

Xpert[®] HBV Viral Load

REF GXHBV-VL-CE-10

Istruzioni per l'uso

CE 2797 **IVD**

Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

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.

© 2018-2023 Cepheid.

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.

© 2018-2023 Cepheid.

Xpert[®] HBV Viral Load

Per uso diagnostico *in vitro*

1 Nome registrato

Xpert[®] HBV Viral Load

2 Nome comune o usuale

Xpert HBV VL

3 Destinazione d'uso

Il test Cepheid Xpert[®] HBV Viral Load (VL) è un test di amplificazione degli acidi nucleici *in vitro* progettato per la determinazione quantitativa del DNA del virus dell'epatite B (HBV) nel siero e nel plasma umano (EDTA) da soggetti con infezione cronica da HBV utilizzando i sistemi automatizzati GeneXpert[®].

Il test è previsto per essere utilizzato insieme al quadro clinico e ad altri marcatori di laboratorio come indicatore della prognosi della malattia e per aiutare a determinare la risposta virale al trattamento antivirale, misurata in base alle variazioni dei livelli di DNA dell'HBV nel plasma o nel siero.

Il test non è indicato per l'uso come test dell'HBV nello screening dei donatori, né come test diagnostico per confermare la presenza di infezione da HBV.

4 Riepilogo e spiegazione

Il virus dell'epatite B (HBV) è un piccolo virus con DNA con pericapside della famiglia delle Hepadnaviridae ed è responsabile dell'epatite da HBV cronica e acuta. Il virus è dotato di un piccolo genoma di DNA circolare, in parte a doppia elica e in parte a singola elica, con un diametro di 42 nm. L'HBV contiene numerosi componenti antigenici che comprendono l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), l'antigene core dell'epatite B (HBcAg) e l'antigene "e" dell'epatite B (HBeAg). L'HBV viene trasmesso mediante l'esposizione percutanea o mucosale al sangue o ai fluidi corporei di una persona infetta, da una madre infetta al neonato, attraverso stretti contatti domestici, attraverso trasfusioni di sangue non sottoposto a screening o iniezioni non sicure in ambito sanitario, attraverso l'uso di droghe iniettabili e dal contatto sessuale con una persona infetta.

L'epatite B cronica (CHB) si può presentare come CHB con antigene "e" positivo (HBeAg) o CHB con HBeAg negativo. La sieroprevalenza HBsAg specifica per età varia in modo significativo per regione geografica, con la prevalenza più alta (>5%) nell'Africa sub-sahariana, nell'Asia orientale, in alcune parti delle regioni balcaniche, nelle isole del Pacifico e nel bacino amazzonico del Sud America. In regioni come l'America Latina centrale, il Nord America e l'Europa occidentale si riscontra una prevalenza inferiore al 2%. Complessivamente, quasi la metà della popolazione globale vive in aree ad alta endemicità.¹ La morbilità e la mortalità della CHB sono collegate alla persistenza della replicazione e dell'evoluzione virale in cirrosi e/o carcinoma epatocellulare (HCC).² La mortalità per epatite virale è aumentata nel tempo e continuerà ad aumentare a meno che le persone non ricevano diagnosi e trattamenti.³

Il vaccino contro l'HBV è disponibile per i neonati e ha ridotto considerevolmente il numero di nuove infezioni croniche, ma la copertura è solo del 39%.³ Nel 2015, il 3,5% della popolazione mondiale viveva con infezione cronica da HBV e le aree maggiormente colpite erano le regioni del Pacifico occidentale e africane.³ Solo il 9% delle persone affette da HBV conosceva la propria diagnosi, e delle persone diagnosticate, solo l'8% era sottoposto a trattamento terapeutico.³ Gli analoghi nucleosidici e nucleotidici, come tenofovir ed entecavir, sono raccomandati per coloro che sono idonei alla terapia poiché questi agenti antivirali sono efficaci nel sopprimere la replicazione dell'HBV, prevenendo l'insorgenza della cirrosi e riducendo i decessi correlati a malattie epatiche.¹ La terapia per HBV viene continuata per tutta la vita.¹

5 Principio della procedura

Il test Xpert® HBV VL è un test automatizzato per l'identificazione quantitativa del virus dell'epatite B. Il test viene eseguito sui sistemi di strumentazione Cepheid GeneXpert e GeneXpert Infinity.

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, usando la PCR real time. 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 PCR e ospitano i processi di purificazione e di PCR. Grazie alle cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, 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 test Xpert® HBV VL include reagenti per il rilevamento di DNA dell'HBV in campioni di analisi e anche due controlli interni utilizzati per la quantificazione di DNA dell'HBV. I controlli interni sono utilizzati anche per l'adeguato trattamento del bersaglio e per monitorare la presenza di inibitori nelle reazioni PCR. Il controllo per la verifica della sonda (PCC) verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del colorante.

Il test è standardizzato rispetto al 4° standard internazionale dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) per il DNA dell'HBV per le tecnologie di amplificazione degli acidi nucleici (codice NIBSC: 10/266).⁴

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiali in dotazione

Il kit dei test HBV VL contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi e/o campioni di controllo qualità. Il contenuto del kit è il seguente:

Cartucce HBV VL con provette di reazione integrate	10
<ul style="list-style-type: none"> • Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate) • Reagente di lisi (guanidinio tiocianato) • Reagente di risciacquo • Reagente di eluizione • Reagente legante • Reagente proteinasi-K 	1 di ciascuna per cartuccia 1,7 ml per cartuccia 0,5 ml per cartuccia 1,5 ml per cartuccia 1,5 ml per cartuccia 0,48 ml per cartuccia
Pipette di trasferimento da 1 ml monouso	10 per kit
CD	1 per kit
<ul style="list-style-type: none"> • File di definizione del saggio (ADF) • Istruzioni per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert e Infinity • Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo) 	

Nota Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nei siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com nella scheda **SUPPORTO (SUPPORT)**.

Nota L'albumina di siero bovino (BSA) presente nelle microsfele 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 Xpert® HBV VL a 2-35 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.
- Portare le cartucce a temperatura ambiente prima dell'uso se sono state conservate fredde.

- Non usare le cartucce oltre la data di scadenza.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.

8 Materiali necessari ma non forniti

- Sistema di strumentazione GeneXpert® Dx o sistema di strumentazione 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 adeguato manuale dell'operatore del sistema di strumentazione GeneXpert.
- Stampante: se fosse necessario l'uso di una stampante, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Candeggina o ipoclorito di sodio
- Etanolo denaturato

9 Avvertenze e precauzioni

9.1 Avvertenze di carattere generale

- 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 sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁵ e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁶
- Si consiglia di adottare le buone pratiche di laboratorio che includono il cambio dei guanti tra la manipolazione di un campione di analisi e quello successivo al fine di evitare la contaminazione dei campioni o dei reagenti.
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di appartenenza.
- Non sostituire i reagenti del test Xpert HBV VL con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia del test Xpert HBV VL fino a quando non si è pronti ad aggiungere 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 coprire l'etichetta del codice a barre situata sulla cartuccia.
- Utilizzare una pipetta di trasferimento o una pipetta di precisione per aggiungere il campione alla cartuccia. Non versare il campione direttamente dal dispositivo di raccolta nella cartuccia.
- Ogni cartuccia monouso di Xpert HBV VL serve a eseguire un solo test. Non riutilizzare le cartucce.
- Ogni pipetta monouso viene utilizzata per trasferire un solo campione di analisi. Non riutilizzare le pipette monouso usate.
- 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%. Lasciare 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 del proprio istituto 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.⁷

10 Pericoli chimici^{8,9}

Reagente di lisi (guanidinio tiocianato)

- Parola: 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 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.
 - In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

11 Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

Il sangue intero deve essere raccolto in provette di raccolta con EDTA-K₂, EDTA-PPT o provette di raccolta del siero e centrifugato per separare il plasma/siero dai globuli rossi come da istruzioni del produttore.

- Per il test Xpert HBV VL sono necessari almeno 0,6 ml di plasma o siero. Se si utilizza la pipetta di trasferimento inclusa nel kit, la pipetta deve essere riempita con plasma o siero fino alla quarta tacca (1,0 ml). In alternativa, se si utilizza una pipetta di precisione sono necessari 0,6 ml di plasma o siero. Consultare le istruzioni nella Sezione 12.2, rispettivamente, Opzione 1 e Opzione 2.
- Prima della preparazione del plasma/siero, il sangue intero può essere conservato a 2-35 °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 2-35 °C fino a 24 ore o a 2-8 °C fino a 7 giorni, prima di sottoporli al test.
- I campioni di analisi di plasma e siero congelati (da -80 °C a -20 °C) sono stabili per 6 settimane.
- I campioni di analisi di plasma e siero sono stabili per un massimo di tre cicli di congelamento/scongelo.
- I campioni di analisi di plasma e siero devono essere scongelati e stabilizzati a temperatura ambiente prima del trasferimento alla cartuccia.
- Il trasporto di campioni di analisi di sangue intero, plasma o siero deve soddisfare i requisiti previsti dai regolamenti nazionali, regionali e locali per il trasporto degli agenti eziologici.

