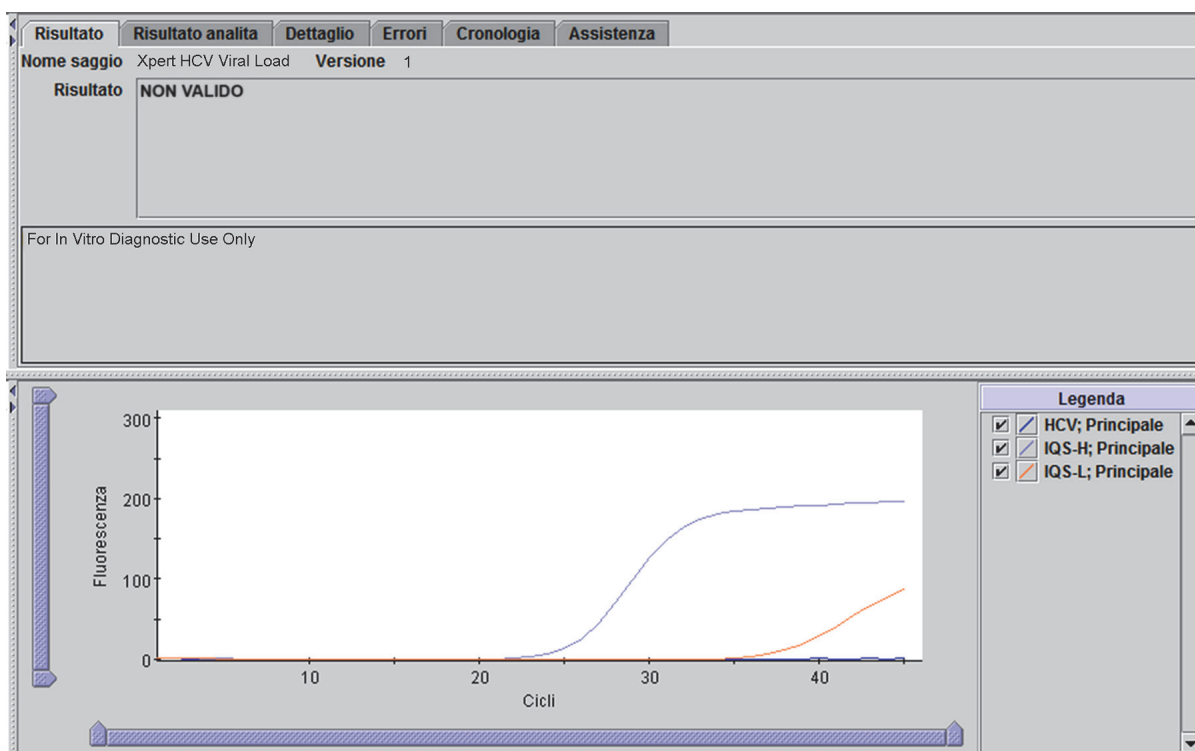


Figura 7. Non valido

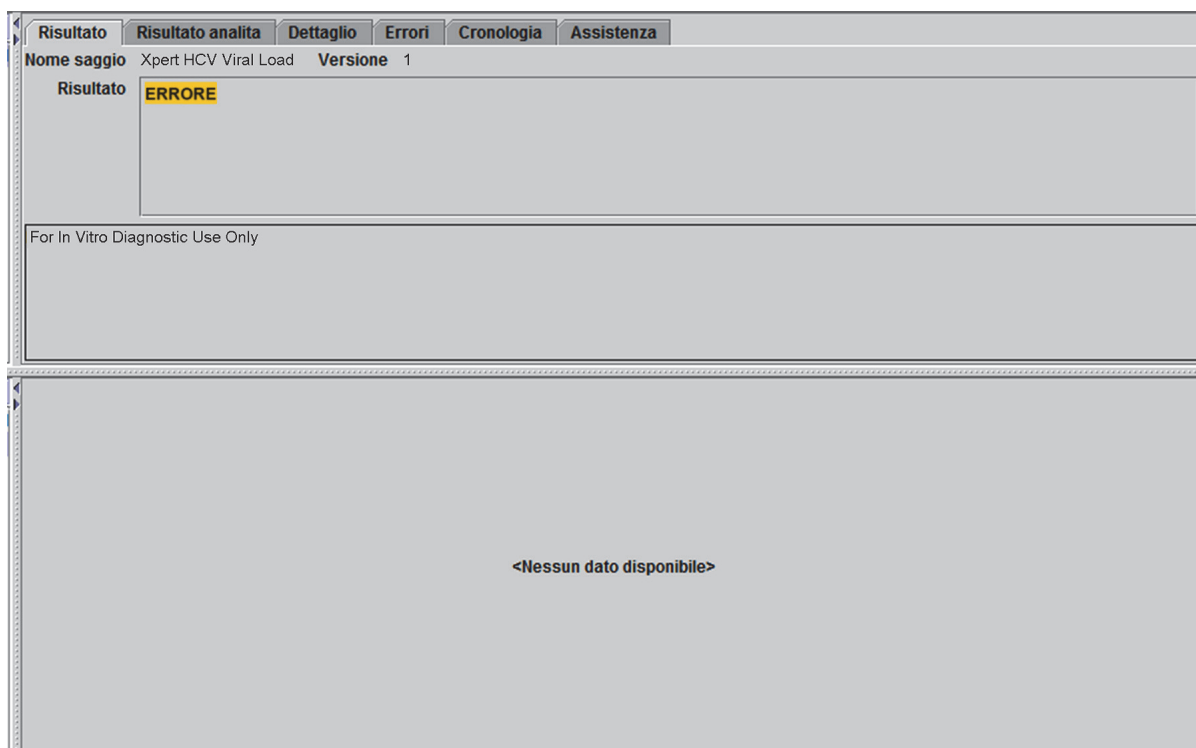


Figura 8. Errore

16 Ripetizioni del test

16.1 Motivi per ripetere il saggio

Dovesse presentarsi uno qualsiasi dei risultati elencati di seguito, ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test.

