

REF



SYSTEM

08814848190

08814848500

300

cobas e 402

cobas e 801

Italiano

Informazioni relative al sistema

| Nome abbreviato | ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione) |
|-----------------|--|
| HBSAG 2 | 10049 |

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione qualitativa *in vitro* dell'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) nel siero e nel plasma umani.

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

Approvazione normativa

Questo test ha ottenuto la certificazione del marchio CE secondo la Direttiva 98/79/CE. Le prestazioni del test sono state stabilite e certificate da un Organismo Notificato in base alle specifiche tecniche comuni (*Common Technical Specifications* – CTS) per uso diagnostico e per screening di donazioni di sangue nonché, secondo le raccomandazioni dell'Istituto Paul Ehrlich (PEI),¹ per l'uso di campioni di sangue cadaverico (campioni prelevati *post mortem*, a cuore non battente).

Sommario

L'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), un polipeptide di differenti dimensioni, è un componente dell'involucro esterno della particella del virus dell'epatite B (HBV).^{2,3} Il sangue delle persone infette da HBV contiene, oltre ai frammenti intatti di HBV infettivi, un eccesso di frammenti più piccoli di involucri "vuoti" non infettivi o filamentari formati dall'HBsAg.⁴

Il determinante 'a' dell'HBsAg, contro il quale è fondamentalmente diretta la risposta immunologica, è comune a tutti i frammenti dell'HBsAg. All'interno di questo determinante 'a' è stato possibile definire alcuni determinanti di sottotipi dell'HBsAg come d, y, w1-w4, r e q.⁵ Sotto pressione selettiva (causata da una terapia antivirale o dall'azione del sistema immunitario stesso), il virus può esprimere molti differenti mutanti dell'HBsAg vitali (cosiddetti "mutanti *escape*"). Alcuni mutanti possono provocare una diminuzione dei valori rilevati con test per l'HBsAg disponibili in commercio.^{3,6}

Il test Elecsys HBsAg II è stato sviluppato con il preciso scopo di rilevare un gran numero di tali mutanti. L'HBsAg è il primo marcatore immunologico dell'infezione da HBV ed è generalmente presente alcuni giorni o settimane prima che si manifestino i sintomi clinici. La rilevazione dell'HBsAg nel siero o nel plasma umani indica la presenza di un'infezione da HBV acuta o cronica.⁷

I test per la ricerca dell'HBsAg vengono utilizzati, nel quadro diagnostico, per identificare le persone infette da HBV e per prevenire la trasmissione del virus attraverso il sangue e gli emoderivati.^{4,8}

I test per l'HBsAg possono anche essere usati per monitorare il decorso della malattia e l'efficacia della terapia nelle persone con infezione da HBV acuta o cronica.⁹

Inoltre, i test per l'HBsAg vengono raccomandati come parte del monitoraggio prenatale, al fine di prendere misure appropriate per prevenire la possibile trasmissione dell'infezione da HBV dalla madre positiva per HBsAg al neonato.¹⁰

Per la determinazione dell'HBsAg, il test Elecsys HBsAg II impiega anticorpi (murini e ovini) monoclonali e policlonali anti-HBs.

Principio del test

Principio sandwich. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: 30 µL di campione, due anticorpi monoclonali biotinilati anti-HBsAg nonché una miscela di un anticorpo monoclonale anti-HBsAg e anticorpi policlonali anti-HBsAg, marcati con un complesso di rutenio^{a)}, formano un complesso sandwich.
- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di microparticelle rivestite di streptavidina, il complesso 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 (II) tris(2,2'-bipiridile) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

Il **cobas e** pack (M, R1, R2) è contrassegnato con HBSAG 2.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 flacone, 14.1 mL: microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.
- R1 Anticorpi anti-HBsAg-biotina, 1 flacone, 15.8 mL: due anticorpi (murini) monoclonali biotinilati anti-HBsAg > 0.5 mg/L; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 7.5; conservante.
- R2 Anticorpi anti-HBsAg-Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacone, 13.9 mL: anticorpo (murino) monoclonale anti-HBsAg, anticorpi (pecora) policlonali anti-HBsAg marcati con un complesso di rutenio > 1.5 mg/L; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 8.0; conservante.

