

## LIAISON® Anti-HBs (310120), Anti-HBs Plus (310190), LIAISON® Control Anti-HBs (310121)

### LIAISON® Anti-HBs (310120), Anti-HBs Plus (310190)

#### 1. UTILIZARE

Metoda de dozare LIAISON® Anti-HBs utilizează tehnologia de dozare imunologică prin chemiluminescență (CLIA, chemiluminescent immunoassay) pentru determinarea cantitativă a anticorpilor împotriva antigenului de suprafață (anti-HBs) al virusului hepatitei B în mostrele de ser sau plasmă umană. Acest test trebuie efectuat cu ajutorul analizorului LIAISON®.

#### 2. PREZENTARE ÎN REZUMAT ȘI EXPLICAȚII ASUPRA TESTULUI

Hepatita este o boală inflamatorie a ficatului, ce poate afecta acest organ în mod sever. Boala poate fi cauzată de agenți neinfecțioși, precum și de agenți infecțioși, virali sau bacterieni.

Virusul hepatitei B este endemic în întreaga lume (2). Infecția se răspândește în principal prin contactul percutanat cu sângele infectat, de exemplu prin folosirea în comun a acelor de seringă de către consumatorii de droguri sau prin transfuzia de produse din sânge care nu au fost verificate în ceea ce privește HBV (1, 18). Virusul hepatitei B (HBV) se găsește, de asemenea, practic în oricare din fluidele corpului uman și se cunoaște faptul că se poate transmite prin contact genital. HBV se poate transmite perinatal, de la mamă la copil (17).

Perioada de incubație a hepatitei B este, în medie, de 90 de zile (variază între 40 și 180 de zile). Simptomele obișnuite includ stare generală de rău, febră, enterogastrită și icter. Infecția cu HBV poate conduce la (a) hepatită icterică; (b) hepatită anicterică subclinică; (c) hepatită fulminantă; (d) hepatită cronică activă sau persistentă (7). Peste 90% dintre pacienții adulți cu hepatită B se refac complet după boala acută, aproximativ 1% dintre ei mor din cauza hepatitei fulminante, iar un număr aproximativ de 6 până la 10% devin purtători cronici activi sau persistenți (10, 15).

Diagnosticarea hepatitei B se bazează pe detectarea markerilor serologici. Testarea pentru detectarea acestor martori ajută la determinarea prezenței unei infecții cu HBV trecute sau în desfășurare, a stadiului acut sau cronic al bolii, a răspunsului la tratament și/sau a statusului imunitar al pacientului (4).

Înainte de instalarea bolii la nivel clinic, HBsAg este detectabil în ser, iar prezența sa persistă pe întreaga durată a fazei simptomatice a bolii. După etapa clinică a bolii, titrul antigenului HBsAg scade și, în cele din urmă, coboară sub nivelul detectabil. După dispariția HBsAg, anticorpii anti-HBs apar în ser, deși există, de obicei, un interval denumit *ferestra* între dispariția HBsAg și apariția anticorpilor anti-HBs (seroconversie). La aproximativ 10% dintre pacienți, HBsAg persistă în ser pe termen nedefinit, în timp ce anticorpii anti-HBs nu apar, indicând o stare de purtător cronic (9).

Prezența anticorpilor anti-HBs în ser indică o expunere la HBV în antecedente, precum și o imunitate dobândită pe termen lung (13). Pe de altă parte, prezența unor titruri scăzute ale anticorpilor anti-HBs poate indica o lipsă a imunității în fața unei viitoare infecții cu HBV.

De aceea, detectarea anticorpilor anti-HBs este de importanță critică în stabilirea faptului dacă a avut loc eliminarea completă a infecției, precum și în stabilirea modului de dobândire a imunității, mai exact dacă aceasta a fost obținută prin infecție naturală cu HBV sau prin vaccinare. Vaccinurile bazate fie pe HBsAg obținut din plasmă umană, fie pe HBsAg recombinant, sunt utilizate pe scară largă (6, 14, 16), subliniind importanța necesității unei cuantificări precise a concentrației de imunoglobulină (3, 5): măsurarea anticorpilor anti-HBs la persoanele vaccinate este esențială pentru evaluarea duratei de protecție după imunizarea primară, precum și pentru stabilirea necesității și a calendarului vaccinărilor de rapel (8, 11, 12). Detectarea anticorpilor anti-HBs este, de asemenea, crucială pentru identificarea indivizilor susceptibili la HBV în cadrul programelor de triere (screening) pre-vaccinare.