- Un risultato **INVALID** (NON VALIDO) indica uno o più dei seguenti casi:
 - I valori Ct dei controlli IQS-H e/o IQS-L non rientrano nell'intervallo di validità.
 - Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.
- Il risultato **ERROR** (ERRORE) indica che il saggio è stato interrotto. Le cause possibili comprendono: aggiunta di un volume di campione insufficiente, riempimento non corretto della provetta di reazione, rilevamento di un problema di integrità della sonda del reagente o superamento del limite massimo di pressione.
- **NO RESULT** (NESSUN RISULTATO) indica che i dati raccolti sono insufficienti. L'operatore, ad esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test oppure si è verificata un interruzione di corrente.

16.2 Procedura di ripetizione del test

Per ripetere il test in caso di risultato **NO RESULT** (NESSUN RISULTATO), **INVALID** (NON VALIDO), o **ERROR** (ERRORE), adoperare una nuova cartuccia (non riutilizzare la cartuccia) e nuovi reagenti.

1. Togliere la nuova cartuccia dal kit.
2. Fare riferimento alla Sezione 12, Procedura, che include le sottosezioni Sezione 12.1, Preparazione del campione di analisi, Sezione 12.2, Preparazione della cartuccia e Sezione 12.3, Avvio del test.

17 Limitazioni

Per evitare la contaminazione dei reagenti durante la manipolazione dei campioni di analisi, si consiglia di osservare le buone pratiche di laboratorio e cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro.

Mutazioni o polimorfismi nelle regioni leganti il primer o la sonda possono compromettere il rilevamento di varianti nuove o sconosciute di HCV, con conseguenti risultati falsi negativi.

18 Caratteristiche prestazionali

18.1 Limite di rilevamento

Il limite di rilevamento (LoD) del saggio HCV VL è stato determinato analizzando otto diverse diluizioni preparate con uno standard di riferimento dell'HCV genotipo 1 in plasma EDTA e siero HCV negativi. Il materiale di HCV genotipo 1 usato per lo studio dell'LoD era il 4° standard internazionale dell'OMS, codice NIBSC 06/102. Il limite di rilevamento è stato determinato per tre lotti di reagente e in totale sono stati analizzati 72 o 73 replicati per livello di concentrazione. Dopo il primo giorno di analisi, è stato aggiunto un ulteriore livello di bassa concentrazione per entrambi i tipi di campione. Il numero di replicati analizzati per questo livello è quindi risultato inferiore (49 in plasma e 53 in siero). La valutazione è stata eseguita secondo le linee guida CLSI E17-A2. La concentrazione di RNA dell'HCV che può essere rilevata con un tasso di positività superiore al 95% è stata determinata mediante analisi di regressione probit e i risultati dei singoli lotti e campioni di analisi sono riportati nella Tabella 2. Il limite LoD massimo osservato con analisi probit per l'HCV genotipo 1 in plasma EDTA è 4,0 UI/mL (IC del 95% = 2,8 – 5,2). Il limite LoD massimo osservato con analisi probit per l'HCV genotipo 1 in siero è 6,1 UI/mL (IC del 95% = 4,2 – 7,9).

Tabella 2. LoD del saggio HCV VL stimato mediante regressione probit e limiti inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza del 95% per i campioni di analisi di HCV genotipo 1 in plasma e siero per lotto di kit

Campione di analisi	Lotto	LoD 95% (UI/mL)	IC del 95% (UI/mL)
OMS (Plasma)	1	3,3	2,4 - 4,2
	2	4,0	2,7 - 5,2
	3	4,0	2,8 - 5,2
OMS (Siero)	1	6,1	4,2 - 7,9
	2	2,6	1,9 - 3,3
	3	2,3	1,8 - 2,9

L'analisi del tasso di successo mostra una positività superiore al 95% a 6 UI/mL per il materiale di HCV genotipo 1 analizzato, come indicato nella Tabella 3.

Tabella 3. LoD del saggio HCV VL per l'HCV genotipo 1 in plasma EDTA e siero

Campione di analisi	Concentrazione (UI/mL)	N. replicati	N. positivi	Tasso di positività (%)
OMS (Plasma)	0,5 ^a	49	24	49
	1	72	47	65
	2	72	61	85
	3	72	69	96
	4	72	67	93
	6	72	71	99
	8	73	73	100
	10	72	72	100
OMS (Siero)	0,5 ^a	53	21	40
	1	73	47	64
	2	73	64	88
	3	72	69	96
	4	73	71	97
	6	72	71	99
	8	72	70	97
	10	72	72	100

- a. A causa dell'alto tasso di positività osservato il giorno 1 a 1 UI/mL, il giorno 2 vi è stata l'aggiunta di 0,5 UI/mL.