HBSAG 2 Cal1 Calibratore negativo 1, 1 flacone da 1.3 mL: siero umano; conservante.

HBSAG 2 Cal2 Calibratore positivo 2, 1 flacone da 1.3 mL: HBsAg ca. 0.5 IU/mL 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 viene utilizzato solo sangue di donatori che sono stati testati individualmente e sono risultati negativi per la ricerca di HBsAg (solo HBSAG 2 Cal1) 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 HBsAg (HBSAG 2 Cal2) è stato inattivato impiegando β-propiolattone e 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.^{11,12}

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.

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

È possibile utilizzare i campioni prelevati da pazienti viventi, da donatori di sangue o da donatori di singoli organi, tessuti o cellule, inclusi i campioni prelevati da donatori al momento in cui il cuore del donatore sta ancora battendo.

La performance per l'uso di campioni di sangue cadaverico (campioni prelevati *post mortem*, a cuore non battente) è stata stabilita, secondo le raccomandazioni dell'Istituto Paul Ehrlich,¹ con campioni ottenuti entro 24 ore dalla morte.¹³ Non sono state osservate delle differenze qualitative tra i campioni non diluiti (non reattivi) o addizionati (reattivi), prelevati da donatori cadaverici, e quelli prelevati da donatori viventi.

Criterio di valutazione: valore medio dei campioni cadaverici rispetto a quelli prelevati da donatori viventi entro un recupero del 75-125 %.

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, ACD, CPD, CP2D, CPDA e citrato di sodio.

È possibile impiegare provette per plasma che contengono gel di separazione.

Criterio di valutazione: assegnazione corretta dei campioni negativi e positivi.

Stabilità

Per i campioni prelevati da pazienti viventi e quelli prelevati da donatori ottenuti al momento in cui il cuore del donatore sta ancora battendo: stabilità: 7 giorni a 20-25 °C, 14 giorni a 2-8 °C, 6 mesi a -20 °C (± 5 °C). I campioni possono essere congelati 6 volte.

Per campioni cadaverici: stabilità: 3 giorni a 20-25 °C, 7 giorni a 2-8 °C. I campioni possono essere congelati 3 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 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 HBsAg II non sono state stabilite con fluidi corporei diversi da siero e plasma.

Materiali a disposizione

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

- 2 x 6 etichette per flaconi

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 04687876190, PreciControl HBsAg II, 16 x 1.3 mL
 - [REF] 11820648122, HBsAg Confirmatory Test, 2 x 1 mL ciascuno di reattivo di conferma e di controllo, oppure [REF] 08741034190, confezione di reattivi Elecsys HBsAg II Auto Confirm
 - [REF] 11776576322, CalSet Vials, 2 x 56 flaconi vuoti con chiusura a scatto
 - 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 lo standard dell'NIBSC (numero codice: 00/588; Secondo Standard Internazionale dell'OMS per l'HBsAg, sottotipo adw2, genotipo A; IU/mL).

Elecsys HBsAg II

Inoltre sono stati misurati (U/mL) e confrontati con lo standard dell'OMS, i seguenti materiali di riferimento dell'Istituto Paul Ehrlich, Langen (Germania):

standard AD del PEI (foglietto informativo 1985, sottotipo AD; 1000 U/mL; inattivato)

standard AY del PEI (foglietto informativo 1985, sottotipo AY; 1000 U/mL; inattivato)

(1 IU/mL dello standard dell'OMS corrisponde a 0.34 U/mL dello standard AY del PEI, e 1 IU/mL dello standard dell'OMS corrisponde a 0.44 U/mL dello standard AD del PEI.)

