

Xpert® HCV VL Fingerstick

REF GXHCV-FS-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2018-2022 Cepheid.

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

Cepheid[®], il logo Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] sono marchi di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi. Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO IN ACCORDO ALLE PRESENTI ISTRUZIONI PER L'USO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

© 2018-2022 Cepheid.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert[®] HCV VL Fingerstick

Solo per uso diagnostico in vitro.

1 Nome registrato

Xpert[®] HCV VL Fingerstick

2 Nome comune o usuale

HCV VL FS

3 Uso previsto

Il saggio Xpert HCV VL Fingerstick (FS) è un test di reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione in vitro (RT-PCR) per il rilevamento e la quantificazione dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) in sangue intero capillare umano, prelevato con puntura del dito, in EDTA e sangue intero venoso umano in EDTA proveniente da individui infettati dall'HCV utilizzando i sistemi di strumentazione automatizzati GeneXpert[®].

Il saggio Xpert HCV VL FS è previsto per l'utilizzo come ausilio nella diagnosi iniziale in individui a elevato rischio di infezione da HCV o in individui positivi all'anti-HCV. Il rilevamento di RNA dell'HCV indica che il virus si sta replicando e, pertanto, costituisce la prova di infezione attiva.

Il saggio Xpert HCV VL FS è previsto per l'utilizzo come ausilio nella gestione dei pazienti infetti da HCV sottoposti a terapia antivirale. Il test misura i livelli di RNA dell'HCV in qualsiasi momento durante la viremia e durante il trattamento, e può essere utilizzato per prevedere la risposta virologica sostenuta e quella non sostenuta alla terapia contro l'HCV.

Il saggio Xpert HCV VL FS è previsto per l'uso da parte dei professionisti di laboratorio oppure 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 delle Flaviviridae ed è stato riconosciuto come il principale agente eziologico dell'epatopatia cronica, tra cui l'epatite cronica attiva, 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 viene in genere trasmesso attraverso l'esposizione percutanea a sangue infetto, principalmente tramite l'utilizzo di farmaci a somministrazione endovenosa, iniezioni per uso sanitario non sicure e ricevimento di emoderivati donati non sottoposti a screening. È stato dimostrato, con minore frequenza, che l'HCV viene trasmesso attraverso esposizioni perinatali e sessuali.² L'HCV è in genere asintomatico durante la fase acuta dell'infezione e, pertanto, molte persone non vengono diagnosticate. Circa il 70% degli individui infetti da HCV svilupperà la malattia cronica da HCV.² Attualmente, lo screening per l'infezione da HCV attiva o pregressa si basa sul rilevamento di anticorpi anti-HCV, tuttavia, la presenza di HCV-RNA è indicativa di infezione attiva.³ Si stima che 71 milioni di persone in tutto il mondo vivano con HCV cronica e soltanto il 20% sia stato diagnosticato.² L'infezione da HCV è distribuita in modo non uniforme in tutto il mondo e la prevalenza varia tra i diversi Paesi e all'interno di essi. Le regioni più colpite sono il Mediterraneo orientale (2,3%), l'Europa (1,5%), l'Africa (1,0%) e <1% in altre regioni come le Americhe, il Pacifico occidentale e il Sud-Est asiatico.² I farmaci antivirali possono curare l'HCV, ma l'accesso alla diagnosi e al trattamento è basso.⁴ Una cura per l'infezione da HCV (definita come risposta virologica sostenuta, cioè HCV-RNA non rilevabile 12 o 24 settimane dopo il completamento della terapia anti-HCV) è ora possibile nella maggior parte dei pazienti con combinazioni di antivirali orali ad azione diretta (DAA) altamente efficaci, sicuri e tollerabili, assunti per 8-12 settimane.^{2,5}

La quantificazione dell'HCV-RNA si è dimostrata utile per la valutazione dell'efficacia della risposta antivirale al trattamento dell'HCV. Le linee guida per la gestione e il trattamento dell'HCV raccomandano test quantitativi per l'HCV-RNA prima dell'inizio della terapia antivirale e a 12 o 24 settimane dopo il completamento della terapia anti-HCV.⁵

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 utilizzando la reazione a catena della polimerasi transcriptasi inversa (RT-PCR) che utilizza la fluorescenza per rilevare l'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 di cartucce GeneXpert monouso contenenti i reagenti per la RT-PCR, 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 consultare, come appropriato, il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il

Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity. Il saggio HCV VL FS include reagenti per il rilevamento di RNA dell'HCV in campioni di analisi cliniche e due controlli interni utilizzati per la quantificazione di RNA dell'HCV. I controlli interni sono utilizzati anche per controllare l'adeguato trattamento del bersaglio e monitorare 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.

Il saggio è standardizzato rispetto al 4° standard internazionale dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) per l'HCV (codice NIBSC: 06/102).⁶

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiali in dotazione



Il kit del saggio HCV VL FS contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi o campioni di controllo qualità. Il contenuto del kit è il seguente.

Cartucce del saggio HCV VL FS con provette di reazione integrate	10
• Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate)	1 di ciascuna per cartuccia
• Reagente di lisi (guanidinio tiocianato)	1,0 ml per cartuccia
• Reagente di risciacquo	0,5 ml per cartuccia
• Reagente di eluizione	1,5 ml per cartuccia
• Reagente legante	1,5 ml per cartuccia
CD	
• File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)	
• Istruzioni per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert	
• Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)	

Nota

Le schede dati di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) sono disponibili nei siti www.cepheid.com e www.cepheidinternational.com nella scheda **ASSISTENZA (SUPPORT)**.

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 nutriti con proteine di ruminanti o altre proteine animali; gli animali hanno superato i test 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 FS a una temperatura di 2–28 °C. Portare le cartucce a temperatura ambiente prima dell'uso se sono state conservate fredde.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo al momento dell'esecuzione del saggio.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.
- Non usare cartucce del saggio HCV VL FS precedentemente congelate.
- Non utilizzare una cartuccia oltre la data di scadenza.

8 Materiali necessari ma non forniti

- Sistema GeneXpert Dx o sistema GeneXpert Infinity (il numero di catalogo varia in base alla configurazione): strumento GeneXpert, computer con software proprietario GeneXpert versione 4.7b o successiva (sistemi GeneXpert Dx) o Xpertise versione 6.4b o successiva (Infinity-80/Infinity-48s), lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.
- Stampante: se fosse necessario l'uso di una stampante, contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Candeggina o ipoclorito di sodio
- Etanolo o etanolo denaturato
- Minivette® POCT monouso 100 µl K3E (P/N: MINIVETTE 100E-100, 100 per scatola)
- Lancetta di sicurezza Super monouso, 1,5 mm (Sarstedt, P/N: 85.1018) o simile

9 Avvertenze e precauzioni



- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- 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)⁷ e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁸
- Si consiglia di adottare buone pratiche di laboratorio e di cambiare i guanti per maneggiare campioni di analisi diversi, al fine di evitare la contaminazione di tali campioni o dei reagenti.
- 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 FS con altri reagenti.
- Aprire il coperchio della cartuccia del saggio HCV VL FS soltanto quando viene aggiunto il campione.
- Non utilizzare una cartuccia che sia caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia viene agitata o cade dopo l'apertura del coperchio, si possono ottenere risultati non validi.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione è danneggiata.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.
- ② • Ciascuna cartuccia monouso del saggio HCV VL FS viene utilizzata per l'esecuzione di un solo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- ② • Il Minivette POCT viene utilizzato per raccogliere e trasferire un campione di analisi. Non riutilizzare il Minivette POCT usato.
- Indossare camice da laboratorio e guanti puliti. Cambiare i guanti quando si passa da un campione all'altro durante il trattamento dei campioni.
- Nel caso in cui l'area di lavoro o le apparecchiature vengano contaminate dai campioni o dai controlli, pulire a fondo le superfici interessate con una soluzione appena preparata di ipoclorito di sodio allo 0,5% (o una soluzione diluita in rapporto 1:10 di candeggina per uso domestico). Pulire, quindi, la superficie con etanolo al 70%. Asciugare completamente le superfici di lavoro prima di continuare.
- 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 per il cui smaltimento sarà necessario attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali. 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.⁹