12 Procedura

12.1 Preparazione del campione di analisi

Nota Iniziare il test entro 4 ore dall'introduzione del campione nella cartuccia.

1. Dopo la centrifugazione dei campioni di sangue intero, il plasma può essere pipettato direttamente nella cartuccia. Un volume sufficiente è essenziale per ottenere risultati del test validi (vedere le istruzioni nella Sezione 12.2. Preparazione della cartuccia).
2. Se si utilizzano campioni di analisi congelati, prima dell'uso è necessario portarli a temperatura ambiente (20-35 °C) fino al completo scongelamento e alla stabilizzazione a temperatura ambiente.
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 10 secondi prima dell'uso. Se il campione di analisi è torbido, chiarificarlo centrifugandolo rapidamente.

12.2 Preparazione della cartuccia

1. Indossare guanti protettivi monouso.
2. Portare le cartucce a temperatura ambiente prima dell'uso se sono state conservate fredde.
3. Controllare che la cartuccia non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
4. Applicare alla cartuccia un'etichetta con l'identificazione del campione.
5. Aprire il coperchio della cartuccia.
6. Aggiunta del campione nella cartuccia.
 - **Opzione 1:** se si utilizza la pipetta di trasferimento inclusa nel kit (vedere Figura 1), riempire la pipetta fino alla quarta tacca (1,0 ml) o leggermente sopra con plasma o siero dalla provetta di raccolta. Espellere il contenuto della pipetta nella camera della cartuccia riservata al campione (vedere la Figura 2).
 - **Opzione 2:** se si utilizza una pipetta di precisione, trasferire 0,6 ml di plasma o di siero dalla provetta di raccolta nella camera per il campione della cartuccia (vedere Figura 2).

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

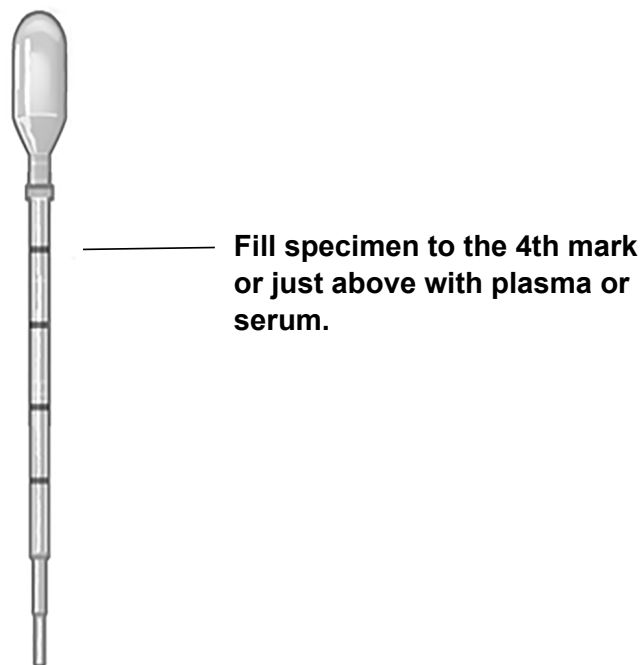


Figura 1. Pipetta di trasferimento del test Xpert HBV VL

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



Figura 2. Cartuccia Xpert HBV VL (vista dall'alto)

12.3 Avvio del test

Importante

Prima di iniziare il test, verificare che il file di definizione del saggio Xpert HBV VL sia stato importato all'interno del 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 il sistema di strumentazione GeneXpert:
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento e poi il computer. Il software GeneXpert Dx si avvia automaticamente; in caso contrario, fare doppio clic sull'icona di collegamento del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
 - oppure
 - Se si utilizza lo strumento GeneXpert Infinity, accenderlo. Il software GeneXpert si avvierà automaticamente, oppure potrebbe essere necessario fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows®.
2. Connettersi al software del sistema di strumentazione GeneXpert usando il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del sistema GeneXpert, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (GeneXpert Dx) oppure fare clic su **Ordini (Orders)** e **Ordina test (Order Test)** (Infinity). Viene visualizzata la finestra **Crea analisi (Create Test)**.
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) viene visualizzato sul lato sinistro della finestra Visualizza risultati (View Results) ed è associato ai risultati del test.
5. Eseguire la scansione dell'ID campione (Sample ID) o digitare l'ID campione (Sample ID). Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID campione (Sample ID) viene visualizzato sul lato sinistro della finestra Visualizza risultati (View Results) ed è associato ai risultati del test.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia del test Xpert HBV VL. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge SN) e Data di scadenza (Expiration Date).

Nota

Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia Xpert HBV VL, ripetere il test con una cartuccia nuova.

7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)** (GeneXpert Dx) o **Inoltra (Submit)** (Infinity). Digitare la password nella finestra di dialogo visualizzata.
8. Per il sistema 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

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 dei rifiuti di campioni di analisi attenendosi alle prassi standard della struttura sanitaria di appartenenza.

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)** della finestra **Visualizza risultati (View Results)** per visualizzare e/o generare un file di rapporto in formato PDF.

14 Controllo qualità

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

- **Adeguatezza del volume del campione (SVA):** serve a garantire che il campione sia stato aggiunto correttamente alla 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, verrà visualizzato l'**Errore 2096 (Error 2096)** se nessun campione è stato aggiunto alla cartuccia o l'**ERRORE 2097 (ERROR 2097)** se una quantità insufficiente di campione è stata aggiunta alla cartuccia. Il sistema impedisce all'utente di riprendere il test.
- **Standard quantitativi interni alti e bassi (IQS-H e IQS-L)** - IQS-H e IQS-L sono due plasmidi linearizzati con una sequenza non correlata all'HBV che sono inclusi in ciascuna cartuccia e vengono sottoposti all'intero processo del test. Questi standard si utilizzano per calcolare la concentrazione di DNA dell'HBV nel campione. Inoltre, i controlli IQS-H e IQS-L rilevano l'inibizione del saggio di PCR real time associato al campione, fungendo quindi come controlli per il trattamento del campione. 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 di kit dispone di LSP integrati, generati da un pannello di calibrazione per HBV, tracciabili in base al 4° standard internazionale dell'OMS per HBV (codice NIBSC: 10/266)⁴, e i controlli IQS-H e IQS-L. I LSP sono unici per ciascun lotto di reagenti e vengono utilizzati per assicurare la corretta quantificazione.
- **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 microsferi, 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, utilizzando i segnali di fluorescenza misurati e gli algoritmi di calcolo integrati, e vengono visualizzati nella finestra Visualizza risultati (View Results) (vedere da Figura 3 a Figura 8). I risultati possibili sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Risultati del test Xpert HBV VL e interpretazione

Risultato	Interpretazione
HBV RILEVATO (HBV DETECTED) IU/ml (log X.XX) Vedere la Figura 3.	Il DNA dell'HBV è stato rilevato a XX IU/ml (log X.XX). <ul style="list-style-type: none"> Il DNA dell'HBV ha un titolo compreso nell'intervallo quantitativo del test (10-1,00E09 IU/ml). IQS-H e IQS-L: AMMESSO (PASS). Verifica della sonda – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HBV RILEVATO >1,00 E09 IU/ml (HBV DETECTED >1,00E09 IU/ml) Vedere la Figura 4.	Il DNA dell'HBV è rilevato al di sopra dell'intervallo quantitativo del test. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS-L: AMMESSO (PASS). Verifica della sonda – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HBV RILEVATO <10 IU/ml (HBV DETECTED < 10 IU/ml) Vedere la Figura 5.	Il DNA dell'HBV è rilevato al di sotto dell'intervallo quantitativo del test. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS-L: AMMESSO (PASS). Verifica della sonda – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
HBV NON RILEVATO (HBV NOT DETECTED) Vedere la Figura 6.	Il DNA dell'HBV non è stato rilevato. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS-L: AMMESSO (PASS). Verifica della sonda – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
NON VALIDO (INVALID) Vedere la Figura 7.	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di DNA dell'HBV. 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); i valori delle soglie del ciclo (Ct) non rientrano nell'intervallo di validità. Verifica della sonda – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.
ERRORE (ERROR) Vedere la Figura 8.	Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di DNA dell'HBV. 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 tutti i risultati della verifica della sonda non sono validi. <p>* Se la verifica della sonda è riuscita, 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)	La presenza o l'assenza di DNA dell'HBV non può essere determinata. 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 test sono soltanto un esempio. Il numero di versione può differire dalle schermate mostrate in queste istruzioni per l'uso.