#### 3. PRINCIPIUL PROCEDURII

Metoda determinării cantitative a anticorpilor anti-HBs este o metodă de dozare imunologică directă, de tip *sandwich*, prin chemiluminescență (CLIA). HBsAg de proveniență umană (subtipurile *ad* și *ay*) sunt utilizați pentru acoperirea particulelor magnetice (faza solidă) și se leagă de un derivat de isoluminol (conjugat isoluminol-HBsAg). În timpul primei incubații, anticorpii anti-HBs prezenți în calibratori, mostre sau controluri se leagă de faza solidă și conjugatul HBsAg, formând astfel o structură de tip *sandwich*. În timpul celei de-a doua incubații, conjugatul HBsAg reacționează cu complexul imun care este deja legat la faza solidă. După fiecare incubație, materialul nelegat este îndepărtat printr-un ciclu de spălare.

Succesiv, sunt adăugați reactivii starter și este astfel indusă o reacție de chemiluminescență. Semnalul luminos, și implicit cantitatea de conjugat isoluminol-HBsAg, este măsurat în unități optice relative (RLU) cu ajutorul unui fotomultiplicator și este proporțional cu concentrația anticorpilor anti-HBs prezenți în calibratori, mostre sau controluri.

#### 4. MATERIALE FURNIZATE

##### Set integral de reactivi

Particule magnetice (2,3 mL)	Particulele magnetice acoperite cu HBsAg de proveniență umană, tratat prin căldură (subtipurile <i>ad</i> și <i>ay</i> prezente în mod egal), albumină serică bovină, tampon fosfat, < 0,1% azidă de sodiu.
Calibrator 1 (2,0 mL)	Ser/plasmă umană conținând niveluri joase de anticorpi anti-HBs având o reactivitate echilibrată între subtipurile <i>ad</i> și <i>ay</i> , EDTA, conservanți. Concentrațiile de calibratori (mUI/mL) sunt conforme prevederilor OMS (Organizația Mondială a Sănătății) Anti-Hepatitis B Immunoglobulin 1st International Reference Preparation (1977).
Calibrator 2 (2,0 mL)	Ser/plasmă umană conținând niveluri înalte de anticorpi anti-HBs având o reactivitate echilibrată între subtipurile <i>ad</i> și <i>ay</i> , EDTA, conservanți și un pigment inert de culoare albastră. Concentrațiile de calibratori (mUI/mL) sunt conforme prevederilor OMS (Organizația Mondială a Sănătății) Anti-Hepatitis B Immunoglobulin 1st International Reference Preparation (1977).
Tampon G (2,4 mL)	Albumină serică bovină, tampon fosfat, EDTA, conservanți și un pigment inert de culoare roșie.
Conjugat (11 mL)	HBsAg de proveniență umană, tratat prin căldură (subtipurile <i>ad</i> și <i>ay</i> prezente în mod egal) conjugat cu un derivat de isoluminol, albumină serică bovină, tampon fosfat, < 0,1% azidă de sodiu.
Tampon D (21 mL)	Ser bovin, albumină serică bovină, tampon TRIS, conservanți.
Diluant pentru mostre (28 mL)	Ser/plasmă umană, EDTA, un pigment inert de culoare albastră (numai pentru LIAISON® Anti-HBs Plus, cod 310190).
Numărul de teste	100

Toți reactivii sunt furnizați în stare gata de utilizare. Ordinea reactivilor reflectă disponerea containerelor în setul integral de reactivi.

##### Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

LIAISON® Module (cod 319130).	Modul.
LIAISON® Starter Kit (cod 319102).	Set starter.
LIAISON® Light Check (cod 319101).	Verificator de lumină.
LIAISON® Wash/System Liquid (cod 319100).	Lichid de spălare/de sistem.
LIAISON® Waste Bags (cod 450003).	Pungi pentru deșeuri.

##### Alte materiale necesare

Controluri LIAISON® Anti-HBs (negative și pozitive) (cod 310121).	
LIAISON® Cleaning Kit (cod 310990).	Set de curățare.