Inoltre, sono state analizzate diluizioni dei campioni di analisi clinica rappresentativi dei genotipi HCV 1a, 2b, 3a, 4a, 5a e 6a in plasma EDTA umano negativo con un singolo lotto di reagenti e 24 replicati per ciascun livello di concentrazione. L'assegnazione della concentrazione nominale dei campioni di analisi clinica è stata eseguita con il saggio Abbott RealTime HCV™. L'analisi del tasso di successo mostra una positività superiore al 95% per tutti i genotipi a 10 UI/mL, come indicato nella Tabella 4. Si è stabilito che il limite LoD del saggio HCV VL è di 10 UI/mL per i genotipi HCV da 1 a 6 in plasma EDTA e siero.

Tabella 4. Analisi del tasso di successo dell'LoD del saggio HCV VL per i campioni di analisi rappresentativi dei genotipi HCV da 1 a 6 in plasma EDTA

Genotipo	Minimo livello di concentrazione con tasso di successo > 95% (UI/mL)	Tasso di successo (%)
1a	10	100
2b	4	100
3a	6	100
4a	4	100
5a	2	96
6a	4	96

18.2 Limite di quantificazione (LoQ)

L'errore analitico totale (TAE) è stato calcolato usando stime determinate mediante analisi dei dati ricavati dallo studio dell'LoD (standard OMS) e dallo studio di precisione e riproducibilità secondo le linee guida CLSI E17-A2. Il TAE per le diluizioni con concentrazione osservata pari o prossima al limite di rilevamento del saggio di 10 UI/mL ($1,0 \log_{10}$) è presentato nella Tabella 5. Il TAE è stato stimato in base a due diversi metodi.

Tabella 5. Analisi del TAE del saggio HCV VL per la determinazione dell'LoQ

Campione di analisi (studio)	Lotto DL	N	Concentrazione ($\log_{10}$ UI/mL)		Errore sistematico	DS totale	TAE ^a Errore sistematico assoluto + 2 x DS	TAE ^b 2 x SQRT (2) x DS
			Prevista	Osservata				
Acrometrix (Precisione)	DL1	72	1,40	1,31	0,09	0,15	0,38	0,41
	DL2	72	1,40	1,29	0,11	0,14	0,40	0,41
	DL3	72	1,40	1,24	0,16	0,12	0,41	0,35
Acrometrix (Precisione)	DL1	72	1,00	0,92	0,08	0,22	0,52	0,62
	DL2	72	1,00	0,82	0,18	0,18	0,54	0,51
	DL3	72	1,00	0,75	0,25	0,19	0,63	0,54
OMS, plasma (LoD)	DL1	24	1,00	0,91	0,09	0,21	0,51	0,59
	DL2	24	1,00	0,82	0,18	0,30	0,78	0,86
	DL3	24	1,00	0,86	0,14	0,17	0,48	0,48
OMS, siero (LoD)	DL1	24	1,00	0,96	0,04	0,13	0,30	0,37
	DL2	24	1,00	0,88	0,12	0,23	0,58	0,66
	DL3	24	1,00	0,80	0,20	0,18	0,57	0,52

- a. TAE calcolato secondo il modello Westgard in CLSI EP17-A2 (Sezione 6.2)
- b. TAE basato sulla differenza tra i due approcci di misurazione

I risultati dell'analisi del TAE dimostrano che il saggio HCV VL può determinare la concentrazione 10 UI/mL (1,0 log₁₀) con attendibilità e precisione accettabili.

18.3 Precisione e riproducibilità

La precisione e la riproducibilità del saggio HCV VL sono state determinate mediante analisi di diluizioni parallele di materiali HCV di riferimento in plasma EDTA HCV negativo. La concentrazione nominale del materiale di riferimento usato è stata calibrata in base al 4° standard internazionale dell'OMS per l'HCV (06/102). Si è trattato di uno studio comparativo in cieco condotto in due centri su un pannello di sette elementi di materiale HCV di riferimento in plasma EDTA HCV negativo con concentrazioni di RNA che coprivano tutto l'intervallo di quantificazione del saggio HCV VL. Due operatori in ciascuno dei due centri di studio hanno analizzato un pannello di ventun campioni una volta al giorno nell'arco di sei giorni di test per ogni lotto. Un centro ha usato lo strumento Infinity-80 e l'altro ha usato gli strumenti GeneXpert Dx. Per lo studio sono stati usati tre lotti di reagenti del saggio HCV VL. La precisione e la riproducibilità sono state valutate in conformità al documento CLSI EP5-A2 "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline" (Valutazione delle prestazioni di precisione dei dispositivi di chimica clinica: Linee guida approvate). I risultati di precisione per ogni lotto di reagente sono indicati nella Tabella 6.