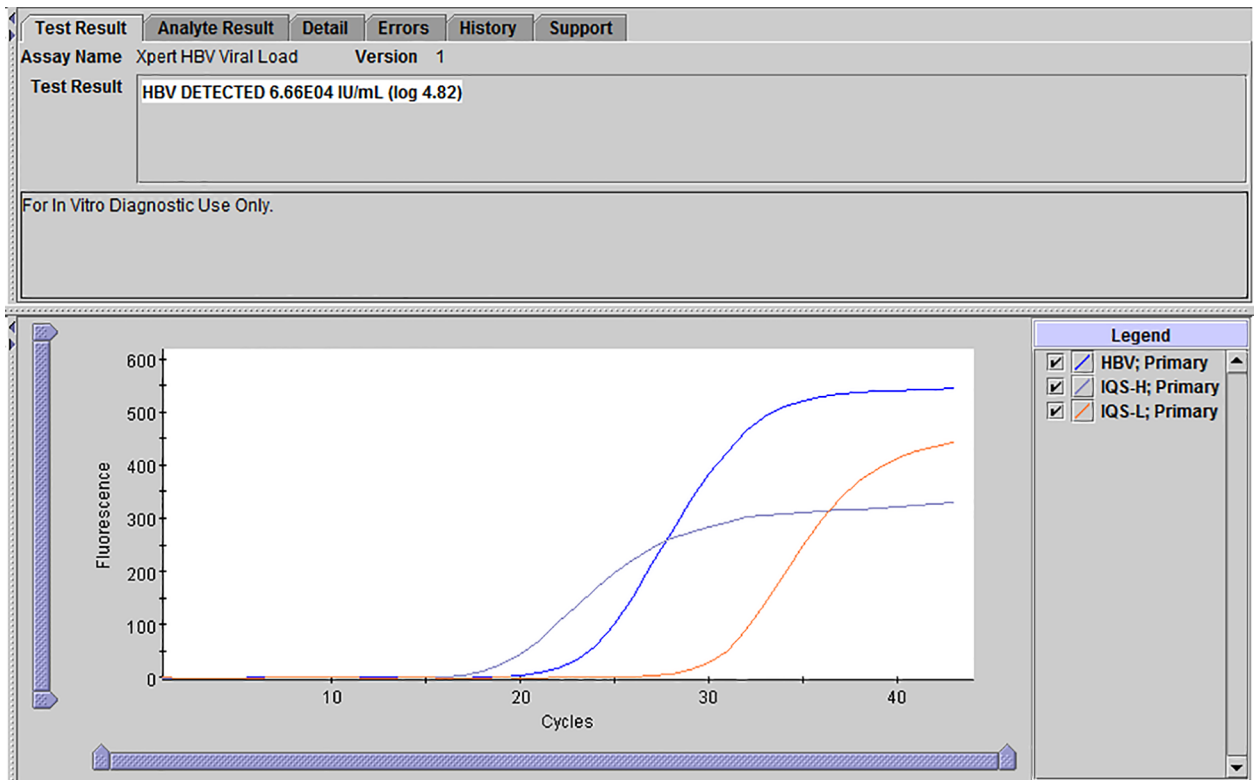


Figura 3. Risultato: HBV rilevato e quantificato

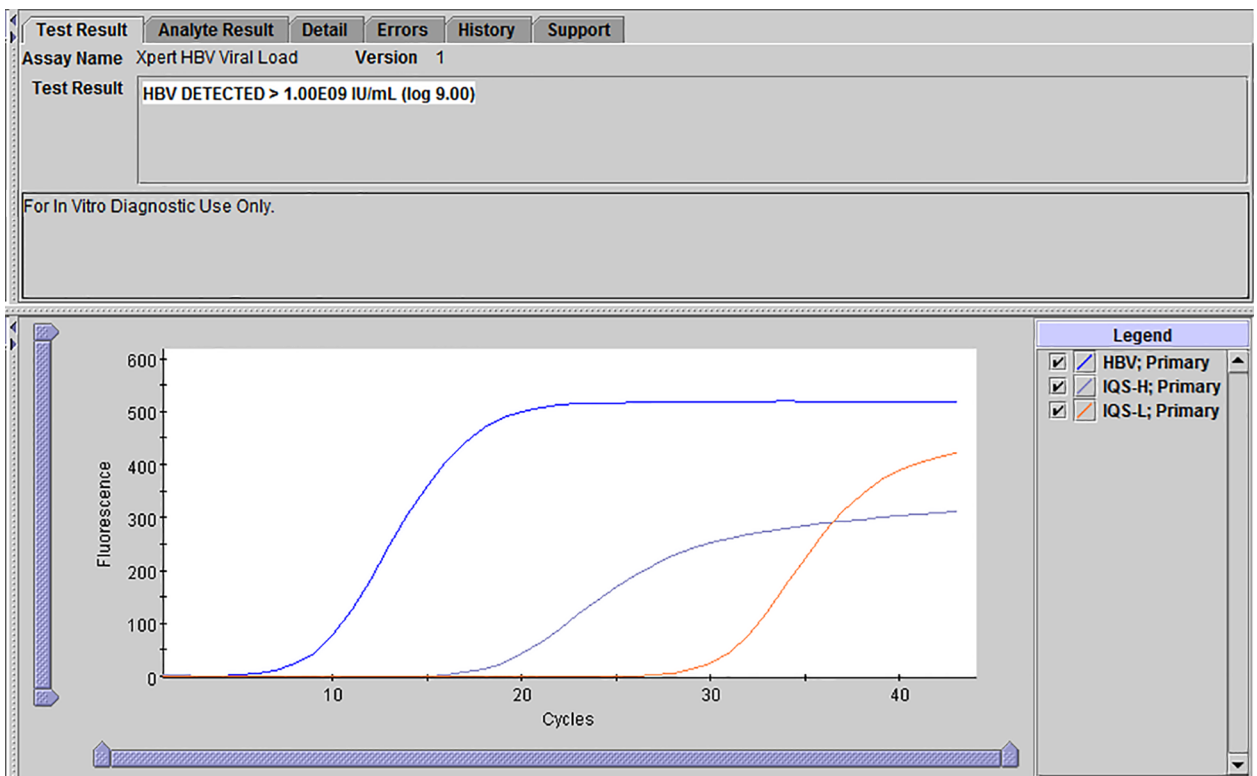


Figura 4. Risultato: HBV rilevato ma con titolo al di sopra dell'intervallo quantitativo del test

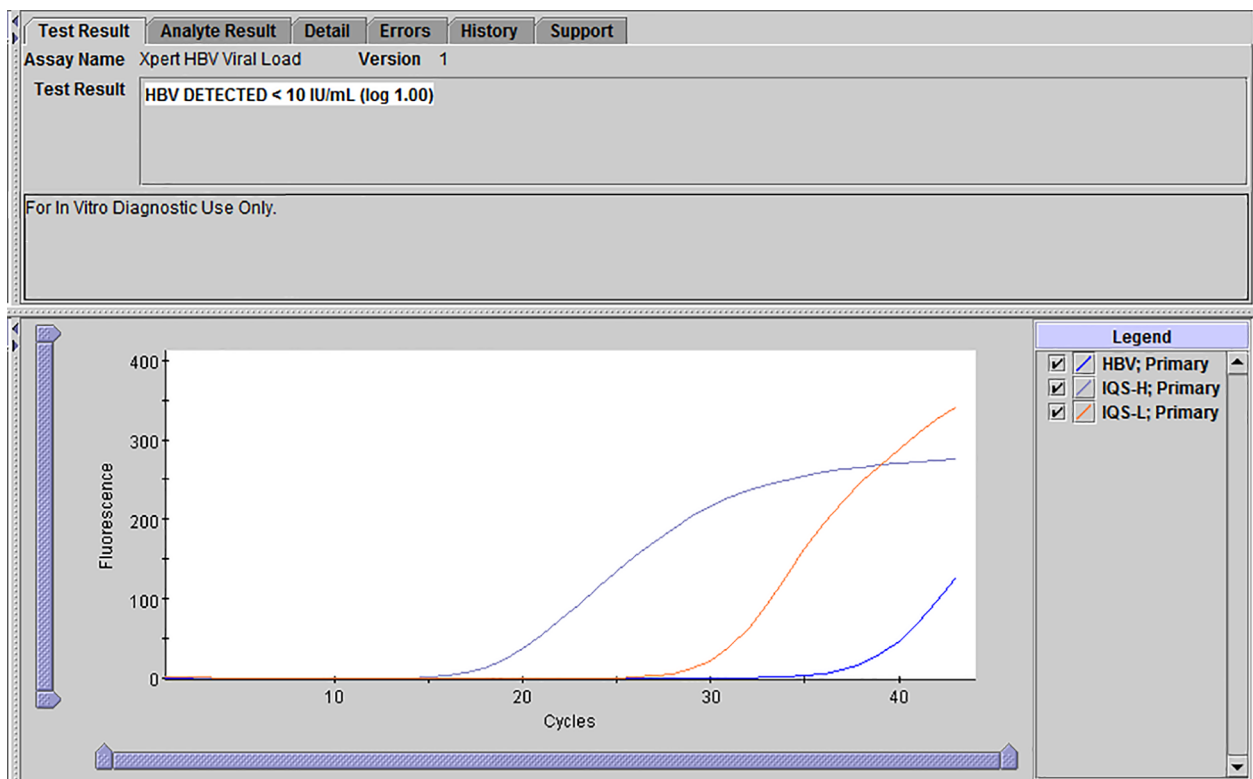


Figura 5. Risultato: HBV rilevato ma con titolo al di sotto dell'intervallo quantitativo del test