10 Pericoli chimici^{10,11}

- Avvertenza: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Nocivo se ingerito
 - Provoca lieve irritazione cutanea
 - Provoca irritazione oculare
- **Fraasi 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 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 Raccolta e conservazione dei campioni

11.1 Sangue intero capillare

- I campioni di sangue intero capillare devono essere raccolti utilizzando il Minivette POCT dopo la puntura del dito con la Safety-Lancet (non fornita da Cepheid). Seguire le istruzioni per l'uso fornite dal produttore.
- Per il saggio HCV VL FS sono necessari 100 µl di sangue intero. Il Minivette POCT deve essere riempito completamente.
- I campioni di sangue intero raccolti con il Minivette POCT possono essere conservati nel dispositivo di raccolta per un massimo di 15 minuti a 5–35 °C.



11.2 Sangue intero venoso

- Raccogliere il sangue intero venoso in un flaconcino sterile con EDTA come anticoagulante attenendosi alle istruzioni per l'uso del produttore.
- Per il saggio HCV VL FS sono necessari 100 µl di sangue intero.
- Il sangue intero venoso raccolto in EDTA può essere conservato in un flaconcino sterile fino a 6 mesi a -20 °C, 72 ore a 2–8 °C o 24 ore a un massimo di 35 °C.



12 Procedura

12.1 Preparazione della cartuccia

Importante Iniziare il test entro quattro ore dall'introduzione del campione nella cartuccia.

1. Indossare guanti protettivi monouso.
2. Prima dell'uso, consentire alla cartuccia di stabilizzarsi a temperatura ambiente (25±3 °C).
3. Controllare che la cartuccia non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
4. Applicare alla cartuccia un'etichetta con l'identificazione del campione di analisi.
5. Aprire il coperchio della cartuccia.
6. Per il sangue intero *capillare*:
 - A. Posizionare il Minivette POCT riempito (vedere la Figura 1) il più profondamente possibile nella camera per il campione della cartuccia (vedere la Figura 2).
 - B. Premere delicatamente il pistone del Minivette POCT per erogare il sangue.Per il sangue intero *venoso*:
 - A. Miscelare il sangue intero capovolgendo il flaconcino almeno sette (7) volte.
 - B. Utilizzare una micropipetta per trasferire 100 µl di sangue intero nella camera per il campione della cartuccia (vedere la Figura 2). Accertarsi che il sangue venga erogato nella parte inferiore della camera per il campione.
 - C. Per assicurarsi che vengano erogati 100 µl, utilizzare un puntale per pipetta preumidificato o usare la tecnica di pipettaggio inverso per aspirare ed erogare il campione ematico.

Nota

Se si caricano meno di 100 µl di sangue nella cartuccia, si può attivare un errore per volume insufficiente (ERRORE 2097 [ERROR 2097]) che impedisce il trattamento del campione nello strumento.



Figura 1. Minivette POCT 100 µl di EDTA

Nota Non rimuovere la sottile pellicola in plastica che copre l'anello interno dei 13 fori della cartuccia per il test.



Figura 2. HCV VL FS Cartuccia (vista dall'alto)

7. Chiudere il coperchio della cartuccia. Accertarsi che il coperchio sia bloccato in posizione.

12.2 Avvio del test

Importante

Prima di iniziare il test, accertarsi che il file di definizione del saggio (ADF) HCV VL FS sia stato importato nel software.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, a seconda del modello di strumento utilizzato.

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

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 del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accenderlo. Il software Xpertise™ si avvia automaticamente. Se non si avvia, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows®.
2. Effettuare l'accesso al software del Sistema di strumentazione GeneXpert inserendo il nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (GeneXpert Dx) o **Ordini (Orders)** e **Ordina test (Order Test)** (Infinity).

4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) (opzionale). Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra Visualizza risultati (View Results).
5. Inserire l'ID campione (Sample ID) tramite scansione o manualmente. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID campione (Sample ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra Visualizza risultati (View Results) così come su tutti i rapporti. Verrà visualizzata la finestra di dialogo Esegui scansione della cartuccia (Scan Cartridge).
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia di HCV VL FS. Usando le informazioni contenute nel codice a barre, il software riempie automaticamente le caselle corrispondenti ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge SN) e Data di scadenza (Expiration Date).
7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)** (GeneXpert Dx) o **Inoltra (Submit)** (Infinity). Immettere la password, se richiesto.
8. Se si utilizza uno strumento GeneXpert Infinity, posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia viene caricata automaticamente, il test viene eseguito e la cartuccia usata viene quindi collocata nel contenitore dei rifiuti.

oppure

Se si utilizza uno strumento GeneXpert Dx:

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

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 del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, a seconda dello strumento utilizzato.

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

14 Controllo qualità

CONTROL

Ogni analisi comprende un controllo di adeguatezza del volume dei campioni (SVA), lo standard quantitativo interno alto e basso (IQS-H e IQS-L) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

- **Adeguatezza del volume dei campioni (SVA):** assicura che il campione sia stato aggiunto correttamente nella cartuccia. Il controllo SVA verifica che nella camera del campione sia stato introdotto il volume corretto di campione. Il controllo SVA si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati. Se il controllo SVA non viene superato, si visualizza un **ERRORE 2097 (ERROR 2097)** nel caso si aggiunga una quantità insufficiente di campione alla cartuccia. L'**ERRORE 2096 (ERROR 2096)** indica che non è stata trattata la quantità sufficiente di campione. Il sistema impedisce all'utente di riprendere il test.
- **Standard quantitativo interno alto e basso (IQS-H e IQS-L):** IQS-H e IQS-L sono due controlli Armored RNA® non correlati all'HCV, sotto forma di microsfele asciutte, che attraversano l'intero processo GX. Sono utilizzati per equilibrare la concentrazione dell'HCV con la qualità del campione di analisi e le caratteristiche del lotto del kit. I controlli IQS-H e IQS-L rilevano l'inibizione della reazione RT-PCR associata al campione di analisi, fungendo pertanto come controlli per il trattamento del campione (SPC). I controlli IQS-H e IQS-L si considerano superati se soddisfano i criteri di accettazione convalidati.
- **Parametri specifici del lotto (LSP) per la quantificazione:** Ciascun lotto del kit è dotato di parametri specifici del lotto (LSP) integrati generati da un pannello di calibrazione HCV riconducibile al 4° standard internazionale OMS per HCV NAT (codice NIBSC 06/102)⁷ e gli standard quantitativi interni, IQS-H e IQS-L. I valori Ct di IQS-H e IQS-L sono inclusi come parametri nell'equazione che costituisce l'LSP del lotto del kit.
- **Controllo per la verifica della sonda (PCC):** prima che inizi la reazione PCR, il sistema di strumentazione GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfele, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità della sonda e la stabilità dei coloranti. Il controllo PCC si considera superato se i segnali di fluorescenza soddisfano 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, dai segnali fluorescenti misurati e dagli algoritmi di calcolo incorporati e vengono visualizzati nella finestra Visualizza risultati (View Results) (Figura 3 e Figura 4). I risultati possibili sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. HCV VL FS Risultati e interpretazione del saggio