Frequenza di calibrazione

Effettuare una calibrazione per ogni lotto di reattivo con HBSAG 2 Cal1, HBSAG 2 Cal2 e reattivo fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione del **cobas e** pack 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 12 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 es. se un controllo di qualità si trova al di fuori dei limiti definiti

Intervallo dei segnali elettrochemiluminescenti (*counts*) per i calibratori:
calibratore negativo (HBSAG 2 Cal1): 300-1500
calibratore positivo (HBSAG 2 Cal2): 2500-11000

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl HBsAg II.

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 HBSAG 2 Cal1 e di HBSAG 2 Cal2.

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

Interpretazione dei risultati

| Risultato numerico | Messaggio relativo al risultato | Interpretazione / ulteriori azioni |
|--------------------------|---------------------------------|--|
| ICO ^{b)} < 0.90 | Non reattivo | Negativo per HBsAg, non deve più essere testato. |
| ICO da ≥0.90 a <1.0 | Al limite | Tutti i campioni inizialmente reattivi o al limite dovrebbero essere ripetuti in duplicato con il test Elecsys HBsAg II. |
| ICO ≥ 1.0 | Reattivo | |

b) ICO = indice di cutoff

| Risultato del test di ripetizione | Risultato finale / interpretazione | Ulteriori azioni |
|---|------------------------------------|--|
| Uno o entrambi i test di ripetizione in duplicato presentano un ICO ≥ 0.90. | Ripetutamente reattivi | Il campione deve essere analizzato impiegando un test di neutralizzazione (Elecsys HBsAg Confirmatory Test o Elecsys HBsAg II Auto Confirm). I risultati confermati dalla neutralizzazione con anti-HBs vengono considerati come positivi per HBsAg. |
| Entrambi i test di ripetizione in duplicato presentano un ICO < 0.90. | Negativo per HBsAg | Non deve più essere testato. |

La ripetizione dei test dei campioni con un indice di cutoff iniziale ≥ 0.90 può essere eseguita automaticamente (vedere la sezione "**cobas e** flow").

cobas e flow

I **cobas e** flow sono procedure programmate nel sistema per consentire una sequenza completamente automatizzata di misure ed il calcolo delle combinazioni di test per eseguire gli algoritmi decisionali.

Un **cobas e** flow è disponibile per eseguire automaticamente la ripetizione delle misure in duplicato dei campioni con un indice di cutoff iniziale ≥ 0.90. Saranno riportati sia i risultati iniziali che il messaggio relativo al risultato finale.

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 | ≤428 μmol/L oppure ≤25 mg/dL |
| Emoglobina | ≤0.621 mmol/L oppure ≤1000 mg/dL |
| Intralipid | ≤1500 mg/dL |
| Biotina | ≤4912 nmol/L oppure ≤1200 ng/mL |
| Fattori reumatoidi | ≤1000 IU/mL |
| Albumina | ≤7.0 g/dL |
| IgG | ≤4.0 g/dL |
| IgA | ≤1.6 g/dL |
| IgM | ≤1.0 g/dL |

Criterio di valutazione per tutte le sostanze tranne la biotina: assegnazione corretta dei campioni negativi e positivi. Campioni con un ICO < 0.7: recupero < ICO + 0.3; campioni con un ICO ≥ 0.7: recupero ± 20 %.

Campioni singoli con un ICO > 1: recupero 60-140 %.

Criterio di valutazione per la biotina: assegnazione corretta dei campioni negativi e positivi. Campioni con un ICO < 0.7: recupero < ICO + 0.3; campioni con un ICO ≥ 0.7: recupero 80-140 %.

Con il test Elecsys HBsAg II, non è stato riscontrato alcun risultato falsamente negativo a causa dell'effetto hook fino ad una concentrazione di 1.5 milioni IU/mL.