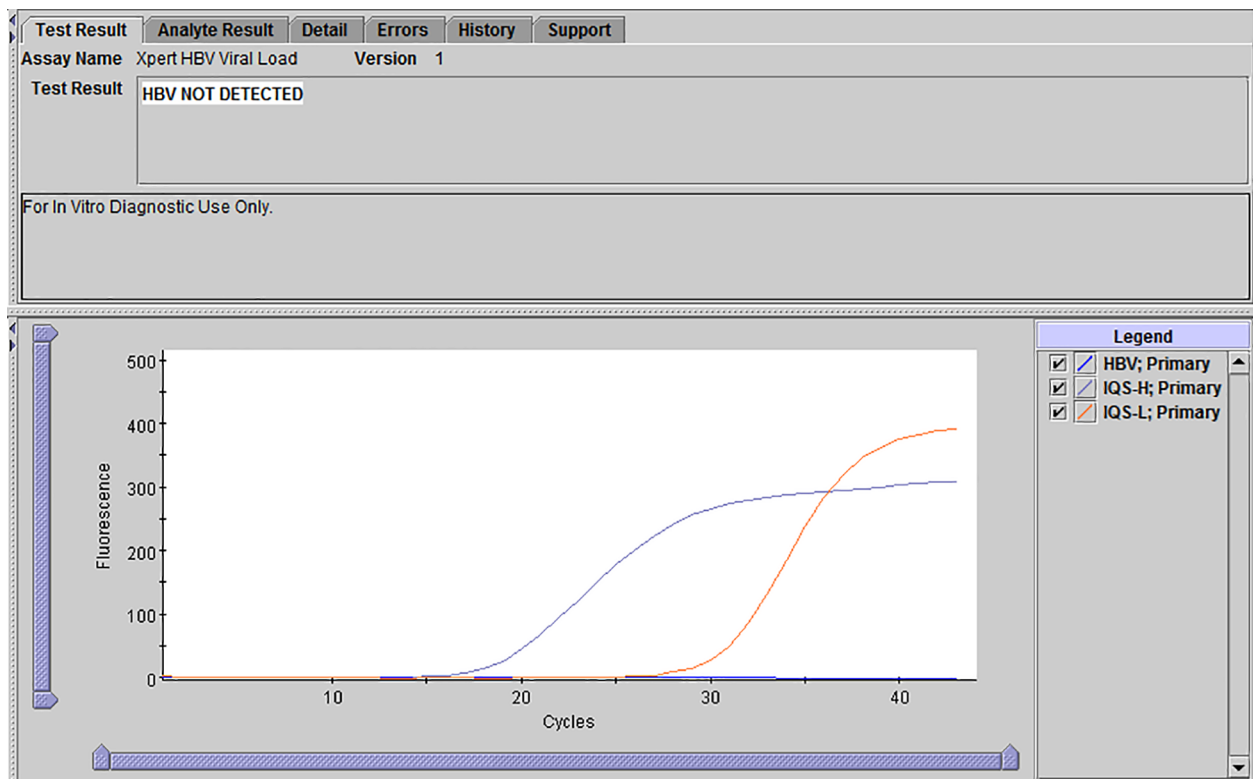


Figura 6. Risultato: HBV non rilevato

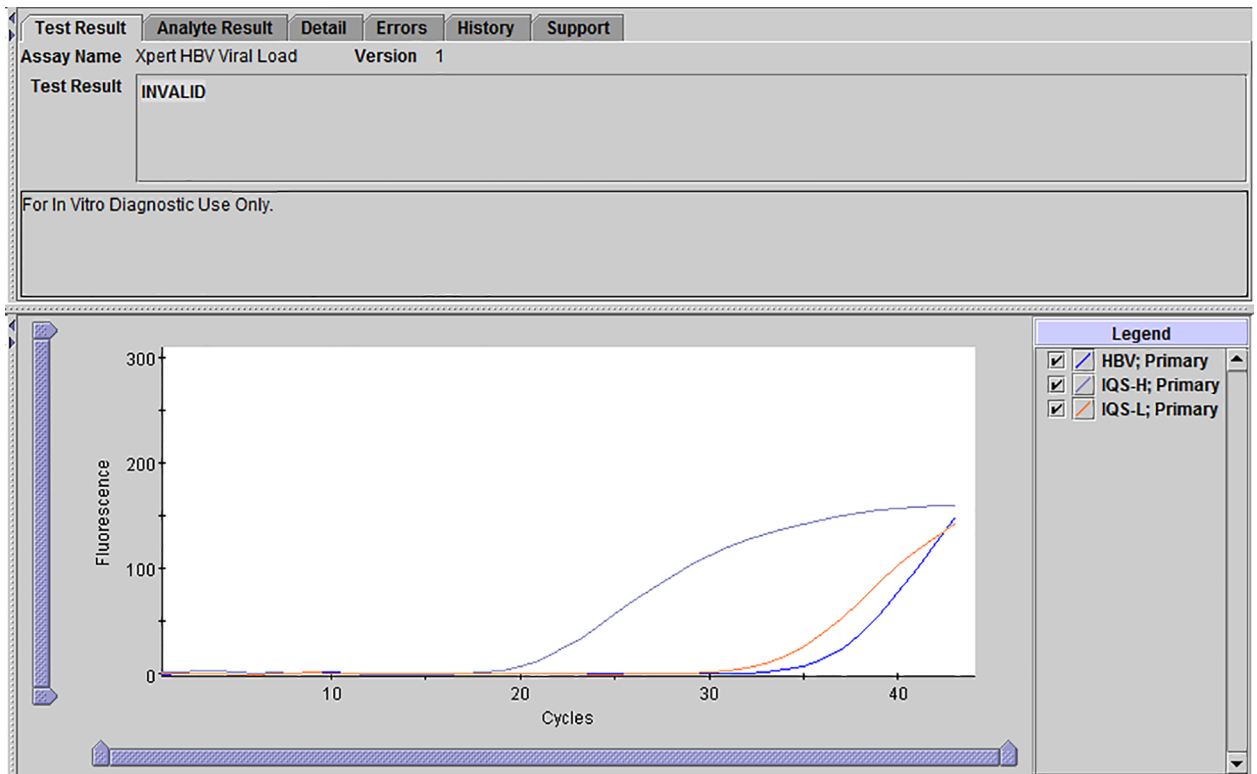


Figura 7. Risultato: Risultato non valido

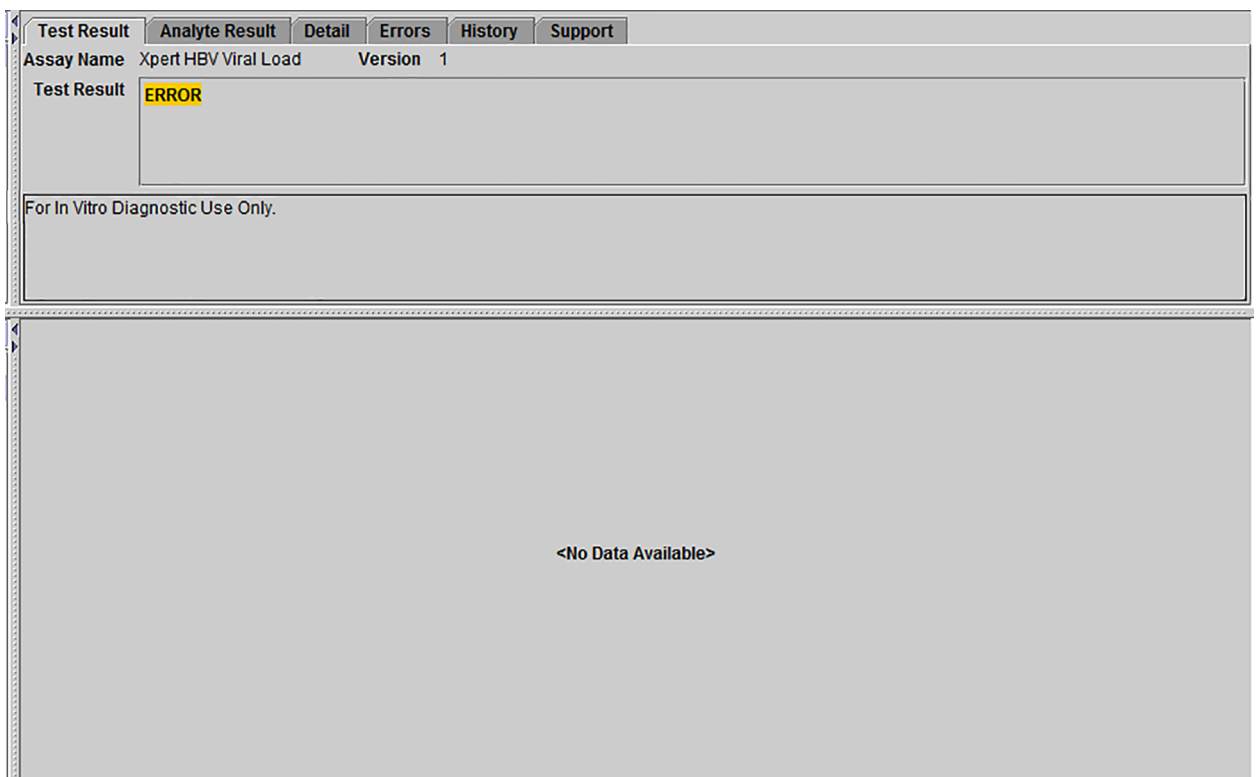


Figura 8. Risultato: Errore

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 valori 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 test è stato interrotto. Le possibili cause includono: 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. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test che era in esecuzione oppure si è verificata un'interruzione di alimentazione.

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 i campioni di analisi interessati (non riutilizzare la cartuccia).

1. Estrarre la nuova cartuccia dal kit.
2. Seguire le procedure indicate nella Sezione 12. Procedura, compresa la Sezione 12.2. Preparazione della cartuccia e Sezione 12.3. Avvio del test.

17 Limitazioni

- 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 di analisi o dei reagenti.
- Mutazioni rare all'interno della regione bersaglio del test Xpert HBV VL possono influenzare il legame con il primer e/o la sonda, con conseguente sottoquantificazione o mancato rilevamento del virus.
- Questo test è stato convalidato soltanto per l'uso con siero e plasma EDTA. I test con altri tipi di campioni possono dar luogo a risultati non accurati.
- Un risultato negativo del test non esclude l'infezione da HBV. Pertanto, il test Xpert HBV VL non deve essere utilizzato come un test diagnostico per confermare la presenza di infezione da HBV.

18 Caratteristiche prestazionali

18.1 Limite di rilevamento

Il limite di rilevamento (LOD) del saggio HBV VL è stato determinato per il genotipo A dell'HBV testando le diluizioni seriali del 4° Standard Internazionale dell'OMS per il DNA dell'HBV (codice NIBSC 10/266)⁴ diluito in plasma e siero EDTA negativi all'HBV. I pannelli di sei livelli di concentrazione e uno negativo sono stati testati utilizzando, rispettivamente, quattro o tre lotti di reagenti per i pannelli di plasma e siero EDTA. Ciascun elemento del pannello è stato testato per tre giorni con 24 replicati per lotto di reagenti. In totale sono stati testati 96 replicati per elemento del pannello del plasma e 72 replicati per elemento del pannello del siero.

I risultati per plasma e siero EDTA sono mostrati nella Tabella 2. Lo studio ha dimostrato che il saggio HBV VL ha rilevato il DNA dell'HBV secondo lo Standard internazionale dell'OMS a una concentrazione di 3,20 IU/ml nel plasma EDTA e una concentrazione di 5,99 IU/ml nel siero con un tasso di positività del 95% come determinato mediante regressione PROBIT.

Tabella 2. Limite di rilevamento del saggio Xpert HBV VL con il 4° Standard internazionale dell'OMS per HBV

Genotipo	Matrice	Concentrazione nominale di HBV (IU/ml)	Numero di replicati validi	Numero di positivi	Tasso di positività (%)	LOD del 95% mediante PROBIT (intervallo di confidenza al 95%)
A	Plasma	10	95	95	100	3,20 IU/ml (2,79 – 3,60 IU/ml)
		5	96	94	98	
		2,5	96	82	85	
		1,25	96	62	65	
		0,625	96	41	43	
		0	96	0	0	
A	Siero	10	72	70	97	5,99 IU/ml (5,13 – 6,86 IU/ml)
		5	72	63	88	
		2,5	72	58	81	
		1,25	72	37	51	
		0,625	71	15	21	
		0	72	0	0	