#### 5. AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

Numai pentru utilizare diagnostică *in vitro*.

Toate unitățile de ser și plasmă utilizate pentru a produce componentele furnizate în acest set au fost testate pentru prezența HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1, anti-HIV-2 și au fost constatate ca fiind nereactive, cu excepția fazei solide și a conjugatului, care sunt reactive la HBsAg. Antigenul de suprafață al hepatitei B a fost supus unui tratament termic (60°C timp de 10 ore) în cursul procesului de fabricație. Cu toate acestea, nu trebuie să se acrediteze ideea că inactivarea făcută a fost completă.

Cu toate acestea, deoarece nici o metodă de testare nu poate oferi garanții absolute privind absența agenților patogeni, toate mostrele de proveniență umană trebuie să fie considerate ca potențial infecțioase și să fie manipulate cu atenție.

#### 6. PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ

Nu consumați alimente sau băuturi, nu fumați și nu folosiți produse cosmetice în laboratorul de testare.

Nu pipetați soluțiile cu gura.

Evitați contactul direct cu toate materialele cu potențial infectant utilizând îmbrăcăminte de protecție precum halatul de laborator, ochelari de protecție și mănuși de unică folosință. Spălați bine mâinile la sfârșitul fiecărui test.

Evitați împrăscierea sau formarea de aerosoli. Orice deșeuri de reactiv trebuie spălate cu o soluție de hipoclorit de sodiu 5% și evacuate ca materiale potențial infecțioase.

Toate mostrele, reactivii biologici și materialele utilizate în cadrul testului trebuie să fie considerate ca având un potențial de transmitere a agenților infecțioși. Prin urmare, evacuarea lor trebuie să se facă în concordanță cu reglementările și normele în vigoare ale agenților ce dețin jurisdicția asupra laboratorului, precum și cu reglementările din fiecare țară. Materialele consumabile trebuie incinerate; deșeurile lichide trebuie decontaminate cu hipoclorit de sodiu la o concentrație finală de 5%, timp de cel puțin jumătate de oră. Toate materialele ce urmează a fi reutilizate trebuie sterilizate prin autoclavare, utilizând o abordare *agresivă* (USP 24, 2000, p. 2143). Un minimum de o oră la 121°C este, de obicei, considerat ca adecvat, cu toate că utilizatorii trebuie să verifice eficiența ciclului de decontaminare printr-o validare inițială a acestuia și prin utilizarea de rutină a indicatorilor biologici.

#### 7. PREPARAREA SETULUI INTEGRAL DE REACTIVI

Înainte de a îndepărta sigiliile de pe containere, scuturați încet și cu atenție reactivul integral, în plan orizontal. Evitați formarea de spumă. Îndepărtați sigiliul de pe fiecare container și întoarceți înainte și înapoi roțița cu acționare manuală din partea de jos a containerului cu particule magnetice până când suspensia capătă o colorație maronie. Această procedură inițiază re-suspensia particulelor magnetice. Apoi, plasați reactivul integral în caseta pentru reactiv a analizorului, cu eticheta cu codul de bare către stânga, și lăsați-l în repaus timp de 30 de minute, înainte de utilizare. Analizorul amestecă și re-suspendă în mod automat particulele magnetice. Pentru a încărca mostrele și a începe dozarea, urmați instrucțiunile din manualul de operare al analizorului.

## 8. DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA SETULUI INTEGRAL DE REACTIVI

După recepționare, reactivul integral trebuie menținut în poziție verticală pentru a facilita re-suspensia particulelor magnetice. Atunci când setul integral de reactivi este menținut în stare sigilată și în poziție verticală, reactivii sunt stabili, la 2-8°C, până la data de expirare. Nu congelați. Setul integral de reactivi nu trebuie utilizat după data de expirare indicată pe etichetele setului integral de reactivi. După îndepărtarea sigiliilor, setul integral de reactivi este stabil timp de opt săptămâni, fie în condițiile depozitării la frigider, la temperatura de 2-8°C, fie încărcat în aparat.