Tabella 6. Precisione del saggio HCV VL per lotto

Concentrazione di RNA dell'HCV prevista log ₁₀ UI/mL	Precisione totale per lotto					
	Lotto 1		Lotto 2		Lotto 3	
	DS	CV ^a	DS	CV ^a	DS	CV ^a
1,0	0,23	55,8%	0,18	44,2%	0,20	48,1%
1,4	0,15	35,1%	0,15	35,8%	0,13	29,6%
2,7	0,09	20,7%	0,09	20,6%	0,09	20,2%
4,2	0,07	16,4%	0,08	18,9%	0,07	15,3%
5,4	0,12	28,3%	0,09	19,9%	0,07	16,2%
6,9	0,13	31,8%	0,09	20,9%	0,07	17,0%
8,2	0,10	22,7%	0,10	23,7%	0,08	17,8%

a. "CV" è il CV lognormale ottenuto usando la formula:

$$CV \text{ (della distribuzione lognormale)} = \sqrt{10^{\ln(10) \cdot \sigma^2} - 1}$$

La riproducibilità e la precisione del saggio HCV VL sono state valutate utilizzando l'analisi gerarchica ANOVA con termini per Centro/strumento, Lotto, Giorno, Operatore/Sessione ed Intra-sessione. Sono state calcolate la deviazione standard e la percentuale di variabilità dovute a ciascun componente delle concentrazioni di HCV trasformate in log₁₀, come indicato nella Tabella 7.

Tabella 7. Deviazione standard e percentuale di variabilità contribuibile per ciascun termine e precisione totale

Concentrazione di RNA HCV log ₁₀ UI/mL			Contributo alla varianza totale, DS (CV%)										Precisione totale			
			Centro/ strum.		Lotto		Giorno		Operatore/ sessione		Intra- sessione		Totale			
Prevista	Effettiva	N	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	IC inferiore	IC superiore	CV ^b
1,0	0,83	216	0,03	1,8%	0,08	13,2%	0,04	3,5%	0,00	0,0%	0,19	81,6%	0,21	0,18	0,25	51,7%
1,4	1,28	216	0,00	0,0%	0,04	7,1%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,14	92,9%	0,14	0,13	0,16	34,1%
2,7	2,66	216	0,00	0,0%	0,04	17,2%	0,00	0,0%	0,02	3,2%	0,08	79,5%	0,09	0,08	0,11	22,1%
4,2	4,18	215	0,00	0,0%	0,05	30,9%	0,01	2,6%	0,00	0,0%	0,07	66,5%	0,09	0,07	0,12	20,6%
5,4	5,44	216	0,00	0,0%	0,06	26,5%	0,00	0,0%	0,01	1,3%	0,09	72,2%	0,11	0,09	0,14	25,8%
6,9	6,86	216	0,00	0,0%	0,07	34,0%	0,02	3,4%	0,00	0,0%	0,10	62,5%	0,13	0,10	0,17	29,8%
8,2	8,11	216	0,00	0,0%	0,09	47,9%	0,00	0,0%	0,02	2,6%	0,09	49,5%	0,13	0,10	0,19	30,5%

a. (%) è il contributo del componente di varianza al CV lognormale complessivo

b. "CV" è il CV lognormale ottenuto usando la formula:

$$CV \text{ (della distribuzione lognormale)} = \sqrt{10^{\ln(10) \cdot \sigma^2} - 1}$$

18.4 Intervallo lineare e inclusività

L'intervallo lineare del saggio HCV VL è stato determinato mediante analisi di un pannello di dodici elementi rappresentativi dell'intervallo da ~ 5 ($0,75 \log_{10}$) UI/mL a $\sim 1 \times 10^8$ ($8 \log_{10}$) UI/mL. I pannelli sono stati allestiti mediante diluizioni parallele di materiale HCV di riferimento (Armored RNA® genotipo 1 e campioni di analisi clinica genotipo 1) in plasma EDTA e siero HCV negativi. La concentrazione nominale del materiale di riferimento usato è stata calibrata in base al 4° standard internazionale dell'OMS per l'HCV (06/102). Ogni elemento del pannello è stato analizzato in replicati di quattro in ciascuno dei tre giorni di analisi usando due lotti di kit. In totale, sono stati analizzati 24 replicati per elemento del pannello e tipo di campione. L'analisi della linearità è stata eseguita secondo le linee guida CLSI EP06-A. I risultati combinati di entrambi i lotti sono illustrati nella Figura 9 e nella Figura 10. Il saggio HCV VL è lineare entro l'intervallo $0,8-8,0 \log_{10}$ UI/mL con un valore R^2 pari a $> 0,997$.