Il limite di rilevamento per i genotipi HBV da B a H è stato determinato analizzando pannelli di sei o sette elementi preparati inoculando campioni di analisi positivi all'HBV, che rappresentano ciascun genotipo (genotipi da B a G del pannello di riferimento internazionale dell'OMS, codice PEI: 5086/08 e un campione di analisi clinico del genotipo H) nel plasma EDTA negativo all'HBV. Ciascun elemento del pannello è stato testato per tre giorni utilizzando tre lotti di reagenti per un totale di 24 replicati per elemento. I risultati sono presentati nella Tabella 3.

Tabella 3. Limite di rilevamento per i genotipi HBV da B a H in plasma EDTA

Genotipo	LOD del 95% mediante PROBIT (IU/ml)	Intervallo di confidenza al 95% (IU/ml)
B	1,34	0,98 – 1,69
C	1,63	1,23 – 2,03
D	3,96	3,01 – 4,92
E	3,77	2,76 – 4,78
F	2,39	1,82 – 2,96
G	1,21	0,95 – 1,47
H	3,84	2,91 – 4,77

Il limite di rilevamento per i genotipi HBV da B a H è stato verificato nel siero in conformità alla linea guida CLSI EP17-A2¹⁰ utilizzando 24 replicati. Una concentrazione più elevata è stata analizzata se non è stato raggiunto il tasso di positività di >85%. Vedere Tabella 4 per i risultati.

Tabella 4. Verifica dell'LOD per i genotipi da B a H nel siero

Genotipo	Concentrazione nominale di HBV (IU/ml)	Tasso di positività (%)
B	1,34	88
C	3,25	96
D	3,96	96

Genotipo	Concentrazione nominale di HBV (IU/ml)	Tasso di positività (%)
E	3,77	96
F	2,39	92
G	1,21	88
H	3,84	100

Le prestazioni del saggio HBV VL sono state anche valutate con un mutante pre-core analizzando un campione di analisi clinico di HBV sequenziato comprendente le due mutazioni pre-core (C1858T e G1896A) e le due mutazioni del promotore core basale (A1762T e G1764A), diluito a una concentrazione di 10 IU/ml in plasma e siero EDTA con un lotto di reagenti. È stato raggiunto un tasso di positività del 100% per ciascuno dei 24 replicati testati in ciascuna matrice.

18.2 Limite inferiore di quantificazione (LLOQ)

Per limite inferiore di quantificazione (LLOQ) si intende la concentrazione più bassa di DNA dell'HBV 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 indipendenti, che rappresentano i genotipi HBV da A a D, nel plasma EDTA vicini al limite di rilevamento del test. Ciascun campione è stato analizzato utilizzando quattro lotti di reagenti con 8-24 replicati per lotto. Il TAE è stato stimato con il modello Westgard secondo la linea guida CLSI EP17-A2¹⁰ con il criterio, $[(\text{Bias assoluto}) + 2 \text{ DS}] \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$. La differenza con 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 5.

Tabella 5. Determinazione dell'LLOQ per il test Xpert HBV VL

Genotipo dell'HBV	Lotto	N	Concentrazione di HBV (\log_{10} IU/ml)		Bias	DS totale	Errore analitico totale ^a	Approccio delle due misurazioni ^b
			Attesa	Osservata				
A	1	24	1,00	1,02	0,02	0,20	0,42	0,57
	2	24	1,00	1,05	0,05	0,16	0,37	0,45
	3	24	1,00	0,94	-0,06	0,20	0,46	0,57
	4	23	1,00	1,02	0,02	0,14	0,30	0,40
B	1	16	1,00	1,18	0,18	0,11	0,39	0,30
	2	24	1,00	1,18	0,18	0,17	0,53	0,49
	3	8	1,00	1,17	0,17	0,19	0,54	0,53
	4	8	1,00	1,25	0,25	0,19	0,64	0,55
C	1	16	1,00	1,10	0,10	0,17	0,44	0,47
	2	24	1,00	1,11	0,11	0,22	0,55	0,61
	3	8	1,00	0,83	-0,17	0,24	0,65	0,68
	4	8	1,00	1,01	0,01	0,18	0,36	0,50
D	1	16	1,00	0,81	-0,19	0,28	0,74	0,78
	2	24	1,00	0,79	-0,21	0,27	0,75	0,76
	3	8	1,00	0,83	-0,14	0,14	0,42	0,39
	4	8	1,00	0,91	-0,09	0,11	0,31	0,32

^a (TAE) calcolato secondo il modello Westgard in cui $[\text{TAE} = |\text{Bias}| + (2 \times \text{DS})] \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$, verificando che vi sia una probabilità del 95% che la misurazione sia inferiore a $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ dal valore effettivo.