## 9. RECOLTAREA ȘI PREPARAREA MOSTRELOR

Se pot utiliza atât ser uman proaspăt cât și plasmă umană. Au fost testate anticoagulantele citrat, EDTA și heparină, ele putând fi utilizate în această dozare. Utilizarea mostrelor de plasmă recoltate pe citrat cauzează o scădere a semnalului, cu subestimarea consecutivă a rezultatelor (de ordinul a 20%). Sângele trebuie recoltat prin puncție venoasă în condiții aseptice, lăsat să coaguleze, iar serul trebuie separat de coagul cât mai curând posibil. Mostrele care prezintă conținut de particule, turbiditate, lipemie sau resturi de eritrocite pot necesita clarificarea prin filtrare sau centrifugare înainte de testare. Mostrele puternic hemolizate sau mostrele lipemice, precum și cele cu conținut de particule sau care prezintă o contaminare microbială evidentă trebuie excluse de la testare. Înainte de dozare, verificați eventuala prezență a bulelor de aer și înlăturați-le. Dacă dozarea urmează să se facă în termen de șapte zile de la recoltarea mostrelor, acestea trebuie păstrate la 2-8°C; altminteri, ele trebuie alicotate și depozitate în regim de congelare avansată (la temperaturi egale sau mai mici de -20°C). În cazul utilizării de mostre care au fost congelate, amestecați bine mostrele decongelate înainte de testare. Cinci mostre cu grad diferit de reactivitate au fost depozitate timp de șapte zile la 2-8°C și au fost supuse la patru cicluri de congelare-decongelare. Rezultatele nu au prezentat diferențe semnificative. Volumul minim necesar este de 300 μL de mostră (150 μL de mostră + 150 μL de volum inert).

## 10. CALIBRAREA

Testarea calibratorilor conținuți în setul integral de reactivi permite analizorului să recalibreze curba principală memorată, așa cum este indicat prin intermediul codului de bare de pe eticheta setului integral de reactivi.

Calibrarea analizorului trebuie să se facă în triplicat în oricare din următoarele situații:

- Este utilizat un nou lot de set integral de reactivi sau de set starter.
- Precedenta operațiune de calibrare s-a făcut cu mai mult de patru săptămâni în urmă.
- Analizorul a fost supus operațiunilor de service.
- Valorile controlurilor se situează în afara intervalelor previzionate.

## 11. PROCEDURA DE DOZARE

Respectarea strictă a manualului de operare al analizorului asigură o performanță corespunzătoare a metodei de dozare. Fiecare parametru de test este identificat prin cod de bare pe eticheta setului integral de reactivi. În caz de nefuncționare a cititorului de coduri de bare, datele pot fi introduse manual. Pentru detalii, consultați manualul de operare al analizorului.

Pașii de urmat pentru operarea analizorului sunt următorii:

1. Distribuți calibratorii, controlurile și mostrele în modulul de reacție.
2. Distribuți conjugatul.
3. Distribuți particulele magnetice acoperite.
4. Distribuți tamponul G.
5. Incubați.
6. Spălați cu lichid de spălare/de sistem.
7. Distribuți conjugatul în modulul de reacție.
8. Distribuți tamponul D.
9. Incubați.
10. Spălați cu lichid de spălare/de sistem.
11. Adăugați setul starter și măsurați lumina emisă.

## 12. CONTROLUL DE CALITATE

Controlul de calitate trebuie efectuat (a) cel puțin o dată, în fiecare zi de utilizare, (b) ori de câte ori este utilizat un nou reactiv integral, (c) ori de câte ori este calibrat setul, sau conform ghidurilor sau cerințelor formulate de reglementările locale sau de organizațiile acreditate.

Controlurile LIAISON® trebuie procesate în exemplar unic, pentru monitorizarea performanței metodei de dozare. Valorile controlurilor trebuie să se situeze în interiorul intervalelor previzionate: ori de câte ori controlurile se situează în afara intervalurilor previzionate, calibrarea trebuie repetată, iar controlurile trebuie re-testate. Dacă valorile controlurilor obținute după o calibrare reușită se situează în mod repetat în afara intervalelor predefinite, testul trebuie repetat utilizând un nou flacon de control, nedeschis. Dacă valorile controlurilor se situează în afara intervalelor previzionate, nu se vor raporta rezultatele pacientului.

Înainte de utilizare, funcționalitatea celorlalte controluri trebuie evaluată din punct de vedere al compatibilității cu acest test. După aceea, trebuie stabilite intervale corespunzătoare ale valorilor pentru materialele folosite la controlul de calitate.