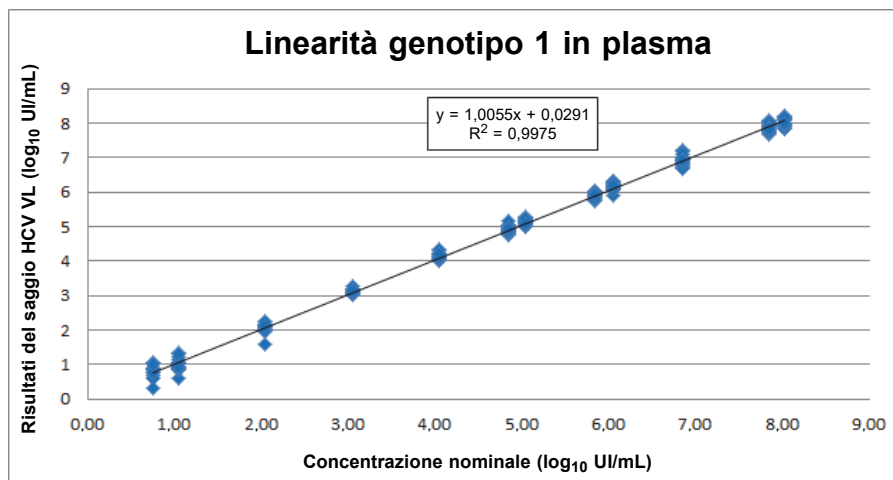


Figura 9. Linearità del saggio HCV VL per il genotipo 1 in plasma EDTA

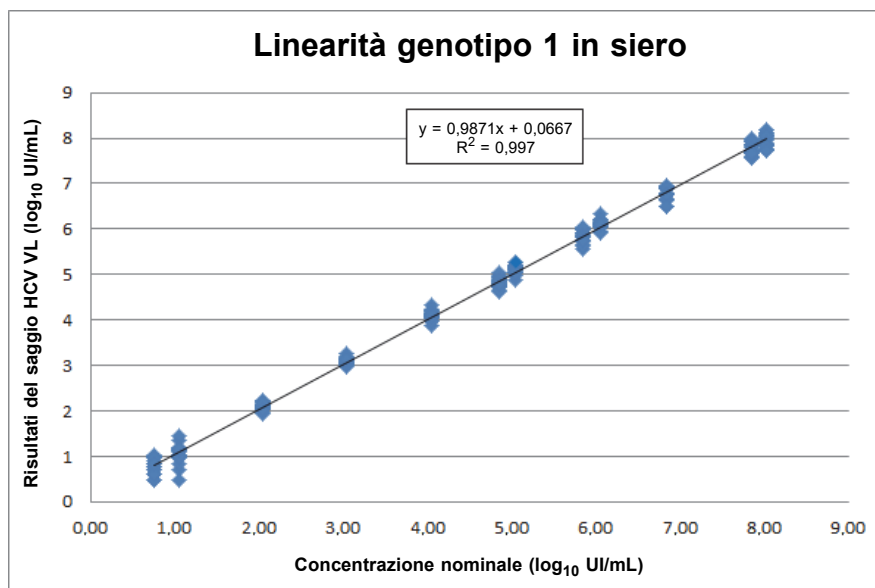


Figura 10. Linearità del saggio HCV VL per il genotipo 1 in siero

Per confermare l'intervallo di linearità e valutare l'inclusività del saggio HCV VL, sono stati allestiti pannelli comprendenti campioni di analisi clinica rappresentativi dell'HCV genotipi 2 – 6 e Armored RNA® (solo genotipi 2 e 3), quando disponibile, in plasma EDTA umano negativo. Sono stati allestiti da 7 a 13 elementi nei pannelli per ogni genotipo, per una varietà il più possibile ampia, con variazioni da $\sim 0,9 - 6 \log_{10}$ UI/mL per il genotipo 5 a $\sim 0,9 - 8,3 \log_{10}$ per il genotipo 3; questi elementi

sono poi stati analizzati in replicati di quattro in ciascuno dei tre giorni di analisi utilizzando due lotti di kit. Per ogni genotipo, sono stati analizzati 24 replicati per membro dei pannelli. Le concentrazioni nominali dei materiali di riferimento usati sono state calibrate in base al 4° standard internazionale dell'OMS per l'HCV (06/102). Tutti i genotipi hanno risposto in modo lineare con valori R^2 tra 0,994 e 0,998.

18.5 Specificità analitica (esclusività)

La specificità analitica del saggio HCV VL è stata valutata aggiungendo organismi potenzialmente cross-reattivi a una concentrazione di input pari a 1×10^5 UFC/mL, copie/mL o TCID₅₀/mL in plasma EDTA HCV negativo e in plasma contenente ~25 UI/mL di materiale HCV di riferimento (campione di analisi clinica genotipo 1). Gli organismi analizzati sono elencati nella Tabella 8.

Tabella 8. Organismi utilizzati per la valutazione della specificità analitica

Virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1
Virus dell'immunodeficienza umana di tipo 2
Virus linfotropico umano a cellule T di tipo I
Virus linfotropico umano a cellule T di tipo II
<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus
Virus di Epstein-Barr
Virus dell'epatite A
Virus dell'epatite B
Virus dell'herpes simplex di tipo 1
Virus dell'herpes simplex di tipo 2
Virus dell'herpes umano di tipo 6
Virus dell'herpes umano di tipo 8
Virus varicella zoster
Poliomavirus umano BK
Virus Banzi
Virus Ilheus
Virus del Nilo occidentale
Virus Zika
Papillomavirus umano di tipo 16
Papillomavirus umano di tipo 18
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>

Nessuno degli organismi analizzati ha dimostrato reattività crociata e tutti i replicati positivi hanno prodotto concentrazioni di RNA dell'HCV entro $\pm 0,5$ log rispetto a un controllo HCV positivo nell'analisi con il saggio HCV VL. Oltre alle specie elencate nella Tabella 8, il virus della dengue e quello del vaccino sono stati analizzati *in silico*, in quanto non si è potuto ottenere il materiale rappresentativo di questi virus ai fini del test. Non è stata trovata alcuna affinità significativa nelle sequenze a scopi pratici tra i virus analizzati e i primer e le sonde del saggio Xpert HCV VL.

18.6 Sostanze potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del saggio HCV VL alle interferenze da parte di livelli elevati di sostanze endogene, farmaci prescritti a pazienti con infezione da HCV e marcatori di malattia autoimmune. È stato analizzato plasma EDTA HCV negativo e plasma contenente ~25 UI/mL di materiale HCV di riferimento (campione di analisi clinica genotipo 1).

