

REF



SYSTEM

07028164119

07028164500

300

cobas e 801

Français

Informations techniques

Nom abrégé	ACN (code d'application)
CHAGAS	10146

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination qualitative des anticorps dirigés contre *Trypanosoma cruzi* (T. cruzi, agent étiologique de la maladie de Chagas) dans le sérum et le plasma humains. Le test est indiqué comme un outil permettant le diagnostic d'une infection par *Trypanosoma cruzi*. Ce test est également indiqué comme test de dépistage des donneurs afin de détecter les anticorps anti-*Trypanosoma cruzi* dans des échantillons de sérum ou de plasma provenant de donneurs de sang humains individuels. Son usage est aussi prévu pour dépister des donneurs d'organe lorsque les échantillons de sérum ou de plasma sont prélevés pendant que le cœur du donneur bat encore.

Ce test par électrochimiluminescence « ECLIA » s'utilise sur le système d'immunoanalyse **cobas e 801**.

Note: Veuillez noter que le numéro apparaissant sur l'encart détient seulement les 8 premiers chiffres du numéro de catalogue à 11 chiffres qui est homologué: 07028164190 pour le test Elecsys Chagas. Les 3 derniers chiffres

-190 ont été remplacés par -119 à des fins logistiques.

Caractéristiques

La maladie de Chagas (ou trypanosomose américaine) est une affection parasitaire transmise par le protozoaire flagellé *Trypanosoma cruzi*.² Le parasite est généralement transmis par le trianome, insecte hématophage de la famille des réduvidés dans les zones endémiques, mais peut l'être également par transfusion sanguine, transplantation d'organes, voie transplacentaire, ingestion d'aliments contaminés et lors d'accidents de laboratoire.^{2,3}

T. cruzi se trouve sur l'ensemble du continent américain, excepté dans des cas isolés où les personnes ont été infectées par des parasites importés de régions non endémiques (Extrême Orient, Australie, Europe, par exemple).^{4,5,6} On estime à 6-7 millions le nombre de personnes infectées dans le monde, principalement en Amérique latine, parmi lesquelles 20 à 30 % développent les symptômes de la maladie de Chagas pouvant entraîner la mort.^{6,7}

L'histoire naturelle de l'infection est caractérisée par une phase aiguë et une phase chronique. La phase aiguë de l'infection dure 8 à 12 semaines durant lesquelles la plupart des patients restent asymptomatiques ou présentent des symptômes non spécifiques.⁵ Les patients développent une forte réponse immunitaire à une variété d'antigènes T. cruzi et une diminution du taux de parasites peut être observée. La phase chronique commence quand la parasitémie chute au-dessous des taux détectables au microscope (en l'absence de traitement antitrypanosomique). L'infection persiste à vie et est la plupart du temps asymptomatique. Le diagnostic de la maladie de Chagas est généralement fait par sérologie, biopsie ou PCR. Une sérologie positive est considérée comme un signe d'infection active ou d'exposition antérieure à T. cruzi. Les patients asymptomatiques à sérologie positive peuvent transmettre le parasite à l'insecte vecteur et contaminer directement d'autres personnes par transfusion sanguine, dons d'organes ou par voie transplacentaire.⁸

La détermination des anticorps spécifiques de T. cruzi permet de dépister le sang des sujets infectés par T. cruzi. Pour la détermination des anticorps dirigés contre T. cruzi, le test Elecsys Chagas utilise des antigènes recombinants représentant FCaBP, FRA et la cruzipaine.

Principe

Méthode « sandwich ». Durée totale du cycle analytique: 18 minutes

- 1ère incubation: 18 µL d'échantillon sont mis en présence d'antigènes recombinants spécifiques de T. cruzi biotinylés et d'antigènes recombinants spécifiques de T. cruzi marqués au ruthénium⁹. Il se forme un « sandwich ».
- 2ème incubation: les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immun est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.

- Le mélange réactionnel est aspiré dans la cellule de mesure où les microparticules sont maintenues au niveau de la surface de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell II M. Une différence de potentiels appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Le logiciel détermine automatiquement les résultats en comparant le signal électrochimiluminescent généré par la réaction avec la valeur seuil ayant été obtenue lors d'une calibration.

a) Ru(bpy)₃²⁺: Tris(2,2'-bipyridyl)ruthénium(II)

Réactifs - composition et concentrations

Le **cobas e pack** (M, R1, R2) est étiqueté CHAGAS.