Sostanze farmaceutiche

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

Inoltre, sono stati testati i seguenti farmaci speciali impiegati nella terapia dell'epatite B. Non è stata riscontrata alcuna interferenza con il test.

Farmaci speciali

| Farmaco | Concentrazione testata mg/L |
|------------------------|-----------------------------|
| Peginterferone alfa-2a | ≤0.18 |
| Peginterferone alfa-2b | ≤1.6 |
| Lamivudina | ≤300 |
| Adefovir | ≤10 |
| Entecavir | ≤10 |
| Telbivudina | ≤600 |
| Tenofovir | ≤245 |

Secondo lo stato attuale delle conoscenze, si deve partire dal presupposto che i metodi dei test disponibili per la rilevazione dell'HBsAg non possono identificare tutti i campioni di sangue o persone infetti. Un risultato negativo nel test non esclude con sicurezza la possibilità di una avvenuta esposizione o di una infezione da virus dell'epatite B. Risultati negativi nel test ottenuti per persone con un'esposizione precedente possono essere provocati da concentrazioni di antigeni al di sotto del limite di sensibilità di questo test o da una mancante reattività degli antigeni con gli anticorpi impiegati in questo test.

In casi rari possono riscontrarsi interferenze causate da titoli estremamente alti di anticorpi diretti contro anticorpi specifici anti-analita, di anticorpi anti-streptavidina o di anticorpi anti-rutenio. Tali effetti sono ridotti al minimo attraverso un procedimento appropriato del test.

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.

Limiti ed intervalli

Limite di sensibilità

Per la determinazione della sensibilità, la concentrazione di HBsAg corrispondente al segnale di misura del valore di cutoff è stata letta dalle curve standard ottenute da una serie di diluizioni di standard di HBsAg (ad e ay) nel siero umano negativo per HBV.

| Campione | Standard dell'Istituto Paul Ehrlich | | Standard 00/588 dell'OMS | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------------|-------|------------|-------|
| | Sottotipo ad, 1985 | Sottotipo ay, 1985 | Sottotipo ad | | | |
| | ICO | U/mL | ICO | U/mL | ICO | IU/mL |
| 1 | 88.4 | 1.999 | 566 | 10.0 | 39.4 | 2.00 |
| 2 | 44.7 | 1.005 | 289 | 5.04 | 19.9 | 0.998 |
| 3 | 3.09 | 0.047 | 12.7 | 0.200 | 1.64 | 0.052 |
| 4 | 0.396 | 0.000 | 0.421 | 0.000 | 0.409 | 0.000 |
| Sensibilità al cutoff (cutoff = 0.9) | ≤0.04 U/mL | | ≤0.04 U/mL | | ≤0.1 IU/mL | |

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 | | | | | |
|--|-----------|----------------------------|------|-------------------------------------|------|
| Campione | Media ICO | Ripetibilità ^{c)} | | Precisione intermedia ^{d)} | |
| | | DS ICO | CV % | DS ICO | CV % |
| SU ^{e)} , negativo | 0.254 | 0.018 | 7.1 | 0.030 | 11.7 |

| Analizzatori cobas e 402 e cobas e 801 | | | | | |
|--|-----------|----------------------------|------|-------------------------------------|------|
| Campione | Media ICO | Ripetibilità ^{c)} | | Precisione intermedia ^{d)} | |
| | | DS ICO | CV % | DS ICO | CV % |
| SU, fortemente negativo | 0.784 | 0.030 | 3.8 | 0.038 | 4.8 |
| SU, leggermente positivo | 1.12 | 0.038 | 3.3 | 0.043 | 3.9 |
| SU, positivo | 10.8 | 0.295 | 2.7 | 0.365 | 3.4 |
| PC ^{f)} HBsAg II 1 | 0.363 | 0.036 | 9.9 | 0.040 | 11.0 |
| PC HBsAg II 2 | 4.17 | 0.091 | 2.2 | 0.125 | 3.0 |

c) Ripetibilità = precisione nella serie

d) Precisione intermedia = precisione fra le serie

e) SU = siero umano

f) PC = PreciControl

Specificità analitica

Sono stati testati, con il test Elecsys HBsAg II, 1596 campioni contenenti sostanze potenzialmente interferenti; questo gruppo comprendeva campioni:

- contenenti anticorpi contro HAV, HCV, HIV, HTLV, CMV, EBV, HSV, rosolia, parvovirus, VZV, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, *Borrelia*, listeriosi
- contenenti autoanticorpi (ANA, LES), titoli elevati di fattori reumatoidi o anticorpi umani anti-topo (HAMA)
- positivi per parotite, morbillo, malaria
- dopo vaccinazione contro l'HBV e l'influenza
- prelevati da pazienti con gammopatia monoclonale e mieloma/linfoma multiplo, da pazienti dializzati o da pazienti affetti da epatopatie associate all'alcolismo
- prelevati da donne in gravidanza

Non è stato riscontrato alcun risultato falsamente positivo. 14 campioni sono risultati positivi per HBsAg (1 campione su ciascuno dei gruppi di pazienti positivi per gli anticorpi anti-HAV, anti-HIV, anti-HTLV e anti-EBV; 1 campione prelevato da un paziente dializzato e 9 campioni prelevati da donne in gravidanza). 2 campioni (1 dopo vaccinazione contro l'HBV e 1 con RF elevati) erano inizialmente positivi, ma negativi dopo l'esecuzione di una seconda misura. La specificità complessiva era del 100 % (limite inferiore di confidenza del 95 %, unilaterale: 99.81 %).

Sensibilità clinica

Con il test Elecsys HBsAg II sono stati testati complessivamente 1025 campioni scelti confermati positivi per HBsAg nei vari stadi della malattia. 1024 campioni sono stati identificati correttamente (1 campione era ripetutamente negativo (ICO: 0.81-0.88), neutralizzato positivamente con l'Elecsys HBsAg Confirmatory Test; negativo in un 3° test per l'HBsAg, negativo per anti-HBs, negativo per anti-HBe, negativo per HBeAg, positivo per anti-HBc). La sensibilità in questo gruppo di 1025 campioni è del 99.9 %.

Con il test Elecsys HBsAg II sono stati testati complessivamente 156 campioni esaminati in studi genotipici (genotipo A (30), B (8), C (11), C/E (1), D (68), E (17), F (17), G (3), non assegnato (1)) e tutti i sottotipi dell'HBsAg noti (CNTS – *Centre National de la Transfusion Sanguine*, n = 9 panels di sottotipi). Tutti quanti sono risultati positivi eccetto 6 campioni (2 del genotipo A, 1 del genotipo D e 3 del genotipo E) con l'HBV-DNA negativo o basso (anche negativi in altri test per l'HBsAg). Con il test Elecsys HBsAg II sono stati testati complessivamente 115 campioni comprendenti differenti mutazioni di HBsAg, confrontandone poi i risultati con quelli ottenuti con 3 test per l'HBsAg registrati.

| Panel di mutanti | Testati/positivi con il test Elecsys HBsAg II |
|--|---|
| Panel 1 di mutanti nativi (ceppi che mostrano sostituzioni aminoacidiche associate alla resistenza al vaccino, alla resistenza alla terapia con immunoglobuline umane anti-HB o a disturbi nella reattività dell'HBsAg) | 41/40 ^{g)} |
| Panel 2 di mutanti nativi (ceppi che mostrano altre modifiche aminoacidiche) | 24/24 |
| Panel 3 di mutanti nativi | 19/17 ^{h)} |
| Panel di mutanti ricombinanti | 31/31 |
| Totale | 115/112 |

g) campione (mutazione G145R) negativo in tutti i test (ICO: 0.1-0.8); tutte le determinazioni sono state eseguite in una diluizione 1:40 (FCS: fetal calf serum – siero di vitello fetale)

h) campioni (rispettivamente mutazione M133L/M143T/G145R e mutazione T45S/I49R/113T/114/1186P) risultati negativi con tutti i test eseguiti, essendo la 1^a mutazione testata con 3 determinazioni (ICO: 0.03-0.76) e la 2^a mutazione con 4 determinazioni (ICO: 0.03-0.78)