I livelli elevati di sostanze endogene elencati nella Tabella 9 hanno dimostrato di non interferire con la quantificazione del saggio HCV VL, né di influire sulla sua specificità.

Tabella 9. Sostanze endogene e concentrazione analizzata

Sostanza	Concentrazione analizzata
Albumina	9 g/dL
Bilirubina	20 mg/dL
Emoglobina	500 mg/dL
DNA umano	0,4 mg/dL
Trigliceridi	3.000 mg/dL

I componenti farmacologici presentati nella Tabella 10 hanno dimostrato di non interferire con la quantificazione del saggio HCV VL, né di influire sulla sua specificità, nelle analisi eseguite a una concentrazione pari a tre volte il livello di picco in cinque gruppi di farmaci.

Tabella 10. Gruppi di farmaci analizzati

Gruppo	Farmaci
Controllo	N/A
1	Zidovudina, saquinavir, ritonavir, interferone alfa-2b, claritromicina
2	Abacavir solfato, fosamprenavir calcio, peginterferone 2b, ribavirina
3	Tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina (3TC), indinavir solfato, ganciclovir, valganciclovir HCl, aciclovir
4	Stavudina (d4T), efavirenz, lopinavir, enfuvirtide (T-20), ciprofloxacina
5	Nevirapina, nelfinavir mesilato, azitromicina, valaciclovir HCl

I test su campioni di analisi prelevati da dieci individui per un marcatore di malattia autoimmune non hanno mostrato alcuna interferenza con i marcatori di malattia autoimmune del lupus eritematoso sistemico (SLE), degli anticorpi anti nucleo (ANA) o del fattore reumatoide (RF) con l'utilizzo del saggio HCV VL.

18.7 Sensibilità alla sieroconversione

La sensibilità del saggio HCV VL è stata valutata analizzando campioni sequenziali di plasma provenienti da dieci pannelli di sieroconversione con un totale di 59 elementi dei pannelli. Ciascun pannello di sieroconversione era costituito da campioni di plasma non diluiti prelevati da un singolo donatore durante lo sviluppo di un'infezione da HCV e la conseguente risposta immunitaria. Il saggio HCV VL ha rilevato l'RNA dell'HCV in 51 dei 57 campioni analizzati, con un risultato del test valido rispetto ai 21 dei 59 analizzati rilevati da almeno uno dei test anticorpali per HCV (Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho® Ver. 3.0 ELISA HCV Ab, sistema di analisi Ortho HCV 3.0 ELISA con Enhanced SAvE, Ortho Vitros Eci, Siemens ADIVA Centaur). L'RNA dell'HCV è stato rilevato dal saggio HCV VL prima dei test anticorpali in nove pannelli di sieroconversione e contemporaneamente per un pannello di sieroconversione. Il risultato è presentato nella Tabella 11.

Tabella 11. Sensibilità di sieroconversione del saggio HCV VL

Pannello n.	N. di campioni nel pannello	Durata in giorni	Numero di elementi reattivi del pannello		Giorni al primo risultato reattivo		Giorni tra il primo risultato reattivo con Xpert HCV VL e qualsiasi test Ab
			Xpert HCV VL	Analisi degli anticorpi (Ab) ^a	Xpert HCV VL	Analisi degli anticorpi (Ab) ^a	
PHV913	4	9	4	2	0 ^b	7	7
PHV915	4	14	3 ^c	2	5 ^c	12	7
PHV920	9	35	9	7	0 ^b	13	13
PHV922	6	17	5 ^c	5	3 ^c	3	3
PHV924	6	88	6	3	0 ^b	59	59
PHV925	5	27	5	1	0 ^b	27	27
PHV926	5	14	5	1	0 ^b	14	14
PHV927	5	17	4	0	4	17 ^d	13
PHV928	9	50	7	0	29	50 ^d	21
PHV929	6	22	3	0	14	22 ^d	8

a. Analisi degli anticorpi basata sui dati del fornitore Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho Ver. 3.0 ELISA HCV Ab, Ortho Enhanced SAvE HCV Ab, Ortho Vitros Eci, Siemens ADIVA Centaur.

b. Tutti i sanguinamenti sono stati rilevati con il saggio Xpert HCV VL.

c. Sono presentati tutti i risultati dei test del saggio Xpert HCV VL; il primo elemento del pannello ha provocato un risultato non valido.

d. Tutti i sanguinamenti sono risultati non reattivi per gli anticorpi anti HCV (sulla base delle informazioni del fornitore). L'ultimo giorno di sanguinamento viene utilizzato per determinare i "Giorni al primo risultato reattivo".

18.8 Equivalenza tra i mezzi di prelievo dei campioni (EDTA, PPT EDTA e siero)

Per ciascun mezzo di raccolta di campioni (EDTA, PPT-EDTA e siero) sono stati raccolti e testati campioni di 50 individui HCV positivi corrispondenti e 25 campioni HCV negativi corrispondenti utilizzando un lotto di kit del saggio HCV VL.

Come indicato in Figura 11 e Figura 12, le prestazioni equivalenti del saggio HCV VL sono state mostrate per i campioni di plasma EDTA vs. i campioni di siero e i campioni di plasma EDTA vs. i campioni di plasma PPT-EDTA. Tutti i campioni di analisi positivi per HCV raccolti in siero o plasma PPT-EDTA hanno prodotto concentrazioni di RNA dell'HCV entro $\pm 0,5 \log_{10}$ IU/mL rispetto al campione di analisi positivo per HCV raccolto in plasma EDTA, se analizzati con il saggio HCV VL.