- M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon, 14.1 mL:
Microparticules tapissées de streptavidine 0.72 mg/mL; conservateur
- R1 Ag T. cruzi~biotine, 1 flacon, 16.7 mL:
Antigènes (recombinants, E. coli) spécifiques de T. cruzi biotinylés > 100 µg/L; tampon MES^{b)} 50 mmol/L, pH 6.5; conservateur
- R2 Ag T. cruzi~Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacon, 16.7 mL:
Antigènes spécifiques de T. cruzi (recombinants, E. coli) ruthénylés > 100 µg/L; tampon MES 50 mmol/L, pH 6.5; conservateur

b) MES = acide morpholino-2 éthanesulfonique

CHAGAS Cal1 Calibrateur 1 négatif, 1 flacon de 1.0 mL:
Sérum humain, non réactif pour les anticorps anti-T. cruzi; tampon; conservateur

CHAGAS Cal2 Calibrateur 2 positif, 1 flacon de 1.0 mL:
Sérum humain, réactif pour les anticorps anti-T. cruzi; tampon; conservateur

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic in vitro.

Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire. L'élimination de tous les déchets devrait être effectuée conformément aux dispositions légales.

Fiche de données de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.

Tous les matériaux d'origine humaine doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Les calibrateurs (CHAGAS Cal1, CHAGAS Cal2) ont été préparés uniquement à partir de sang de donneurs où la recherche de l'Ag HBs et des anticorps anti-VHC et anti-VIH a conduit à un résultat négatif.

Le sérum contenant des IgG anti-T. cruzi (CHAGAS Cal2) a été stérilisé par filtration.

Les méthodes utilisées pour le dépistage étaient approuvées par la FDA ou conformes à la directive européenne 98/79/CE, Annexe II, liste A.

Cependant, comme le risque d'infection ne peut être exclu avec certitude par aucune méthode, ce produit doit être traité avec le même soin que les échantillons de patients. En cas d'exposition, suivre les directives de l'autorité compétente en matière de santé.^{9,10}

Éviter la formation de mousse dans les réactifs et les échantillons de tous types (échantillons de patients, calibrateurs et contrôles).

Préparation des réactifs

Les réactifs (M, R1, R2) sont prêts à l'emploi dans le **cobas e pack**.

Calibrateurs

Les calibrateurs sont prêts à l'emploi dans des flacons adaptés aux analyseurs.

Si les calibrateurs prêts à l'emploi ne sont pas entièrement utilisés pour la calibration, les fractionner en aliquotes dans des godets vides à bouchon (CalSet Vials). Identifier les godets utilisés avec les étiquettes jointes au coffret. Conserver les aliquotes entre 2 et 8 °C pour un usage ultérieur.

Effectuer **une seule** procédure de calibration par aliquote.

Toutes les informations nécessaires au déroulement correct du test sont disponibles via **cobas** link.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8 °C.

Ne pas congeler.

Ranger le **cobas e** pack **en position verticale**, de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées pour l'homogénéisation automatique qui précède l'analyse.

Stabilité du cobas e pack	
avant ouverture, entre 2 et 8 °C	jusqu'à la date de péremption indiquée
sur l'analyseur cobas e 801	16 semaines

Stabilité des calibrateurs	
avant ouverture, entre 2 et 8 °C	jusqu'à la date de péremption indiquée
après ouverture, entre 2 et 8 °C	16 semaines
sur l'analyseur cobas e 801, entre 20 et 25 °C	usage unique

Conserver les calibrateurs **en position verticale** pour éviter qu'une partie de la solution ne reste dans les bouchons.

Prélèvement et préparation des échantillons

Seuls les types d'échantillons indiqués ci-dessous ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum recueilli sur tubes de prélèvement standard ou contenant un gel séparateur.

Plasma recueilli sur héparinate de lithium, EDTA dipotassique, EDTA tripotassique, ACD, CPD, CP2D, CPDA et citrate de sodium.

Les tubes de prélèvement de plasma contenant un gel séparateur peuvent être utilisés.

Critère d'acceptabilité: échantillons négatifs retrouvés négatifs et échantillons positifs retrouvés positifs. Échantillons avec un rapport échantillon/seuil (E/S) ≥ 1.0 : recouvrement $\pm 20\%$; échantillons avec un E/S < 1.0 : E/S ± 0.20

Stabilité: 7 jours entre 20 et 25 °C, 14 jours entre 2 et 8 °C, 12 mois à -20 °C (± 5 °C). Les échantillons peuvent être congelés 6 fois.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes ou systèmes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons décongelés et les échantillons contenant un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons de patients et des calibrateurs se situe entre 20 et 25 °C.

En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons et les calibrateurs dans les 2 heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs.