Risultato	Interpretazione
HCV RILEVATO (HCV DETECTED) XX IU/ml (log X,XX)	L'RNA dell'HCV è stato rilevato a XX IU/ml (vedere la Figura 3). <ul style="list-style-type: none"> L'RNA dell'HCV ha un titolo compreso nell'intervallo quantitativo del saggio (100-1,00E08 IU/ml). IQS-H e IQS-L: RIUSCITO (PASS). Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HCV RILEVATO (HCV DETECTED) > 1,00E08 IU/ml	L'RNA dell'HCV è rilevato al di sopra dell'intervallo quantitativo del saggio. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS-L: RIUSCITO (PASS). Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HCV RILEVATO (HCV DETECTED) < 100 IU/ml	L'RNA dell'HCV è rilevato al di sotto dell'intervallo quantitativo del saggio. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS-L: RIUSCITO (PASS). Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HCV NON RILEVATO (HCV NOT DETECTED)	L'RNA dell'HCV non è rilevato (vedere la Figura 4). <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS-L: RIUSCITO (PASS). Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
NON VALIDO (INVALID)	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di HCV-RNA. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e/o IQS-L: RESPINTO (FAIL); Le soglie del ciclo (Cts) non rientrano nell'intervallo di validità. Verifica della sonda: RIUSCITO (PASS); tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERRORE (ERROR)	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di HCV-RNA. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test. <ul style="list-style-type: none"> Verifica della sonda: RESPINTO (FAIL)*; uno o più risultati della verifica della sonda non sono validi. <p>* Se il controllo della sonda è riuscito, l'errore deriva dal superamento dell'intervallo valido da parte del limite massimo di pressione oppure dal guasto di un componente del sistema.</p>
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di HCV-RNA. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test. NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.

Nota Le schermate del saggio sono soltanto un esempio. Il numero di versione può differire dalle schermate illustrate in questo foglietto illustrativo.