## 13. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Analizorul calculează în mod automat concentrațiile de anticorpi anti-HBs, exprimate în mUI/mL, și clasifică rezultatele. Pentru detalii, consultați manualul de operare al analizorului.

Valoarea de cut-off care face diferența între prezența anticorpilor anti-HBs și absența lor, la niveluri care justifică imunitatea împotriva infecției cu HBV, este de 10 mUI/mL. Rezultatele mostrelor trebuie interpretate după cum urmează:

Mostrele cu concentrații ale anticorpilor anti-HBs mai mici de 9 mUI/mL trebuie considerate *negative*.

Mostrele cu concentrații ale anticorpilor anti-HBs aflate între 9 și 11 mUI/mL trebuie considerate *echivoce*. *Mostrele echivoce trebuie re-testate în duplicat pentru confirmarea rezultatelor inițiale.*

Mostrele cu concentrații ale anticorpilor anti-HBs egale sau mai mari de 11 mUI/mL trebuie considerate *pozitive*.

Analiza distribuției valorilor, exprimate în mUI/mL, observate în rândul unei populații negative la anti-HBs, arată faptul că 99% din populație prezintă o concentrație decelabilă a anticorpilor anti-HBs mai mică de 5 mUI/mL.

**Interval de măsurare.** Anti-HBs între 5 și 1000 mUI/mL (LIAISON® Anti-HBs).

Anti-HBs între 5 și 90.000 mUI/mL (LIAISON® Anti-HBs Plus).

Mostrele care conțin niveluri ale anticorpilor aflate deasupra intervalului de măsurare pot fi pre-diluate prin utilizarea funcției de Diluare a aparatului și re-testate (factorii de diluție recomandați sunt 1:50 și 1:90, numai pentru LIAISON® Anti-HBs Plus). Rezultatele vor fi, apoi, multiplicare în mod automat cu factorul de diluție pentru a obține nivelurile de anticorpi ale mostrelor nediluate. Diluantul pentru mostre aflate în reactivul integral permite efectuarea unui număr de până la 100 de pre-diluări ale mostrelor în raportul 1:50 sau 55 de pre-diluări ale mostrelor în raportul 1:90.

Se acceptă, în general, faptul că o concentrație a anticorpilor anti-HBs mai mare de 10 mUI/mL indică fie o infecție vindecată în trecut, fie un răspuns pozitiv la vaccinare. În ambele cazuri, se poate considera că imunitatea la hepatita virală de tip B este dobândită. Concentrațiile de anticorpi mai mici de 10 mUI/mL indică absența imunității dobândite, întrucât nivelul de 10 mUI/mL este considerat ca reprezentând limita minimă de protecție.

Cu toate acestea, concentrațiile anticorpilor anti-HBs scad în decursul timpului, după imunizarea de bază cu vaccin împotriva hepatitei B. De aceea, literatura de specialitate (12) recomandă administrarea unor vaccinuri de rapel, în funcție de titrul de anticorpi găsit în circulație, după cum este arătat mai jos.

Concentrația anticorpilor anti-HBs după imunizarea de bază	Momentul recomandat pentru re-vaccinare
sub 10 mUI/mL	imediat
10-100 mUI/mL	după 3-6 luni
100-1.000 mUI/mL	după un an
1.000-10.000 mUI/mL	după 3,5 ani
peste 10.000 mUI/mL	după 7 ani

Astfel, o metodă cantitativă poate fi utilă în practica clinică pentru determinarea concentrației anticorpilor anti-HBs la mostrele testate. Cu toate acestea, la evaluarea mostrelor a căror concentrație de anticorpi se situează în intervalul  $10 \pm 1$  mUI/mL, trebuie luată în considerare o anumită variabilitate a dozei din cauza impreciziei procedurii de dozare. Prin urmare, aceste mostre trebuie evaluate cu atenție și trebuie să dea manifeste prudență în a considera că ele conțin anticorpi anti-HBs în concentrație mai mică de 10 mUI/mL, în cazul în care se dorește ca dozarea să furnizeze un răspuns cert la întrebarea dacă mostra conține o concentrație mai mare sau egală cu 10 mUI/mL.