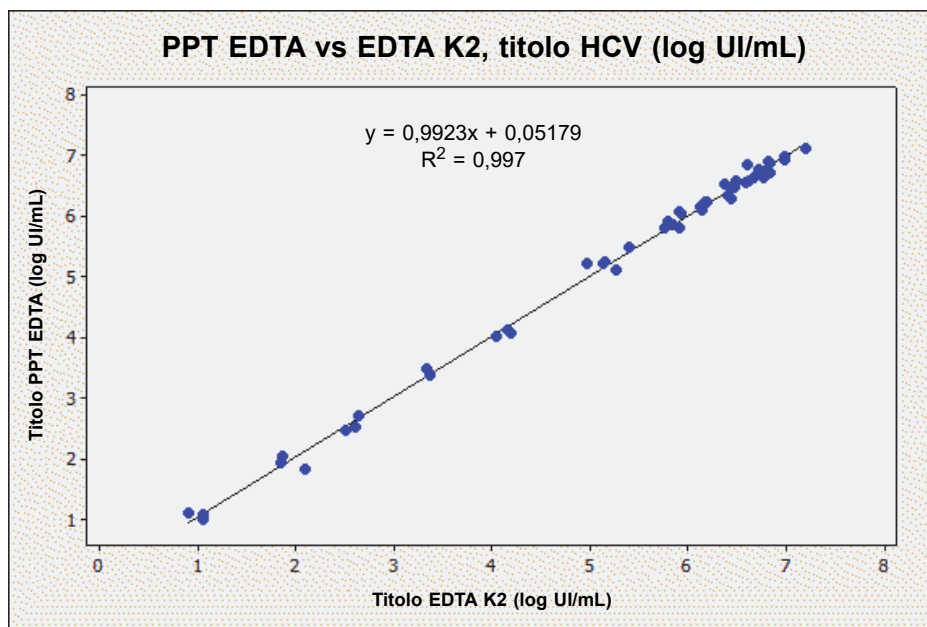


Figura 11. Grafico a dispersione dei valori log UI/mL PPT EDTA vs UI/mL EDTA

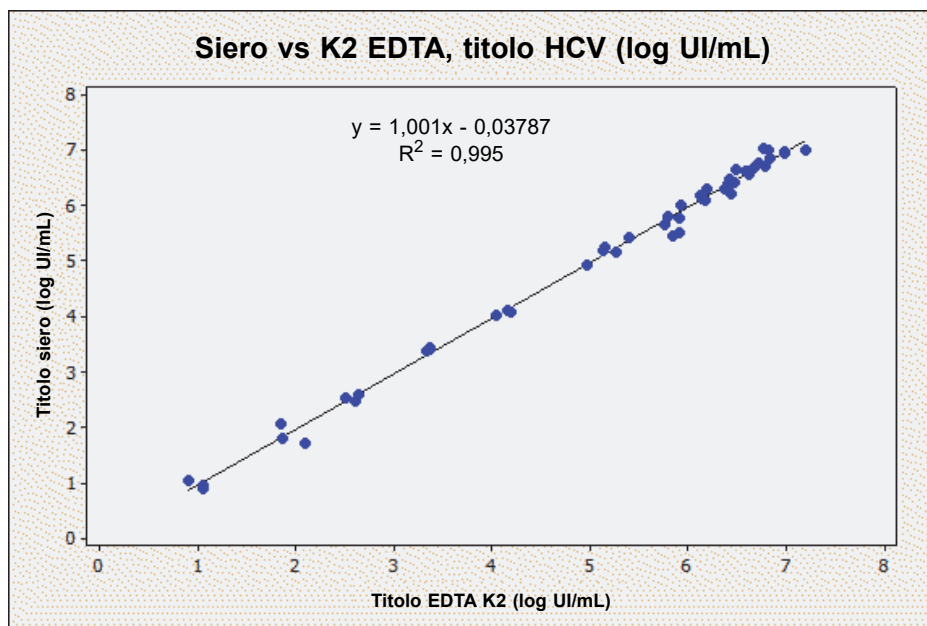


Figura 12. Grafico a dispersione dei valori log UI/mL siero vs UI/mL plasma EDTA

19 Caratteristiche prestazionali – Prestazioni cliniche

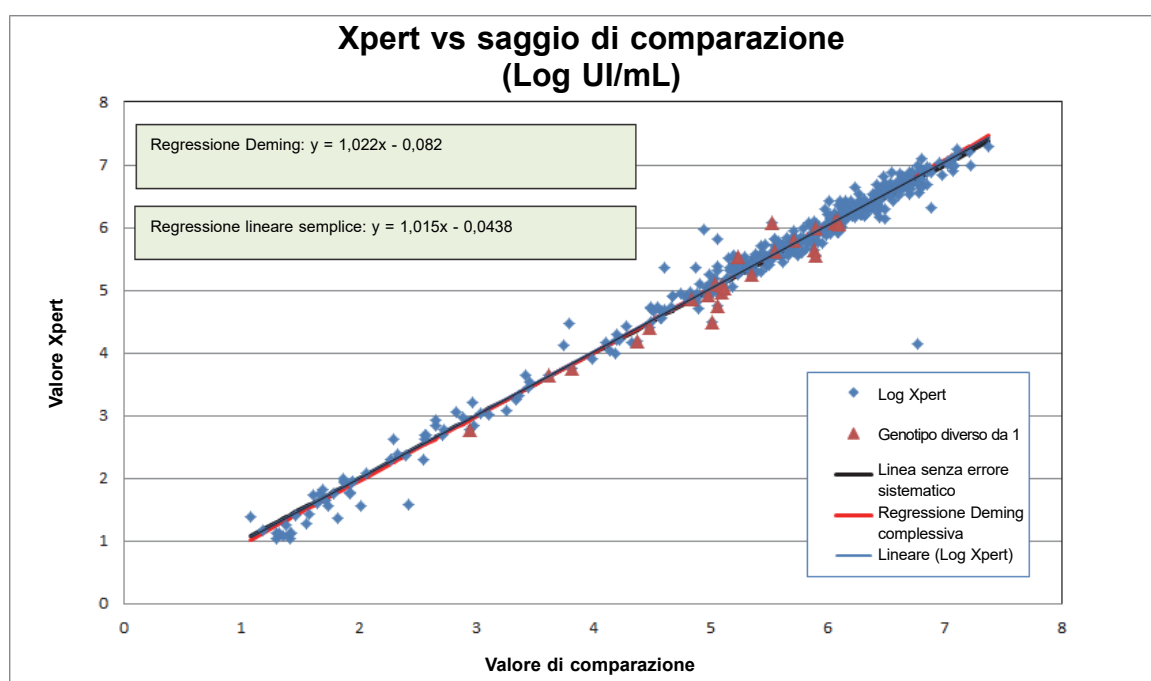
Specificità

La specificità del saggio HCV VL è stata valutata utilizzando 501 campioni di plasma EDTA provenienti da donatori di sangue negativi all'HCV. L'RNA dell'HCV non è stato rilevato in nessuno dei 501 campioni analizzati dal saggio Xpert HCV VL, dimostrando una specificità del 100% (IC al 95%: 99,2 – 100,0).

Correlazione tra metodi

È stato condotto uno studio multicentrico per valutare le prestazioni del saggio HCV VL rispetto a un metodo comparatore, mediante l'uso di campioni di analisi di plasma umano fresco e congelato oppure campioni di siero provenienti da individui infettati dall'HCV. Dei 607 campioni di analisi idonei, ciascuno proveniente da un individuo diverso, 408 (67,2%) sono stati prelevati da soggetti di sesso maschile. L'età media era di $50,2 \pm 13,2$ anni, in un intervallo da 21 a 86 anni.

Dei 607 campioni di analisi, 389 rientravano nell'intervallo di quantificazione di entrambi i saggi, inclusi 23 campioni di analisi con HCV di genotipi diversi da 1 (2, 2a, 2b, 2c, 3, 3a, 4 e 6) e uno con genotipi misti (HCV 1 e 6). La regressione di Deming mostra una correlazione molto alta tra il saggio Xpert HCV VL e il saggio di comparazione, con una pendenza pari a 1,022 e un'intercetta pari a 0,082. Il valore R^2 era 0,986.



*I genotipi HCV diversi da 1 sono rappresentati da triangoli. Un solo valore anomalo è stato escluso dall'analisi.

Figura 13. Xpert vs saggio di comparazione

20 Riferimenti bibliografici

1. Di Bisceglie AM. *Natural history of Hepatitis C: its impact on clinical management*. Hepatology 2000; 31:1014-1018.
2. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of Hepatitis C. Consensus Statement. J. Hepatology 2011; vol. 55:245-264.
3. Mohd Hanafiah K., Groeger J., Flaxman AD., Wiersma S.T *Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence*. Hepatology 2013; 57(4): 1333-1342.
4. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. *Global epidemiology of hepatitis C virus infection*. Lancet Infect Dis 2005; 5:558-67. doi:10.1016/S1473-3099(05)70216-4 PMID: 16122679.
5. Graham CS., Swan T. *A Path to Eradication of Hepatitis C in Low-and-Middle-Income Countries*. Antiviral Res. 2015 Jan 20; pii: S0166-3542(15)00005-4. doi: 10.1016/j.antiviral.215.01.004. [Epub ahead of print].
6. Region H Press Release. The number of people living with HIV and hepatitis is on the rise in Europe, Oct 2014. <http://newsite.hiveurope.edu/>
7. Hepatitis C Fact Sheet No 164 Updated April 2014, accessed January 28, 2015 at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>
8. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. *Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update*. Hepatology 2009;49 (4):1335-1374.
9. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (refer to latest edition. <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
11. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC)).
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

21 Ubicazione delle sedi centrali Cepheid

Sede centrale globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Stati Uniti
Telefono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede centrale europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francia
Telefono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Assistenza Tecnica

Prima di contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

- Nome del prodotto
- Numero di lotto
- Numero di serie dello strumento
- Messaggi di errore (se presenti)
- Versione del software e, se pertinente, codice riportato sull'etichetta di servizio del computer

Informazioni di contatto

Stati Uniti
Telefono: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

Francia
Telefono: + 33 563 825 319
E-mail: support@cepheideurope.com

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Assistenza Tecnica di Cepheid sono disponibili nel sito:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Attenzione
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Controllo
	Data di scadenza
	Marchio CE – Conformità europea
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Avvertenza



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