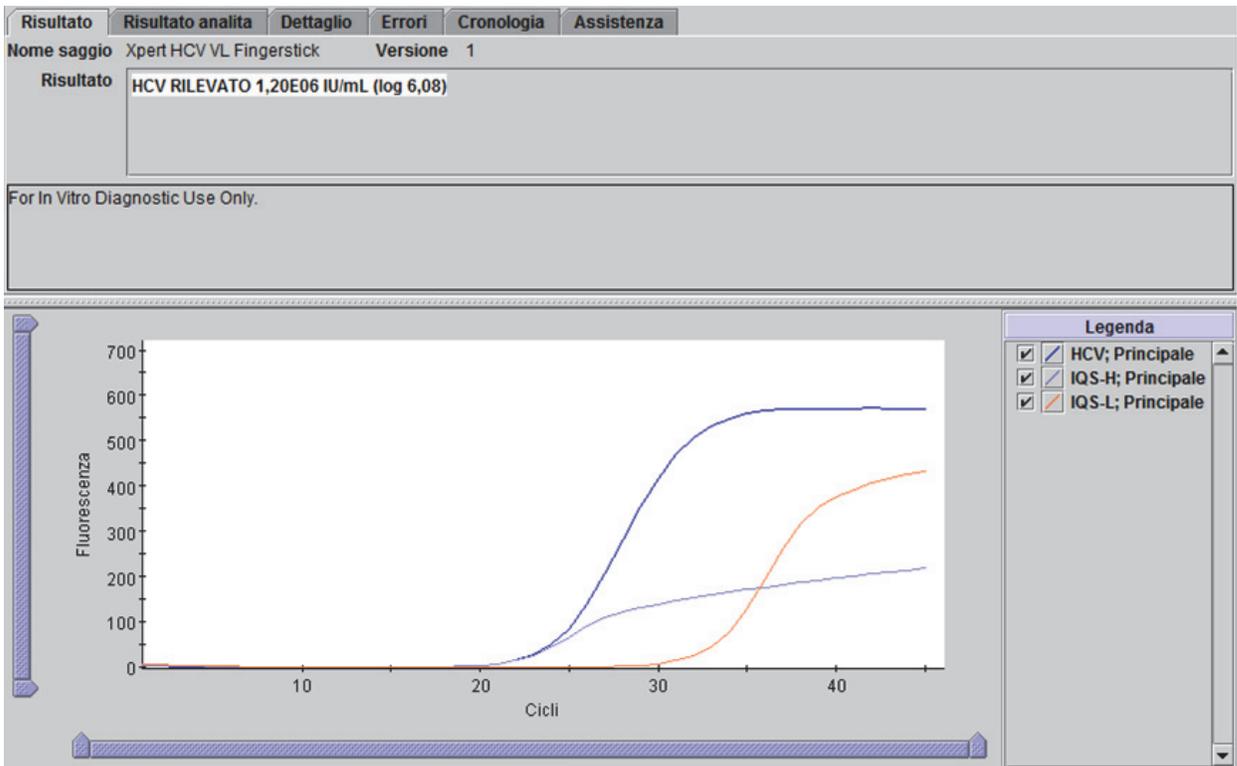


Figura 3. HCV rilevato e quantificato

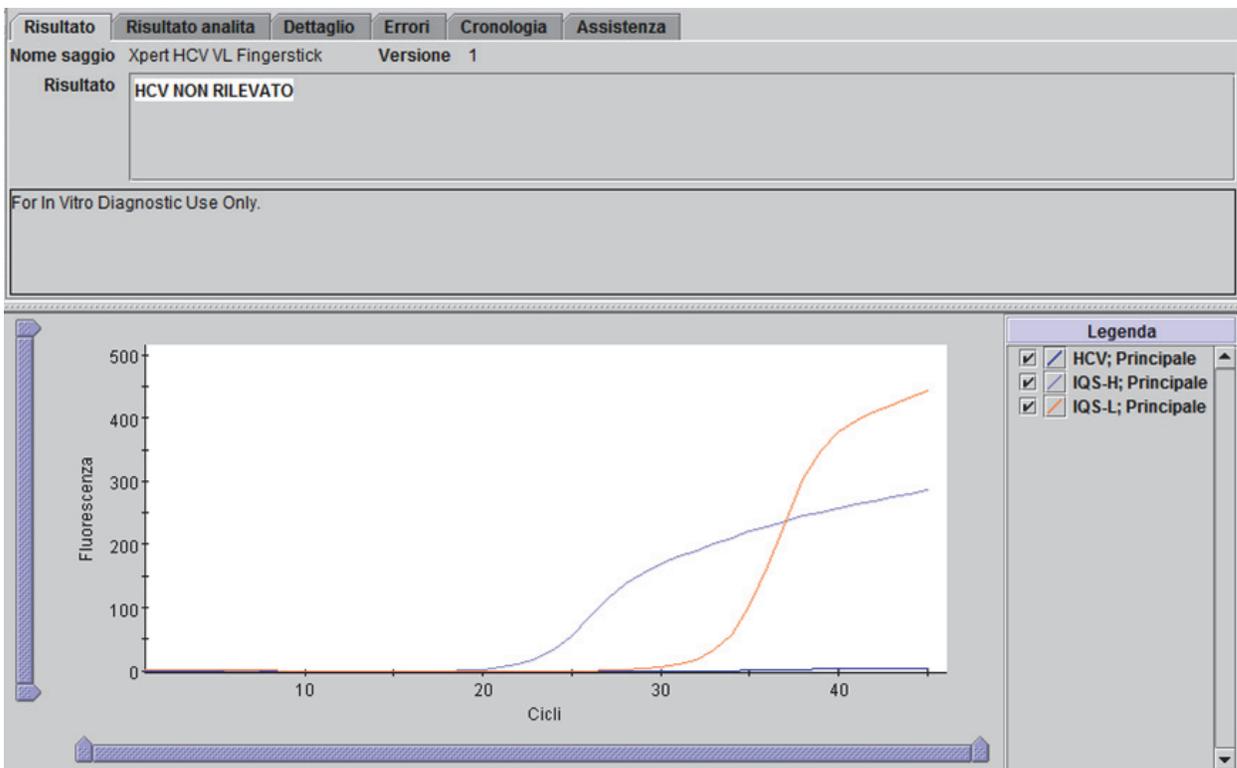


Figura 4. HCV non rilevato

16 Ripetizioni del test

16.1 Motivi per ripetere il test

Se si ottiene uno dei risultati riportati qui di seguito, ripetere il test attenendosi alle istruzioni riportate nella Sezione 16.2, Procedura di ripetizione del test.

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica uno o più dei seguenti casi:
 - I Cts 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.
- Un risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il saggio è stato interrotto. Le cause possibili comprendono: aggiunta di un volume insufficiente di campione, riempimento non corretto della provetta di reazione, rilevamento di un problema di integrità con la sonda del reagente o superamento del limite massimo di pressione.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** 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

Se il risultato di un'analisi è **NON VALIDO (INVALID)**, **ERRORE (ERROR)** o **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)**, usare una cartuccia nuova per rianalizzare il campione di analisi interessato (non riutilizzare la cartuccia).

1. Se si utilizza sangue intero capillare, consultare la Sezione 11.1, Sangue intero capillare per la raccolta di un campione di analisi.
2. Estrarre la nuova cartuccia dal kit.
3. Vedere la Sezione 12, Procedura, compresa la Sezione 12.1, Preparazione della cartuccia e Sezione 12.2, Avvio del test.

17 Limitazioni procedurali

- Si consiglia di adottare buone pratiche di laboratorio e di cambiare i guanti per maneggiare campioni di analisi diversi, al fine di evitare la contaminazione di tali campioni o dei reagenti.
- Mutazioni rare all'interno della regione bersaglio del saggio HCV VL FS possono influenzare il legame con il primer e/o la sonda, con conseguente sottoquantificazione o mancato rilevamento del virus.
- Questo saggio è stato convalidato soltanto per l'uso con sangue intero capillare e venoso raccolto in EDTA. I test con altri tipi di campioni di analisi possono dar luogo a risultati non accurati.
- Per una corretta esecuzione di questo test è necessario che la raccolta, la conservazione, la manipolazione e il trasporto del campione di analisi nel sito del test siano adeguati.
- I risultati del saggio HCV VL FS devono essere interpretati insieme ad altri risultati clinici e di laboratorio.
- A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, si raccomanda che, prima di passare da una tecnologia all'altra, gli utenti eseguano studi di correlazione dei metodi nel proprio laboratorio per quantificare le differenze tecnologiche.
- Un risultato negativo del test con il saggio HCV VL FS non preclude la possibilità che un paziente abbia un'infezione da HCV.
- Il saggio non è destinato allo screening dell'HCV in donazioni di sangue, plasma, siero o tessuto.

18 Caratteristiche prestazionali

18.1 Limite di rilevamento

Il limite di rilevamento (LOD) del saggio HCV VL FS è stato determinato per i genotipi HCV da 1 a 6 analizzando pannelli di sette o otto elementi preparati aggiungendo campioni clinici positivi all'HCV o un materiale di riferimento HCV ad alto titolo commerciale (Acrometrix HCV High Titer Control, genotipo 1b, Thermo Fisher Scientific, Lotto: RD16121511) in sangue intero EDTA umano negativo all'HCV. La concentrazione di ciascuno stock è stata determinata dal saggio Xpert HCV Viral Load, con calibrazione riconducibile al 4° standard internazionale dell'OMS per HCV (codice NIBSC 06/102).⁶ Il LOD del genotipo 1a dell'HCV è stato determinato analizzando 24 replicati di ciascun livello di diluizione per ciascuno dei tre lotti di reagente nell'arco di tre giorni. In totale sono stati analizzati 72 replicati per livello di genotipo 1a. Il LOD per i genotipi HCV 1b e da 2 a 6 è stato determinato utilizzando un lotto di reagenti per analizzare un totale di 24 replicati di ciascun livello di diluizione nell'arco di tre giorni.

La concentrazione di RNA dell'HCV rilevabile con un tasso di positività del 95% è stata determinata mediante analisi di regressione PROBIT. I risultati di tutti i genotipi sono indicati nella Tabella 2.

Tabella 2. Limite di rilevamento per il saggio Xpert HCV VL FS utilizzando la regressione PROBIT

Genotipo	Concentrazione nominale (IU/ml)	Numero di replicati validi	Numero di positivi	Tasso di positività (%)	LOD con probabilità del 95% stimato mediante PROBIT (Intervallo di confidenza al 95%)
1a	45	72	72	100%	22 IU/ml ^a (IC al 95%: 17–27 IU/ml)
	30	72	70	97%	
	15	72	59	82%	
	10	72	59	82%	
	5	72	30	42%	
	2,5	72	9	13%	
1b	45	24	24	100%	23 IU/ml (IC al 95%: 18–32 IU/ml)
	30	24	23	96%	
	15	24	19	79%	
	10	24	18	75%	
	5	24	13	54%	
	2,5	24	11	46%	
2b	45	24	24	100%	13 IU/ml (IC al 95%: 10–16 IU/ml)
	30	24	24	100%	
	15	24	24	100%	
	10	24	18	75%	
	5	24	12	50%	
	2,5	24	9	38%	
3a	45	24	24	100%	28 IU/ml (IC al 95%: 21–34 IU/ml)
	30	24	22	92%	
	15	24	17	71%	
	10	24	14	58%	
	5	24	12	50%	
	2,5	24	4	17%	
4	45	24	24	100%	15 IU/ml (IC al 95%: 13–20 IU/ml)
	30	24	24	100%	
	15	24	20	83%	
	10	24	21	88%	
	5	24	16	67%	
	2,5	24	8	33%	
5	45	24	24	100%	28 IU/ml (IC al 95%: 21–36 IU/ml)
	30	23	21	91%	
	15	24	17	71%	
	10	24	15	63%	
	5	24	11	46%	
	2,5	24	9	38%	

Tabella 2. Limite di rilevamento per il saggio Xpert HCV VL FS utilizzando la regressione PROBIT (continua)

Genotipo	Concentrazione nominale (IU/ml)	Numero di replicati validi	Numero di positivi	Tasso di positività (%)	LOD con probabilità del 95% stimato mediante PROBIT (Intervallo di confidenza al 95%)
6e	60	24	24	100%	35 IU/ml (IC al 95%: 28–42 IU/ml)
	45	24	23	96%	
	30	24	22	92%	
	15	24	14	58%	
	10	24	11	46%	
	5	24	10	42%	
	2,5	24	3	13%	

a. Il più alto LOD stimato per il genotipo 1a basato sul test e l'analisi di ciascuno dei tre lotti di reagente.