#### 14. LIMITĂRILE PROCEDURII

Pentru obținerea unor rezultate fiabile sunt necesare utilizarea unei tehnici de lucru abile și urmarea cu strictețe a instrucțiunilor.

Contaminarea bacteriană sau inactivarea prin căldură a mostrelor pot afecta rezultatele testului.

Rezultatele testului sunt raportate în termeni cantitativi, ca pozitive sau negative din punct de vedere al prezenței anticorpilor anti-HBs. Cu toate acestea, diagnosticul bolilor infecțioase nu trebuie să se facă pe baza unui singur rezultat al unui test, ci în contextul celorlalte constatări clinice și a rezultatelor altor proceduri diagnostice, precum și al evaluării medicale.

Compararea rezultatelor cantitative obținute cu rezultate ale diferitelor altor dozări efectuate pe aceleași mostre indică un anumit grad de concordanță în cazul majorității mostrelor. Cu toate acestea, unele mostre pot da, în mod individual, rezultate discrepante. Pentru acest lucru pot exista diverse explicații distincte, dintre care amintim (3):

- variabilitatea antigenică a HBsAg (prezența și caracteristicile de legare de anticorpi ale diferiților epitopi HBsAg, procedurile de purificare a antigenelor, procesul de inactivare a HBsAg, conjugarea antigenului sau fixarea acestuia la faza solidă)
- compoziția anticorpică a analitului (specificitatea pentru diferiți epitopi, afinitate diferită pentru aceiași epitopi)
- caracteristici specifice ale dozării (de exemplu, corelarea cu standardul primar, principiul de dozare, sistemul de tampon) sau procedura de calculare a rezultatelor.
- efect de matrice apărut în mostrele diluate și nediluate, precum și între mostre și calibratori (de exemplu, prezența de proteine, lipide).

#### 15. CARACTERISTICI SPECIFICE DE PERFORMANȚĂ

##### 15.1. Specificitate analitică

Specificitatea analitică poate fi definită ca fiind capacitatea testului de a detecta cu precizie analitul specific în condițiile prezenței unor factori cu potențial de interferență în matricea de mostre (de exemplu anticoagulanți, hemoliză, efecte ale tratării mostrelor), sau a unor anticorpi cu reactivitate încrucișată.

**Interferență.** Studii controlate asupra substanțelor sau condițiilor cu potențial de interferență au arătat că performanța testului nu a fost afectată de anticoagulante (EDTA, heparină), hemoliză (valori ale hemoglobinei până la 100 mg/dL), lipemie (valori ale trigliceridelor până la 3000 mg/dL), bilirubinemie (valori ale bilirubinei până la 20 mg/dL) sau de cicluri repetate de congelare-decongelare a mostrelor. Utilizarea mostrelor de plasmă recoltate pe citrat cauzează o scădere a semnalului, cu subestimarea consecutivă a rezultatelor (de ordinul a 20%).

**Reacții încrucișate.** În mod normal, prezența de anticorpi cu potențial de reactivitate încrucișată nu influențează dozarea. Anticorpii investigați au fost următorii: (a) imunoglobuline îndreptate împotriva a diverși agenți infecțioși – precum hCMV, HSV, EBV, virusul rușeolei, HCV, HIV, HTLV-I/II, HAV, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum* – (b) anticorpi antinucleari (ANA), anticorpi umani anti-șoarece (HAMA), anticorpi heterofili, hipergamaglobuline și anticorpi de tip factor reumatoid (imunoglobulină anti-Fc).

##### 15.2. Sensibilitate analitică

Sensibilitatea analitică poate fi, de asemenea, exprimată prin limite ale detecției, reprezentate de cantitatea minimă din analitul specific care mai este detectabilă prin metoda de dozare. Limite ale detecției este de 2,3 mUI/mL (Organizația Mondială a Sănătății 1st International Reference Preparation, 1977) la un interval de confidență de 95%. Aceasta a fost calculată ca fiind concentrația aparentă a analitului care a fost detectabilă la o mostră negativă, ceea ce înseamnă de două ori deviația standard, peste zero.

### 15.3. Precizie

Au fost testate diferite mostre, conținând diferite concentrații ale analitului specific, cu scopul de a determina repetabilitatea și reproductibilitatea testului (de ex., gradul de variabilitate în timpul testului și între teste). Variabilitatea prezentată în tabelele de mai jos nu a condus la o clasificare eronată a mostrelor.