Per 8 panels di performance (Boston Biomedica, Inc.), il test Elecsys HBsAg II mostra un'ottima concordanza con i dati riportati nella rispettiva Product Information (140 campioni positivi su 150 campioni testati). Tutti i campioni assegnati come positivi sono risultati positivi con il test Elecsys HBsAg II, portando ad una sensibilità del 100 %.

Specificità clinica

La specificità del test Elecsys HBsAg II in un gruppo di 6360 donatori di sangue è risultata essere la seguente: specificità inizialmente reattiva (IR): 99.91 %; specificità ripetutamente reattiva (RR): 99.98 %.

Nel gruppo di 3593 campioni della routine giornaliera (prelevati da pazienti ospedalizzati, ambulatori e prechirurgici, da addetti del settore sanitario nonché da persone anonime), la specificità (IR ed RR) è risultata pari al 99.88 %.

| Gruppo | Numero | Inizialm. reattivi | Ripetutam. reattivi | Confermati positivi |
|------------------------|--------|--------------------|---------------------|---------------------|
| Donatori di sangue | 6360 | 8 | 3 | 2 |
| Pazienti ospedalizzati | 3593 | 181 | 176 ⁱ⁾ | 122 ^{j)} |

i) 5 campioni non potevano essere ripetuti a causa del volume insufficiente dei campioni.

j) 55 campioni non potevano essere neutralizzati a causa del volume insufficiente dei campioni; 1 campione è risultato negativo con il test Elecsys HBsAg II.

Panels di sierconversione

La sensibilità per la sierconversione del test Elecsys HBsAg II è stata mostrata misurando 56 panels di sierconversione disponibili in commercio e confrontandone i risultati con quelli di determinazioni dell'HBsAg registrate. In tutti i panels il test Elecsys HBsAg II mostra la rilevazione della sierconversione uguale a o prima degli altri test per l'HBsAg.

Letteratura

- Proposal for the Validation of Anti-HIV-1/2 or HIV Ag/Ab Combination Assays, anti-HCV-Assays, HBsAg and Anti-HBc assays for Use with Cadaveric Samples; PEI 08/05/2014.
- Seeger C, Zoulim F, Mason WS. Hepadnaviruses. In: Field's Virology, Knipe DM, Howley RM (eds), 2007 5th edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA. Chapter 76, pp2977-3029.
- Lee JM, Ahn SH. Quantification of HBsAg: basic virology for clinical practice. World J Gastroenterol 2011;17:283-289.
- Liaw YF. Clinical utility of hepatitis B surface antigen quantification in patients with chronic hepatitis B: a review. Hepatology 2011;54:W1-E9.
- Norder H, Couroucé AM, Coursaget P, et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes and HBsAg subtypes. Intervirology 2004;47:289-309.
- Gerlich W. Diagnostic problems caused by HBsAg mutants – a consensus report of an expert meeting. Intervirology 2004;47:310-313.

- Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B infection. Lancet 2009;373:582-592.
- WHO. Hepatitis B. Fact sheet N°204. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en>, accessed March 2015.
- Sonneveld MJ, Zoutendijk R, Janssen HLA. Hepatitis B surface antigen monitoring and management of chronic hepatitis B. J Viral Hepat 2011;18:449-457.
- US Preventative Services Task Force. Screening for hepatitis B virus infection in pregnancy: US Preventative Services Task Force Reaffirmation Recommendation Statement. Ann Int Med 2009;150:569-873.
- Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register.
- 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.
- Commission Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells.

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