^b L'approccio delle 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} IU/ml può essere spiegata da un errore casuale nella misurazione.

I risultati dimostrano che il test Xpert HBV VL può quantificare 10 IU/ml di DNA dell'HBV con esattezza e precisione accettabili.

18.3 Precisione/riproducibilità

La precisione/riproducibilità del test Xpert HBV VL è stata valutata nel plasma EDTA-K₂ 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 test Xpert HBV VL usando un pannello di otto elementi composto da otto elementi HBV positivi. Gli elementi positivi all'HBV sono stati preparati diluendo un plasmide HBV ben caratterizzato o un campione di analisi clinico positivo all'HBV nel plasma EDTA umano. In ciascuno dei tre centri di studio, due operatori, uno con precedente esperienza di PCR e uno senza, hanno analizzato un pannello in duplicato due volte al giorno (equivalente a otto replicati al giorno) in sei giorni di test per un totale di 144 replicati per elemento del pannello. Sono stati utilizzati tre lotti del test Xpert HBV VL, rappresentanti ciascuno due giorni di analisi. La precisione e la riproducibilità sono state valutate in conformità con le linee guida CLSI EP05-A3¹¹ e CLSI EP15-A3.¹²

La precisione e la riproducibilità del test Xpert HBV VL 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 \log_{10} HBV come mostrato nella Tabella 6.

Tabella 6. Precisione/Riproducibilità del test Xpert HBV VL

Concentrazione di DNA dell'HBV (Log ₁₀ IU/m)			DS del contributo alla varianza totale (CV%)										Precisione totale	
			Sito/Strumento		Lotto		Giorno		Operatore/sessione		Entro la sessione			
Attesa	Osservata	N	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	(%) ^a	DS	CV (%) ^b
9,00	9,13 ^c	144	<0,01	<0,01	0,04	23,4	<0,01	<0,01	0,02	4,9	0,07	71,7	0,08	19,7
8,00	8,17	144	<0,01	<0,01	0,04	26,7	<0,01	<0,01	0,02	5,4	0,06	67,9	0,07	16,9
7,00	7,15	144	0,01	2,2	0,03	12,2	0,01	3,9	<0,01	<0,01	0,07	81,8	0,07	16,8
6,00	6,18	144	<0,01	<0,01	0,04	32,1	0,01	4,3	<0,01	<0,01	0,05	63,6	0,06	14,7
4,70	4,87	144	0,02	4,5	0,03	15,3	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	80,2	0,07	17,1
3,00	3,19	144	<0,01	<0,01	0,03	28,8	<0,01	<0,01	0,02	11,5	0,04	59,7	0,06	13,2
2,00	2,17	144	<0,01	<0,01	0,02	8,6	<0,01	<0,01	0,01	1,0	0,08	90,5	0,08	19,0
1,00	1,13	144	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	11,0	0,01	0,3	0,15	88,8	0,16	37,7

^a (%) è il contributo del componente varianza rispetto alla varianza complessiva

^b "CV" è il coefficiente di variazione lognormale, ottenuto mediante la

$$\text{Lognormal CV}(\%) = 100 \cdot \sqrt{10^{(\ln(10) \cdot \sigma_{\log_{10} \text{ data}}^2)} - 1}$$

formula:

^c Il valore osservato è al di sopra dell'intervallo quantitativo del test Xpert HBV VL.

18.4 Range lineare

Genotipo A

Il range lineare del test Xpert HBV VL è stato determinato mediante l'analisi di un pannello di otto elementi che coprirebbe un intervallo di concentrazione dell'HBV da 1,00 a 9,00 \log_{10} IU/ml. I pannelli sono stati preparati inoculando un campione di analisi clinico con genotipo A dell'HBV o stock di DNA plasmidico dell'HBV ad alto titolo in plasma e siero EDTA

negativi all'HBV. Ciascun elemento del pannello è stato analizzato con otto replicati per lotto di reagenti, ad eccezione delle diluizioni più basse che sono state analizzate con sedici replicati per lotto di reagenti, utilizzando due lotti di reagenti. I risultati sono presentati nella Figura 9 e Figura 10.

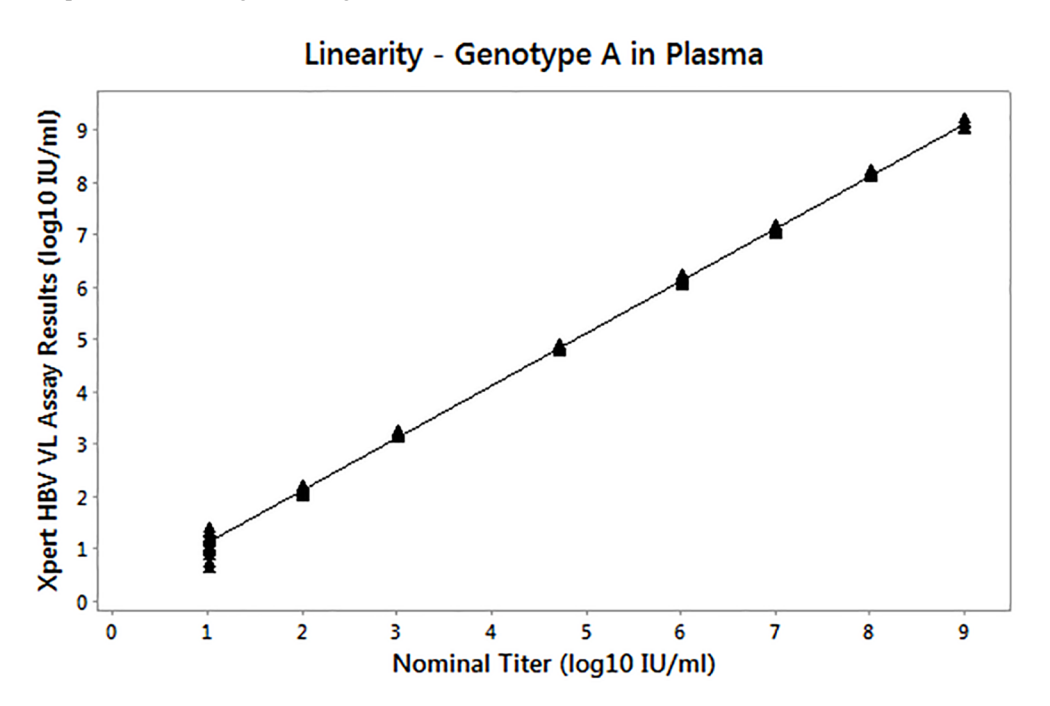


Figura 9. Linearità per il test Xpert HBV VL in plasma EDTA

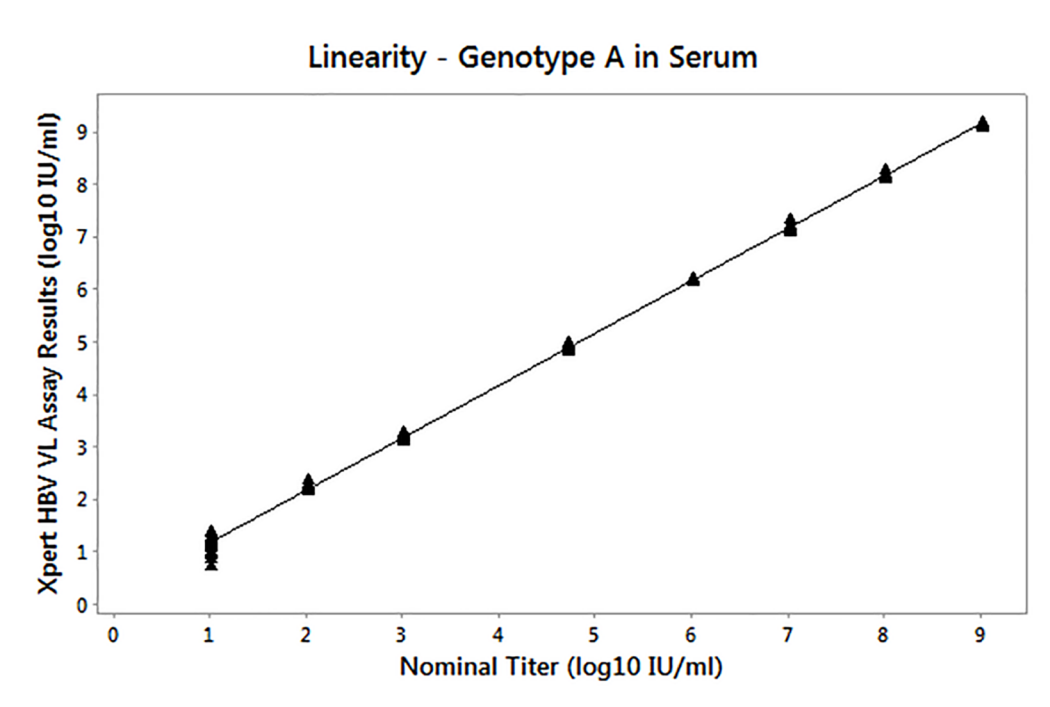


Figura 10. Linearità per il test Xpert HBV VL nel siero EDTA

Genotipi B-H

Per confermare la linearità, i pannelli di diluizione che rappresentano i genotipi HBV da B a H sono stati preparati per coprire l'intervallo di misurazione più ampio possibile diluendo un campione di analisi clinico che rappresenta ciascun genotipo nel plasma EDTA negativo all'HBV. Gli elementi del pannello sono stati analizzati con lo stesso numero di replicati del genotipo A dell'HBV utilizzando un lotto di reagenti.