18.2 Limite inferiore di quantificazione (LLOQ)

Per limite inferiore di quantificazione (LLOQ) si intende la concentrazione più bassa di RNA dell'HCV quantificata con precisione ed esattezza accettabili mediante il metodo dell'errore analitico totale (TAE) e un approccio basato sulla differenza tra due misurazioni. Il LLOQ è stato valutato con quattro campioni a basso titolo indipendenti analizzati utilizzando tre lotti di reagenti con 22–24 replicati per lotto. Il TAE è stato stimato con il modello Westgard secondo la linea guida CLSI EP17-A2¹² con il criterio, $[(\text{Bias assoluto}) + 2 \text{ DS}] \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$. La differenza tra il metodo di due misurazioni è stata valutata con il criterio, $[(2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{DS})] \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$. Le analisi LLOQ per ciascun campione sono indicate nella Tabella 3. I risultati dimostrano che il saggio HCV VL FS può quantificare 100 IU/ml di HCV-RNA con esattezza e precisione accettabili.

Tabella 3. Determinazione dell'LLOQ per il saggio Xpert HCV VL FS

Campione di analisi	Lotto	N	Concentrazione di HCV (Log ₁₀ IU/ml)		Bias	DS totale	Errore analitico totale ^a	Metodo con due misurazioni ^b
			Attesa	Osservata				
HCV Gt1a (Campione clinico n. 1)	1	24	2,00	2,16	0,16	0,23	0,61	0,64
	2	24	2,00	2,13	0,13	0,20	0,53	0,56
	3	23	2,00	2,30	0,30	0,20	0,70	0,56
	1	24	1,65	1,70	0,04	0,30	0,64	0,85
	2	24	1,65	1,62	0,03	0,26	0,55	0,74
	3	24	1,65	1,77	0,12	0,18	0,48	0,51
HCV Gt1a (Campione clinico n. 2)	2	24	2,00	1,90	0,10	0,23	0,56	0,65
	3	22	2,00	2,11	0,11	0,27	0,65	0,76
	4	24	2,00	1,96	0,04	0,24	0,52	0,68
HCV Gt3a (Campione clinico n. 3)	1	24	1,65	1,52	0,13	0,27	0,66	0,75
	2	23	1,65	1,58	0,07	0,29	0,66	0,83
	3	23	1,65	1,64	0,02	0,25	0,52	0,71

- a. TAE calcolato secondo il modello Westgard in cui $[(\text{Bias}) + (2 \times \text{DS})] \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$, verificando che vi sia una probabilità del 95% che la misurazione sia inferiore a $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ dal valore effettivo.
- b. Metodo con due misurazioni in cui $[(2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{DS})] \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ indica che una differenza inferiore a $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ può essere spiegata da un errore di misura casuale

18.3 Intervallo lineare e inclusività

È stata determinata la linearità del saggio HCV VL FS per i genotipi HCV da 1 a 6 utilizzando pannelli di campioni preparati aggiungendo campioni di analisi cliniche positivi all'HCV o Armored RNA in sangue intero umano EDTA negativo. Le concentrazioni di campioni di analisi cliniche e Armored RNA sono state determinate utilizzando test con marchio CE degli acidi nucleici con quantificazione dell'RNA dell'HCV. Ciascun elemento del pannello è stato analizzato in replicati di sei, tranne il livello più basso di ciascuno (50 IU/ml) che è stato analizzato in replicati di dodici. I genotipi HCV 1 e 3 sono stati analizzati utilizzando due lotti di reagenti mentre gli altri genotipi HCV (2, 4, 5 e 6) sono stati analizzati utilizzando un lotto di reagenti.

La linearità è stata dimostrata per tutti i genotipi secondo la linea guida CLSI EP06-A.¹³ I risultati per i genotipi HCV da 1 a 6 sono mostrati nella Figura 5, con i risultati combinati mostrati per i genotipi HCV 1 e 3.

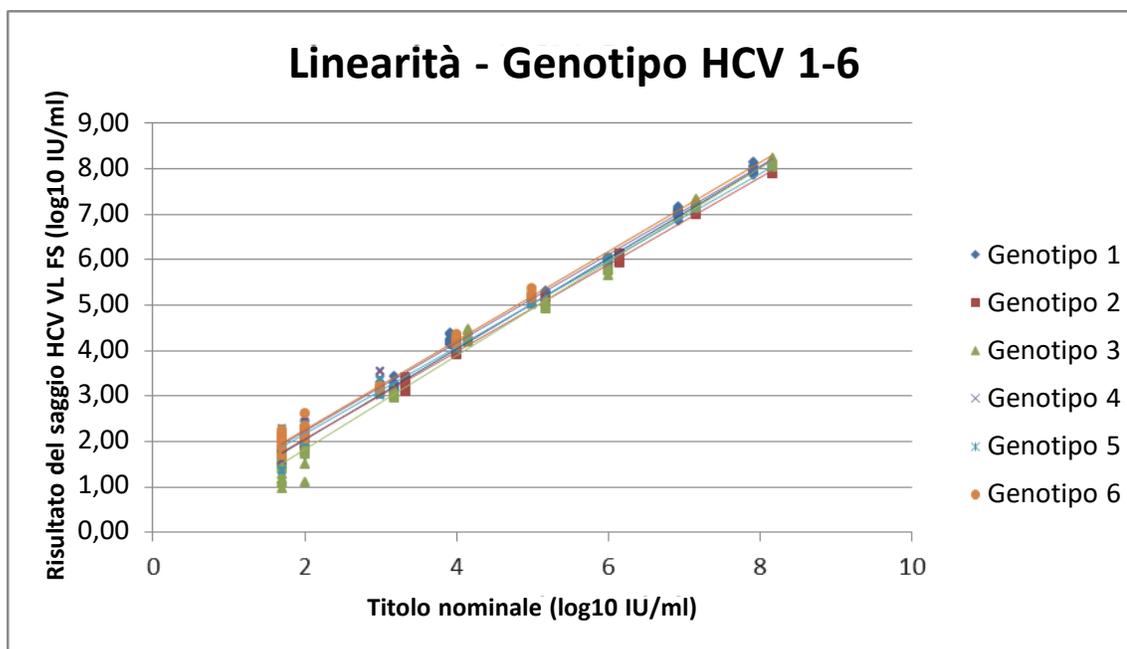


Figura 5. Linearità del saggio Xpert HCV VL FS

Il saggio HCV VL FS è lineare in un intervallo di 100 - 1 x 10⁸ IU/ml con un R² > 0,99 per i genotipi HCV da 1 a 3 e nell'intervallo dinamico analizzato per i genotipi HCV da 4 a 6 con un R² > 0,98 (Tabella 4).

Tabella 4. Regressione lineare del saggio Xpert HCV VL FS con intervallo di titoli analizzati per genotipo

Genotipo	Equazione di regressione lineare	R ²	Intervallo di titoli analizzati log ₁₀ IU/ml
1	$y = 0,9975x + 0,0603$	0,995	1,70–8,00
2	$y = 0,9564x + 0,1547$	0,997	1,70–8,00
3	$y = 1,0312x + 0,2348$	0,993	1,70–8,00
4	$y = 0,9683x + 0,3056$	0,986	1,70–5,00
5	$y = 0,9553x + 0,2645$	0,990	1,70–6,00
6	$y = 0,9798x + 0,2995$	0,989	1,70–5,00

18.4 Precisione/riproducibilità

La precisione/riproducibilità del saggio HCV VL FS è stata valutata in sangue intero EDTA utilizzando un'analisi di varianza (ANOVA) per stimare la varianza totale.