Repetabilitate	A	B	C	D
Numărul de determinări	21	21	21	21
Medie (mUI/mL)	8,80	28,30	181,00	549,00
Deviația standard	0,64	2,75	12,31	36,23
Coeficient de variație (%)	7,3	9,7	6,8	6,6

  

Reproductibilitate	A	B	C	D
Numărul de determinări	20	20	20	20
Medie (mUI/mL)	7,10	24,90	182,00	557,00
Deviația standard	1,12	3,29	9,28	27,29
Coeficient de variație (%)	15,8	13,2	5,1	4,9

### 15.4. Veridicitate

Veridicitatea testului a fost verificată cu ajutorul testului de diluție.

**Test de diluție.** Au fost testate șase mostre de ser conținând concentrații ridicate de anticorpi anti-HBs, ca atare și după diluare înseriată cu o mostră negativă. Concentrațiile anticorpilor anti-HBs, măsurate prin comparație cu valorile previzionate ale concentrațiilor, au fost analizate prin regresie liniară. Coeficienții de corelare (r) s-au situat între 0,996 și 0,999.

Diluție	Concentrație previzionată, mUI/mL	Concentrație măsurată, mUI/mL	% Decalaj	Diluție	Concentrație previzionată, mUI/mL	Concentrație măsurată, mUI/mL	% Decalaj
nediluat	–	5.570,4	–	nediluat	–	5.686,4	–
1:16	348,2	374,1	107,5	1:16	355,4	367,1	103,3
1:32	174,1	198,1	113,8	1:32	177,7	149,5	84,1
1:64	87,0	99,7	114,5	1:64	88,9	75,8	85,3
1:128	43,5	47,1	108,2	1:128	44,4	28,0	63,0
1:256	21,8	19,7	90,5	1:256	22,2	15,4	69,3
1:512	10,9	11,8	108,5				
nediluat	–	13.276,8	–	nediluat	–	3.648,8	–
1:32	414,9	529,9	127,7	1:8	456,1	506,1	111,0
1:64	207,5	260,1	125,4	1:16	228,1	211,4	92,7
1:128	103,7	121,6	117,2	1:32	114,0	109,2	95,8
1:256	51,9	70,0	135,0	1:64	57,0	52,4	91,9
1:512	25,9	30,2	116,5	1:128	28,5	17,6	61,7
1:1024	13,0	14,8	114,1	1:256	14,3	11,9	83,5
nediluat	–	7.859,2	–	nediluat	–	11.579,2	–
1:32	245,6	277,1	112,8	1:32	361,9	357,4	98,8
1:64	122,8	122,9	100,1	1:64	180,9	161,4	89,2
1:128	61,4	65,2	106,2	1:128	90,5	84,3	93,2
1:256	30,7	28,5	92,8	1:256	45,2	46,3	102,4
1:512	15,4	15,3	99,7	1:512	22,6	18,8	83,1
				1:1024	11,3	10,7	94,6

### 15.5. Efectul de transfer

Efectul de transfer (carryover) a fost investigat prin testarea a trei mostre negative înainte și după două mostre înalt pozitive. Rezultatele obținute demonstrează faptul că nu se observă nici un efect de transfer în condițiile utilizării analizorului LIAISON®.

### 15.6. Efectul de tip hook la doză înaltă

Atunci când sunt testate prin metoda de tip *sandwich* mostre ce conțin concentrații extrem de ridicate de anticorpi, efectul de tip hook poate genera mărirea unor concentrații mai mici decât cele reale. Pentru o cuantificare corectă, mostrele conținând niveluri mai mari decât intervalul de măsurare trebuie să fie diluate cu o mostră negativă sau cu diluant pentru mostre LIAISON® Anti-HBs Plus, și re-testate. Rezultatele vor fi, apoi, înmulțite cu factorul de diluție pentru a obține nivelurile mostrelor nediluate.

Setul a fost conceput astfel încât dozele de până la 95.000 mUI/mL de anti-HBs să producă un semnal analitic care să se situeze, în continuare, deasupra intervalului de măsurare.

Analiza efectului de tip hook a fost evaluată prin testarea a două mostre pozitive, cu titru ridicat, la anticorpi anti-HBs. Toate mostrele au dat valori ale concentrației mai mari decât intervalul de măsurare previzibil pentru serurile cu titre înalte, indicând clasificarea corectă a mostrelor.