La linearità è stata dimostrata secondo la linea guida CLSI EP06-A¹³ per il genotipo A-H con $R^2 > 0,99$. Il test Xpert HBV VL è lineare in un intervallo di 1,00 - 9,00 \log_{10} IU/ml per il genotipo A e nell'intervallo analizzato per i genotipi da B a H (vedere Tabella 7).

Tabella 7. Linearità del test Xpert HBV VL per genotipo

Genotipo	Equazione di regressione lineare	R ²	Intervallo di titoli analizzati (Log ₁₀ IU/ml)
A (Plasma)	$y = 1,005x + 0,093$	0,999	1,00 – 9,00
A (Siero)	$y = 1,000x + 0,167$	0,999	1,00 – 9,00
B	$y = 0,998x - 0,027$	0,995	1,00 – 6,83
C	$y = 0,998x - 0,119$	0,998	1,00 – 7,69
D	$y = 0,993x + 0,101$	0,998	1,00 – 7,41
E	$y = 1,010x - 0,149$	0,999	1,00 – 8,14
F	$y = 0,994x - 0,068$	0,999	1,00 – 7,96
G	$y = 0,990x + 0,538$	0,999	1,00 – 8,61
H	$y = 0,991x + 0,122$	0,999	1,00 – 6,35

18.5 Specificità analitica (esclusività)

La specificità analitica del test Xpert HBV VL è stata valutata aggiungendo organismi potenzialmente cross-reattivi a una concentrazione di 1×10^6 CFU/ml per i microrganismi o 1×10^5 copie/ml o TCID₅₀/ml per i virus in plasma EDTA negativo all'HBV e plasma EDTA contenente circa 30 IU/ml di materiale HBV di riferimento (4° Standard internazionale dell'OMS per HBV, codice NIBSC: 10/266)⁴. Gli organismi analizzati sono elencati nella Tabella 8. Nessuno degli organismi analizzati ha mostrato reattività crociata o ha interferito con la quantificazione del test Xpert HBV VL.

Tabella 8. Organismi di specificità analitica

Virus		Batteri	Lievito
Polioma virus umano BK	Virus dell'immunodeficienza umana 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Virus dell'immunodeficienza umana 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus di Epstein-Barr	Papilloma virus umano 16		
Virus dell'epatite A	Papilloma virus umano 18		
Virus dell'epatite C	Virus linfotropico umano a cellule T di tipo 1		
Virus dell'herpes simplex 1	Virus linfotropico umano a cellule T di tipo 2		
Virus dell'herpes simplex 2	Virus della varicella Zoster		
Virus dell'herpes umano 6	Virus del vaccino		
Virus dell'herpes umano 8			

18.6 Sostanze potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del test Xpert HBV VL alle interferenze da parte di livelli elevati di sostanze endogene, di marcatori di malattia autoimmune e di farmaci prescritti ai pazienti infetti da HBV. Sono stati valutati gli effetti inibitori sia in presenza sia in assenza di circa 30 IU/ml di materiale di riferimento del DNA dell'HBV (4° Standard internazionale dell'OMS per HBV, codice NIBSC: 10/266).⁴

La presenza di livelli elevati delle sostanze endogene elencate in Tabella 9 ha dimostrato di non interferire con la quantificazione del test Xpert HBV VL con il titolo \log_{10} medio di ciascuno dei campioni positivi all'HBV contenenti sostanze potenzialmente interferenti entro $\pm 0,10 \log_{10}$ IU/ml del controllo positivo. Risultati negativi sono stati ottenuti per tutti i campioni senza bersaglio HBV a indicare che non vi era alcun impatto sulla specificità del saggio.

Sostanze endogene

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	3000 mg/dl

Farmaci

È stato dimostrato che i componenti dei farmaci elencati in Tabella 10 non interferiscono con la quantificazione del test Xpert HBV VL né influiscono sulla specificità del test stesso quando analizzati a tre volte la concentrazione di picco del livello di plasma (C_{max}) in presenza o assenza di DNA dell'HBV.

Tabella 10. Pool di farmaci analizzati

Pool	Farmaci
1	Zidovudina, Saquinavir, Claritromicina, Interferone-alfa-2b, Ritonavir, Ombitasvir, Paritaprevir, Dasabuvir, Didanosina
2	Abacavir solfato, Fosamprenavir, Peg-Interferone-alfa-2a, Ribavirina, Entecavir, Adefovir Dipivoxil
3	Tenofovir disoproxil fumarato, Lamivudina, Indinavir solfato, Ganciclovir, Valganciclovir HCl, Acyclovir, Paroxetina, Telbivudina
4	Stavudina, Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacina Fluoxetina
5	Nevirapina, Nelfinavir, Azitromicina, Valaciclovir, Sertralina, Tenofovir alafenamide

Marcatori di malattie autoimmuni

I test su campioni di analisi del plasma EDTA K₂ prelevati da cinque individui positivi a ciascun marcatore di malattia autoimmune del lupus eritematoso sistemico (SLE), degli anticorpi anti nucleo (ANA) o del fattore reumatoide (RF) non hanno mostrato alcuna interferenza sulle prestazioni del test Xpert HBV VL. La concentrazione \log_{10} media dei campioni inoculati con DNA dell'HBV era entro $\pm 0,10 \log_{10}$ IU/ml del controllo positivo. Risultati negativi sono stati ottenuti per tutti i campioni senza bersaglio HBV a indicare che non vi era alcun impatto sulla specificità del saggio.

18.7 Equivalenza della matrice (Plasma EDTA K₂, EDTA-PPT e siero)

L'equivalenza della matrice per il test Xpert HBV VL è stata condotta con 32 campioni di analisi clinici HBV positivi corrispondenti e 23 campioni di analisi clinici HBV negativi corrispondenti raccolti in provette di raccolta di plasma EDTA-K₂, plasma EDTA-PPT e siero. I 23 campioni di analisi clinici HBV negativi sono stati inoculati con materiale HBV positivo, da campioni di analisi clinici che rappresentano genotipi HBV da B a G e un DNA plasmidico che rappresenta la sequenza bersaglio del genotipo A dell'HBV, con titoli nell'intero range lineare.

L'equivalenza della matrice è stata dimostrata nei campioni testati come mostrato nella Figura 11 e Figura 12.

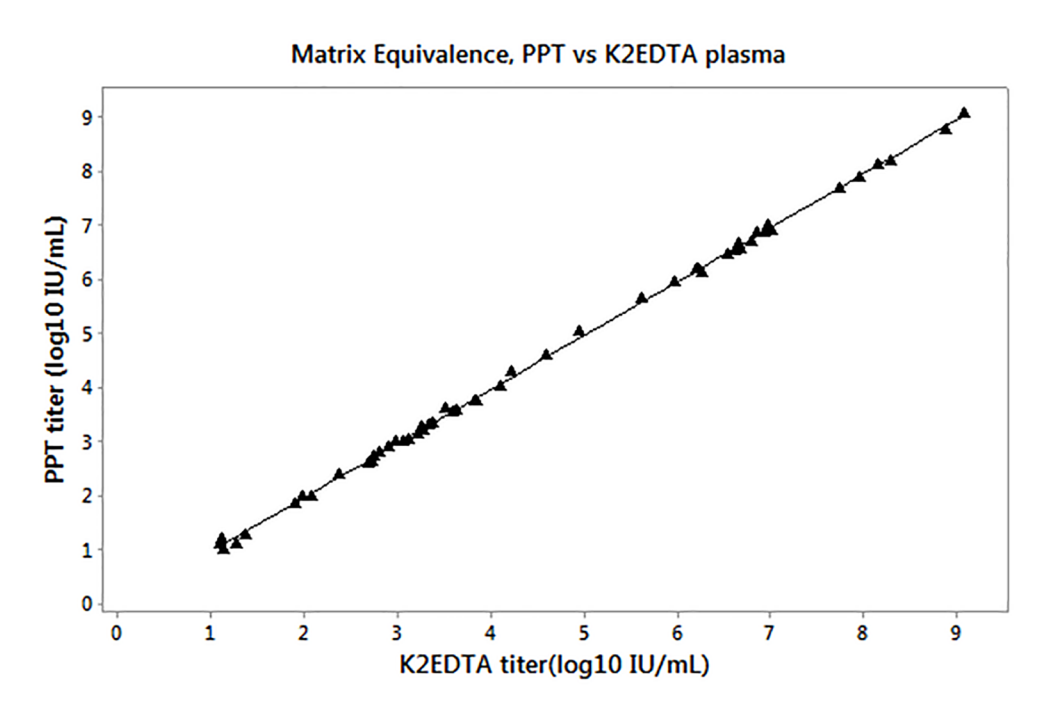


Figura 11. Grafico di regressione lineare di plasma EDTA-PPT a confronto con plasma EDTA-K₂