Lo studio era multicentrico (3 siti, 2 esterni e 1 interno) in cieco per stimare i principali componenti della varianza del saggio HCV VL FS usando un pannello di otto elementi composto da sette elementi HCV positivi e un campione di sangue intero con EDTA HCV negativo. Sono stati preparati elementi con basso titolo utilizzando un campione di genotipo 1 dell'HCV ben caratterizzato mentre gli elementi con titolo più elevato sono stati preparati usando uno stock di Armored RNA-HCV genotipo 1. In ciascuno dei tre centri di studio, due operatori, uno con precedente esperienza di PCR e uno senza, hanno analizzato un pannello in triplicato due volte al giorno (equivalente a dodici replicati al giorno) in sei giorni di test. Sono stati utilizzati tre lotti del saggio HCV VL FS, rappresentanti ciascuno due giornate di analisi. Sono stati analizzati un totale di 216 replicati di ciascun elemento del pannello. La precisione e la riproducibilità sono state valutate in conformità con CLSI EP5-A31¹⁴ e CLSI EP15-A32.¹⁵

La precisione e riproducibilità del saggio HCV VL FS sono state valutate utilizzando l'analisi nested ANOVA con termini per Sito/Strumento, Lotto, Giorno, Operatore/Sessione ed Entro la sessione. Sono state calcolate la deviazione standard e la percentuale di variabilità dovuta a ciascun componente delle concentrazioni trasformate del log₁₀ HCV come mostrato nella Tabella 5.

Tabella 5. Precisione/Riproducibilità del saggio Xpert HCV VL FS

Concentrazione di HCV-RNA (log ₁₀ IU/ml)			DS del contributo alla varianza totale (CV%)										Precisione totale	
			Sito/Strum		Lotto		Giorno		Operatore/ sessione		Entro la sessione			
Attesa	Effettivo	N	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	CV ^b
8,00	7,73	216	0,09	30,2	0,06	16,5	<0,01	<0,1	0,04	7,2	0,11	46,1	0,15	36,8
7,00	6,77	216	0,08	36,8	0,05	15,5	0,04	8,7	0,03	5,1	0,08	33,9	0,14	32,8
5,70	5,68	216	<0,01	<0,1	0,06	27,0	0,02	5,3	0,01	0,7	0,09	66,9	0,11	25,1
4,00	3,88	216	0,09	35,9	0,04	5,9	<0,01	<0,1	0,01	0,8	0,11	57,3	0,15	35,1
3,00	3,00	213 ^c	0,04	11,8	<0,01	<0,1	0,02	3,5	0,01	1,0	0,10	83,7	0,11	26,4
2,00	1,97	216	0,03	2,2	<0,01	<0,1	0,03	2,5	<0,01	<0,1	0,20	95,3	0,20	49,2

- a. (%) è il contributo del componente varianza rispetto alla varianza complessiva.
 b. "CV" è il coefficiente di variazione lognormale, ottenuto mediante la formula: $CV(\%) \text{ Lognormale} = \sqrt{10^{[DS^2 * \ln(10)]} - 1} * 100$
 CV(%) = coefficiente percentuale di variazione; DS = deviazione standard; sqrt = radice quadrata
 c. Sono esclusi tre campioni di cui uno come **ERRORE (ERROR)**, uno come **NON VALIDO (INVALID)** e il terzo come **HCV NON RILEVATO (HCV NOT DETECTED)**.

La Tabella 6 mostra la percentuale di concordanza positiva (PPA) e la percentuale di concordanza negativa (NPA) per un elemento del pannello che ha come bersaglio una concentrazione di HCV-RNA inferiore al limite di quantificazione (cioè 1,60 log₁₀ IU/ml o 40 IU/ml) e un elemento del pannello di sangue intero con EDTA HCV negativo.

Tabella 6. Percentuale di concordanza positiva e negativa per l'elemento del pannello al di sotto del limite di quantificazione

Concentrazione di RNA dell'HCV attesa	Numero di test con risultati validi	Risultati positivi	Risultati negativi	Percentuale di concordanza positiva ^a	Percentuale di concordanza negativa ^b	IC al 95% ^c
1,60 Log ₁₀ IU/ml	215	214	1	99,5		(97,4, 99,9)
Negativo	216	1	215		99,5	(97,4, 99,9)

- a. Percentuale di concordanza positiva = (numero di risultati positivi / numero totale di test validi nell'elemento del pannello positivo) × 100
 b. Percentuale di concordanza negativa = (numero di risultati negativi / numero totale di test validi nell'elemento del pannello negativo) × 100
 c. Intervallo di confidenza calcolato utilizzando il metodo Wilson-Score

18.5 Specificità analitica (esclusività)

La specificità analitica del saggio HCV VL FS è stata valutata aggiungendo organismi potenzialmente cross-reattivi a una concentrazione di input pari a 1×10^5 CFU/ml, copie/ml o TCID₅₀/ml in sangue intero EDTA HCV negativo e in sangue intero EDTA contenente 300 IU/ml di materiale HCV di riferimento (HCV genotipo 1b calibrato rispetto al 4° standard internazionale OMS, NIBSC codice 06/102)⁶. Gli organismi analizzati sono elencati nella Tabella 7. Nessuno degli organismi analizzati ha mostrato reattività crociata o interferito con la quantificazione del saggio HCV VL FS.

Tabella 7. Organismi di specificità analitica

Virus		Batteri	Lievito
Virus Banzi	Papilloma virus umano 16	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Polioma virus umano BK	Papilloma virus umano 18	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Cytomegalovirus	Virus T-linfotropico umano tipo 1 e 2		
Virus Dengue	Virus dell'encefalite di St. Louis		
Virus di Epstein-Barr	Virus della varicella Zoster		
Virus dell'epatite A	Virus del vaccino		
Virus dell'epatite B	Virus Ilheus		
Virus dell'herpes simplex 1	Virus del Nilo occidentale		
Virus dell'herpes simplex 2	Virus della febbre gialla		
Virus dell'herpes umano 6	Virus Zika		
Virus dell'herpes umano 8			
Virus dell'immunodeficienza umana 1			
Virus dell'immunodeficienza umana 2			

18.6 Sostanze potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del saggio HCV VL FS alle interferenze da parte di livelli elevati di sostanze endogene, di marcatori di malattia autoimmune e di farmaci prescritti ai pazienti infetti da HCV. Sono stati valutati gli effetti inibitori sia in presenza sia in assenza di 300 IU/ml di materiale di riferimento dell'HCV-RNA (HCV genotipo 1b, calibrato rispetto al 4° standard internazionale dell'OMS, codice NIBSC 06/102)⁶.

La presenza di livelli elevati delle sostanze endogene elencate nella Tabella 8 ha dimostrato di non interferire con la quantificazione del saggio HCV VL FS e di non influire sulla sua specificità.

Tabella 8. Sostanze endogene e concentrazione analizzata

Sostanza	Concentrazione
Albumina	9 g/dl
Bilirubina	20 mg/dl
Emoglobina	500 mg/dl
DNA umano	0,4 mg/dl
Trigliceridi	3000 mg/dl

I componenti dei farmaci elencati nella Tabella 9, analizzati a tre volte la concentrazione di picco in cinque pool di farmaci, hanno dimostrato di non interferire con la quantificazione del saggio HCV VL FS e di non influire sulla sua specificità.