### 15.7. Specificitate și sensibilitate diagnostică

Specificitatea și sensibilitatea diagnostică au fost evaluate prin testarea a 1759 de mostre de la diferite populații selecționate (donatori de sânge, subiecți care nu au fost niciodată infectați cu HBV, femei gravide, pacienți dializați, primitori de transplant, subiecți cu infecție HBV în antecedente, subiecți vaccinați pentru HBV, pacienți afectați de hepatita cu HBV). Mostrele au fost testate prin câteva metode comparative, iar consensul rezultatelor obținute prin aceste metode precum și datele clinice și serologice disponibile au fost utilizate pentru a defini rezultatele previzionate. 17 mostre nu au putut fi evaluate prin metodele de referință, prin urmare nu au fost luate în considerare la analiza datelor.

La primul test pe populația cunoscută ca negativă aflată în studiu au fost constatate 3 rezultate pozitive, un rezultat echivoc și 1182 de rezultate negative - specificitate diagnostică: 99,66% (95% interval de confidență: 99,14-99,91%).

După testarea repetată a mostrelor echivoce, pe populația cunoscută ca negativă aflată în studiu, au fost constatate 4 rezultate pozitive și 1182 rezultate negative - specificitate diagnostică: 99,66% (95% interval de confidență: 99,14-99,91%).

După testarea repetată a mostrelor echivoce, pe populația cunoscută ca pozitivă aflată în studiu, au fost constatate zero rezultate negative și 556 rezultate pozitive - sensibilitate diagnostică: 100% (95% interval de confidență: 99,34-100%).

În plus, sensibilitatea diagnostică a fost concordantă cu cea constatată prin metode comparative, la testarea mostrelor provenite de la 10 de pacienți aflați în cursul seroconversiei (vaccinare de urmărire).

### LIAISON® Control Anti-HBs (310121)

**1. Destinație.** Controlurile LIAISON® Anti-HBs (310121) sunt destinate spre a fi utilizate în metoda de dozare imunologică prin chemiluminescență (CLIA) LIAISON®, pentru verificarea gradului de veridicitate al procedurilor de dozare. Caracteristicile de performanță ale controlurilor LIAISON® nu au fost stabilite pentru alte dozări sau aparate automate.

### 2. Materialele furnizate

Control negativ (2 x 2,5 mL)	Ser/plasmă umană lipsită de anticorpi anti-HBs, tampon TRIS și conservanți.
Control pozitiv (2 x 2,5 mL)	Ser/plasmă umană conținând anticorpi anti-HBs (umani), EDTA și conservanți.

Toți reactivii sunt furnizați în stare gata de utilizare. Intervalul concentrațiilor pentru fiecare control este înscris pe eticheta fiolei respective și indică limitele stabilite de DiaSorin pentru valorile controlurilor care pot fi obținute în cadrul procedurilor de dozare veridice. Fiecare laborator este responsabil de adoptarea a diverse limite în scopul întrunirii cerințelor individuale. Controlurile nu au specificitate de lot de seturi și pot fi schimbate în siguranță, chiar și între loturi diferite.

**3. Depozitare și stabilitate.** După recepționare, controlurile trebuie menținute la 2-8°C în poziție verticală, pentru a preveni aderența soluției la dopul fiolei. Nu congelați. Atunci când controlurile sunt depozitate în stare sigilată și în poziție verticală, ele sunt stabile, la 2-8°C, până la data de expirare. După deschiderea recipientului, controlurile sunt stabile timp de patru săptămâni, în condiții de depozitare corespunzătoare, la 2-8°C, între două utilizări succesive. A se evita contaminarea bacteriană a controlurilor. Controlurile nu trebuie utilizate după data de expirare indicată pe etichetele fiolelor.

În momentul utilizării, aduceți controlurile la temperatura camerei (20-25°C) înainte de a deschide fiolele și mențineți-le încărcate în aparat numai pe timpul necesar testării pentru controlul de calitate. După utilizare, puneți imediat dopurile fiolelor și depozitați-le la 2-8°C, în poziție verticală. Volumul inert este de 400 µL.

200/007-843, G - 03/2007