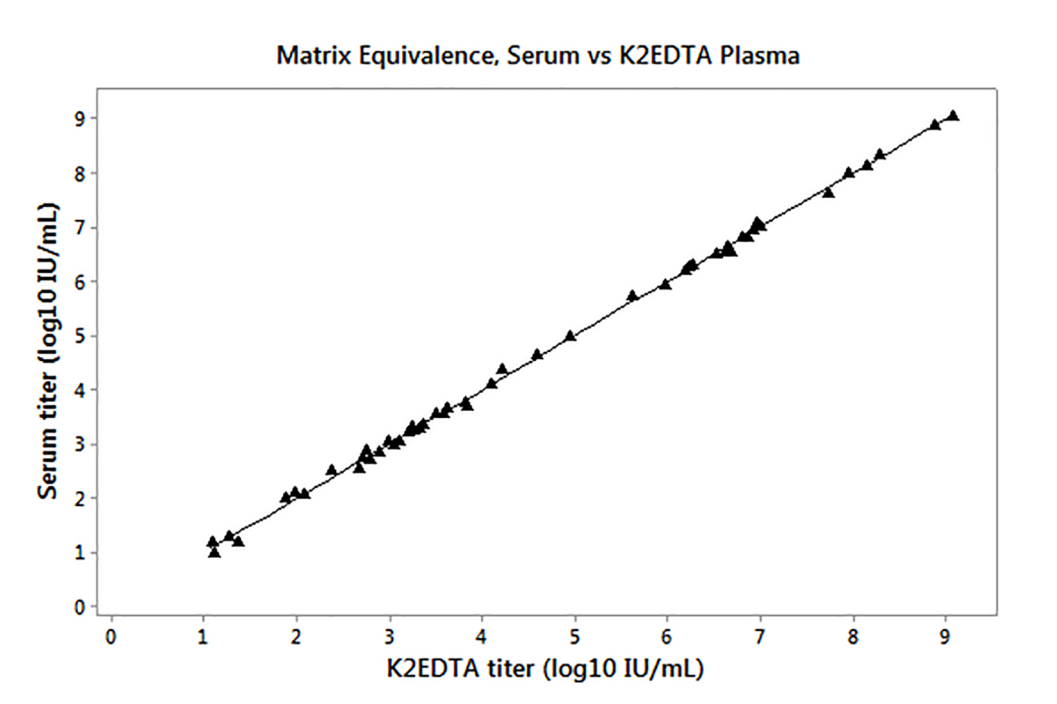


Figura 12. Grafico di regressione lineare di siero a confronto con plasma EDTA-K₂

I risultati mostrano che le prestazioni del test Xpert HBV VL sono le stesse nel plasma EDTA-K₂, nel plasma EDTA-PPT e nel siero per i campioni che si trovano nell'intervallo di circa 1,0-9,0 log₁₀ IU/ml.

18.8 Errore globale del sistema

Il tasso di errore globale del sistema per il saggio HBV VL è stato determinato testando 100 replicati di plasma EDTA inoculati con il 4° Standard Internazionale dell'OMS per DNA dell'HBV (codice NIBSC 10/266)⁴, un campione di genotipo A. I campioni inoculati sono stati testati ad una concentrazione target di circa 3 x LLOQ (30 IU/ml).

I risultati di questo studio hanno determinato che tutti i replicati erano validi e positivi per il bersaglio HBV, con un tasso di errore globale del sistema dello 0,0%

18.9 Contaminazione da trascinamento

È stato testato un campione positivo all'HBV a titolo elevato ($> 1 \times 10^7$ IU/ml), e immediatamente dopo è stato eseguito il test di un campione negativo all'HBV nello stesso modulo dello strumento GeneXpert. La procedura è stata ripetuta venti (20) volte in due moduli. Il tasso di carry-over per il test Xpert HBV VL è stato dello 0%.

19 Prestazioni cliniche

19.1 Specificità nei donatori di sangue sani normali

La specificità del test Xpert HBV VL è stata valutata utilizzando 99 campioni di analisi di siero e 100 di plasma EDTA provenienti da donatori di sangue negativi per HBV. La specificità del test Xpert HBV VL è stata del 100,0% [IC al 95%: 98.1-100.0 (199/199)].

19.2 Correlazione metodologica

Uno studio multi-sito è stato condotto per valutare le prestazioni del test Xpert HBV VL rispetto a un metodo di confronto quantitativo del DNA dell'HBV usando campioni di analisi di siero e plasma EDTA standard of care avanzati da individui con nota infezione da HBV.

Degli 876 soggetti idonei, 351 (40,1%) erano di sesso femminile e 489 (55,8%) erano di sesso maschile. L'età media era di $47,2 \pm 15,9$ anni, con un intervallo di età compreso tra 18 e 89 anni. Di questi 876 campioni di analisi, 560 rientravano nell'intervallo di quantificazione sia del saggio HBV VL che del saggio di confronto. Il risultato della regressione di Deming e le analisi di regressione lineare semplici sono mostrati in Figura 13.

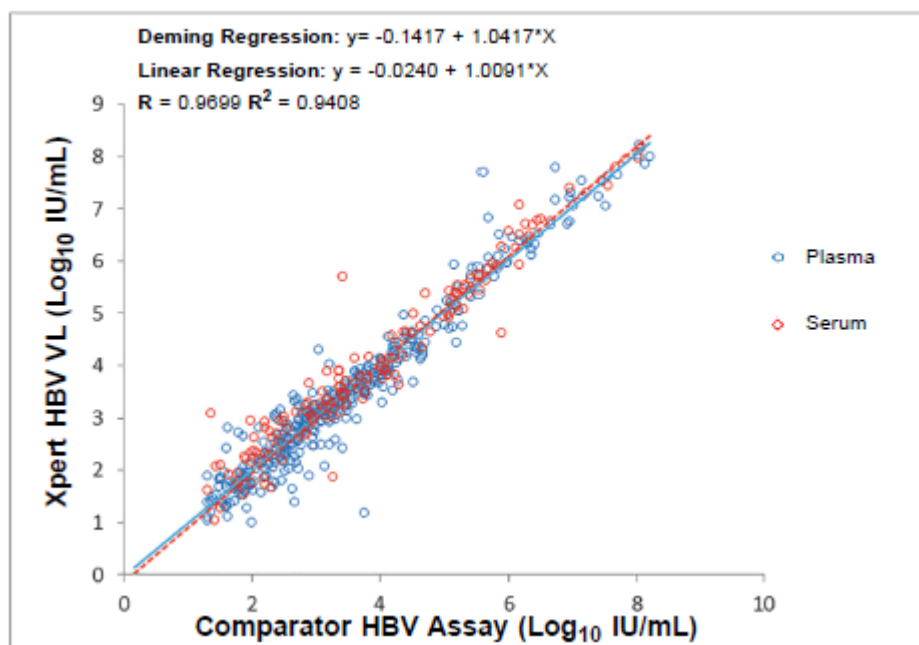


Figura 13. Correlazione tra test Xpert HBV VL e metodo di confronto utilizzando campioni di analisi di siero e plasma EDTA

20 Riferimenti bibliografici

1. Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. Marzo 2015. Consultazione il 14 marzo 2018: <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepat.* 2012; 57:167-185. Disponibile in: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. Organizzazione Mondiale della Sanità. Global hepatitis report, 2017. OMS. Aprile 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), consultato il 5 marzo 2018 su <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (fare riferimento all'ultima edizione).
7. Organizzazione Mondiale della Sanità. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Consultazione il 20 aprile 2018: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
8. REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga, Elenco delle frasi di rischio, le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. 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.
11. 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.
12. 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.
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.

21 Ubicazione delle sedi centrali Cepheid

Sede centrale globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede centrale europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Assistenza Tecnica

Prima di contattare il Supporto Tecnico 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

Email: techsupport@cepheid.com


















Francia

Telefono: +33 563 825 319

Email: support@cepheideurope.com

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici del Supporto Tecnico di Cepheid sono disponibili nel sito www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Fabbricante
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <i>n</i> test
	Controllo
	Data di scadenza
	Marchio CE - Conformità europea
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Attenzione
	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