Tabella 9. Pool di farmaci analizzati

Pool	Farmaci
1	Zidovudina, Abacavir solfato, Saquinavir, Ritonavir, Interferone alfa-2b, Ombitasvir, Paritaprevir, Dasabuvir
2	Fosamprenavir, Ribavirina, Ledipsavir, Sofosbuvir, Daclatasvir, Simeprevir, Peginterferone alfa-2a, Peginterferone alfa-2b
3	Tenofovir disoproxil fumarato, Lamivudina, Indinavir solfato, Ganciclovir, Aciclovir, Valganciclovir HCl
4	Stavudina, Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacina, Claritromicina, Maraviroc
5	Nevirapina, Nelfinavir, Azitromicina, Valaciclovir

Test di campioni provenienti da dodici individui affetti da patologie autoimmuni risultati positivi al lupus eritematoso sistemico (SLE), di cui sette erano anche positivi all'anticorpo anti-nucleare (ANA) e test di campioni di otto individui positivi al fattore reumatoide (RF) non hanno mostrato alcuna interferenza con la quantificazione o la specificità del saggio HCV VL FS.

18.7 Sensibilità alla sierconversione

La sensibilità del saggio HCV VL FS è stata valutata analizzando campioni sequenziali di plasma provenienti da dieci pannelli di sierconversione. Poiché il saggio HCV VL FS usa sangue intero EDTA come tipo di campione di analisi, ciascun campione di plasma è stato diluito in sangue intero EDTA prima del test (diluizione 1:3). Il saggio HCV VL FS ha rilevato HCV-RNA in 53 su 59 campioni di analisi rispetto a 22 su 59 campioni rilevati da almeno uno dei test degli anticorpi anti HCV (Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho® Ver. 3.0 ELISA HCV Ab, sistema di analisi ELISA Ortho HCV 3.0 con Enhanced SAve, Ortho Vitros Eci, Siemens ADIVA Centaur). Un risultato positivo dell'analisi HCV è stato generato più rapidamente con il saggio HCV VL FS in tutti e dieci i pannelli rispetto allo screening degli anticorpi anti-HCV. La sensibilità alla sierconversione è indicata nella Tabella 10.

Tabella 10. Sensibilità di sierconversione del saggio HCV VL FS

Pannello n.	Numero di campioni di analisi nel pannello	Durata in giorni	Numero di elementi del pannello reattivi		Giorni fino al primo Risultato reattivo		Titolo al primo risultato reattivo con HCV VL FS (IU/ml) ^a	Giorni tra il primo risultato reattivo con Xpert e qualsiasi test Ab
			HCV VL FS	Analisi degli anticorpi ^b	HCV VL FS	Analisi degli anticorpi ^b		
PHV913	4	9	4	2	0 ^c	7	1,18E+03	7
PHV915	4	14	4	2	0 ^c	12	5,10E+01	12
PHV920M	10	35	10	9	0 ^c	7	1,19E+06	7
PHV922	6	17	6	5	0 ^c	3	1,57E+06	3
PHV924	6	88	6	3	0 ^c	59	3,81E+06	59
PHV925	5	27	5	1	0 ^c	27	1,33E+06	27
PHV926	5	14	5	1	0 ^c	14	1,13E+05	14
PHV927	5	17	4	0	4	17 ^d	6,66E+02	13
PHV928	9	50	7	0	29	50 ^d	5,40E+01	21
PHV929	6	22	3	0	14	22 ^d	2,36E+03	8

- Il titolo da dati grezzi è stato moltiplicato per un fattore di tre (3) per compensare la diluizione nel sangue intero.
- Analisi degli anticorpi basata sui dati del fornitore Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho Versione 3.0 ELISA HCV Ab, Ortho HCV 3.0 ELISA con sistema di analisi Enhanced SAve, Ortho Vitros ECI, Siemens ADIDA Centaur.
- Tutti i sanguinamenti sono stati rilevati con il saggio HCV VL FS.
- Tutti i sanguinamenti sono risultati non reattivi per gli anticorpi anti HCV (basata sulle informazioni del fornitore). L'ultimo giorno di sanguinamento viene utilizzato per determinare i "Giorni fino al primo risultato reattivo".

19 Caratteristiche prestazionali – Prestazioni cliniche

19.1 Specificità nei donatori di sangue sani normali

La specificità del saggio Xpert HCV VL FS è stata valutata utilizzando 500 campioni di sangue intero in EDTA provenienti da donatori di sangue negativi per HCV. L'RNA dell'HCV non è stato rilevato in nessuno dei 500 campioni analizzati dal saggio Xpert HCV VL FS dimostrando una specificità del 100% (IC al 95% = 99,2-100). Il tasso di risultati indeterminati per il saggio Xpert HCV VL FS in normali donatori di sangue umano è stato pari all'1,0% (5/505).

19.2 Prestazioni cliniche

È stato condotto uno studio multicentrico per valutare le prestazioni del saggio Xpert HCV VL FS con campioni di sangue intero capillare e venoso provenienti da individui ad alto rischio di infezione da HCV e individui infetti da HCV, rispetto a un metodo comparativo quantitativo dell'HCV-RNA in plasma EDTA.

Dei 930 soggetti idonei, 621 (66,8%) erano di sesso maschile e 309 (33,2%) erano di sesso femminile. L'età media era di $48,8 \pm 12,6$ anni, con un intervallo di età compreso tra 18 e 84 anni.

Prestazioni in una popolazione ad alto rischio

La sensibilità e la specificità del saggio Xpert HCV VL FS sono state valutate utilizzando campioni di analisi raccolti da individui a rischio di infezione da HCV. La Tabella 11 mostra le prestazioni del saggio Xpert HCV VL FS utilizzando campioni di sangue intero capillare e venoso, rispetto a un metodo comparativo quantitativo dell'HCV-RNA utilizzando plasma EDTA dello stesso campione di analisi. Nella tabella sono indicate, inoltre, le prestazioni del saggio Xpert HCV VL FS utilizzando campioni di sangue intero capillare e venoso rispetto al saggio Xpert HCV VL con plasma EDTA dello stesso campione.

Tabella 11. Confronto delle prestazioni del saggio Xpert HCV VL FS e di due metodi comparativi HCV-RNA in una popolazione ad alto rischio di HCV

	N	TP ^a	FP ^b	TN ^c	FN ^d	Sensibilità (%)	IC al 95% di sensibilità (%)	Specificità (%)	IC al 95% di specificità (%)
Capillare HCV VL FS e comparativo (Plasma)	339	54	0	283	2	96,4	87,9 – 99,0	100	98,7–100
Venoso HCV VL FS e comparativo (Plasma)	352	55	0	295	2	96,5	88,1 – 99,0	100	98,7–100
Capillare HCV VL FS e HCV VL (Plasma)	339	54	0	278	7	88,5	78,2 – 94,3	100	98,6–100
Venoso HCV VL FS e HCV VL (Plasma)	352	55	0	290	7	88,7	78,5 – 94,4	100	98,7–100

- a. Vero positivo
- b. Falso positivo
- c. Vero negativo
- d. Falso negativo

Correlazione metodologica

Dei campioni di analisi di 930 soggetti totali, 881 hanno avuto risultati di test validi per il saggio Xpert HCV VL FS utilizzando il sangue intero capillare e il metodo comparativo dell'HCV-RNA con una concordanza complessiva del 97,8% (862/881).

429 degli 881 campioni di analisi erano compresi nell'intervallo di quantificazione di entrambi i saggi. Il risultato dell'analisi di regressione di Deming è mostrato di seguito nella Figura 6.

885 campioni di analisi dei 930 soggetti totali hanno ottenuto risultati di analisi validi per il saggio Xpert HCV VL FS utilizzando sangue intero capillare e il saggio Xpert HCV VL utilizzando plasma EDTA con una concordanza complessiva del 97,4% (862/885). 433 degli 885 campioni di analisi erano compresi nell'intervallo di quantificazione di entrambi i saggi. Il risultato dell'analisi di regressione di Deming è mostrato di seguito nella Figura 8.

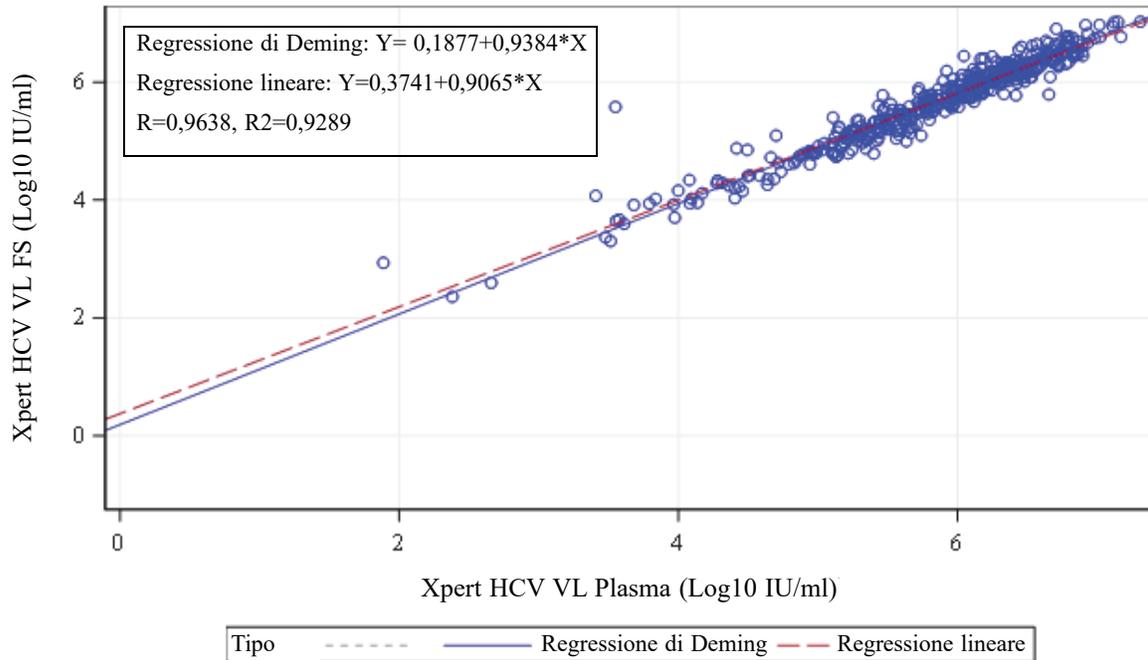


Figura 8. Confronto del saggio Xpert HCV VL FS (sangue intero capillare) e Xpert HCV VL (plasma EDTA)

927 campioni di analisi dei 930 soggetti totali hanno ottenuto risultati di analisi validi per il saggio Xpert HCV VL FS utilizzando sangue intero venoso e il saggio Xpert HCV VL utilizzando plasma EDTA con una concordanza complessiva del 97,6% (905/927). 453 dei 927 campioni di analisi erano compresi nell'intervallo di quantificazione di entrambi i saggi. Il risultato dell'analisi di regressione di Deming è mostrato di seguito nella Figura 9.

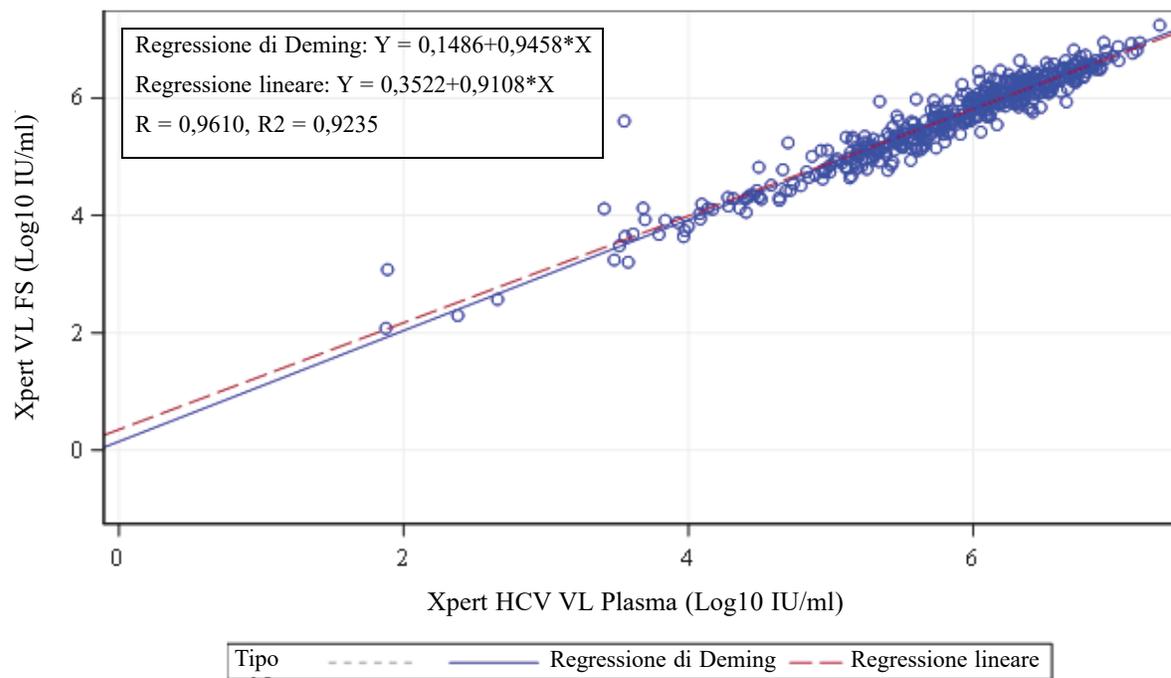


Figura 9. Confronto del saggio Xpert HCV VL FS (sangue intero venoso) e del saggio Xpert HCV VL (plasma EDTA)

20 Riferimenti bibliografici

1. Di Bisceglie AM. *Natural history of Hepatitis C: its impact on clinical management*. Hepatology 2000; 31:1014-1018.
2. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
3. Hepatitis C FAQs for Health Professionals, accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/hcvqaq.htm>.
4. Hepatitis C Fact Sheet No 164 Updated October 2017, accessed March 5, 2018 at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
5. EASL Recommendation on Treatment of Hepatitis C. J. Hepatology 2017; vol. 66:153- 194.
6. The 4th WHO International Standard for Hepatitis C Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 06/102). National Institute for Biological Standards and Control; 2014.
7. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
9. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
10. 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, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 CFR, part 1910, subpart Z).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures*; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.

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 (Service Tag) 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
	Marchio CE - Conformità europea
	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Controllo
	Data di scadenza
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Attenzione
	Rappresentante autorizzato in Svizzera
	Importatore



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