Les performances analytiques du test Elecsys Chagas avec les échantillons de cadavres ou de fluides corporels autres que le sérum et le plasma n'ont pas été établies.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire

- [REF] 07092571190, PreciControl Chagas, 16 x 1.0 mL
- [REF] 11776576322, CalSet Vials, 2 x 56 godets vides à bouchon
- Équipement habituel de laboratoire
- Analyseur **cobas e** 801

Matériel auxiliaire pour l'analyseur **cobas e** 801:

- [REF] 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L, tampon système
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L, solution de lavage pour la cellule de mesure
- [REF] 07485409001, Reservoir Cups, 8 réservoirs pour ProCell II M et CleanCell M
- [REF] 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L, tampon système
- [REF] 05694302001, Assay Tip/Assay Cup tray, 6 x 6 blocs de 105 embouts de pipettes et 105 cuvettes, 3 boîtes à déchets
- [REF] 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 tubes adaptateurs pour ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean pour Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- [REF] 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 tube adaptateur pour ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean pour Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- [REF] 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL, solution de lavage du système

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules.

Placer le **cobas e** pack réfrigéré (entre 2 et 8 °C) dans le compartiment réactif. Éviter la formation de mousse. L'analyseur gère le contrôle de la température des réactifs et l'ouverture/fermeture du **cobas e** pack.

Calibrateurs:

Placer les calibrateurs sur le plateau échantillon.

Saisir toutes les informations nécessaires à la calibration du test.

Calibration

Fréquence des calibrations: effectuer une calibration par lot en utilisant les calibrateurs CHAGAS Cal1, CHAGAS Cal2, et un réactif frais (**cobas e** pack ayant été enregistré au maximum 24 heures sur l'analyseur).

La fréquence de calibration peut être réduite après une vérification acceptable de la calibration par le laboratoire.

Une nouvelle calibration est recommandée:

- après 12 semaines pour un même lot de réactif
- après 28 jours (pour un même **cobas e** pack resté sur l'analyseur)
- si nécessaire: par ex. si les résultats du contrôle de qualité se situent en dehors des limites de confiance définies

Domaine théorique des signaux d'électrochimiluminescence (coups) des calibrateurs:

Calibrateur négatif (CHAGAS Cal1): 400-2500

Calibrateur positif (CHAGAS Cal2): 12000-300000

Contrôle de qualité

Utiliser PreciControl Chagas.

Il est recommandé de réaliser un dosage simple des contrôles (sans réplique) au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau **cobas e** pack et après chaque calibration.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance devraient être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats devraient se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devrait établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Le cas échéant, refaire une analyse des échantillons concernés.

Se conformer à la réglementation et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

L'analyseur calcule automatiquement la valeur seuil à partir des mesures de CHAGAS Cal1 et CHAGAS Cal2. Le résultat pour un échantillon est présenté comme réactif ou non réactif ou sous forme de rapport échantillon/seuil (E/S).

Interprétation des résultats

Résultat numérique	Alerte résultat	Interprétation/ étapes suivantes
E/S < 1.0	Non réactif	Négatif pour les anticorps anti-T. cruzi
E/S ≥ 1.0	Réactif	Positif pour les anticorps anti-T. cruzi

Limites d'utilisation - interférences

L'influence des substances endogènes et médicamenteuses suivantes sur les performances analytiques du test a été recherchée. Les interférences ont été testées jusqu'aux concentrations indiquées. Aucune influence sur les résultats n'a été observée.

Substances endogènes

Substance	Concentration testée
Bilirubine	≤ 1129 µmol/L ou ≤ 66 mg/dL
Hémoglobine	≤ 0.62 mmol/L ou ≤ 1000 mg/dL
Intralipid	≤ 2000 mg/dL
Biotine	≤ 287 nmol/L ou ≤ 70 ng/mL
Facteur rhumatoïde	≤ 1200 UI/mL
Albumine	≤ 7.0 g/dL
IgG	≤ 7.0 g/dL
IgA	≤ 1.6 g/dL
IgM	≤ 1.0 g/dL

Critère d'acceptabilité: Échantillons avec un E/S ≥ 1.0: recouvrement ± 20 %; Échantillons avec un E/S < 1.0: recouvrement E/S ± 0.20

Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.

Dans le test Elecsys Chagas, l'effet crochet ne conduit pas à l'obtention de résultats faussement négatifs.

Un résultat négatif n'exclut pas complètement la présence d'une infection à T. cruzi.

Substances pharmaceutiques

L'influence de 16 médicaments fréquemment administrés a été recherchée in vitro. Aucune interférence n'a été observée.

Par ailleurs, les spécialités suivantes, utilisées dans le traitement de la maladie de Chagas, ont été testées. Aucune interférence n'a été observée.

Spécialités

Médicament	Concentration testée mg/L
Benznidazole	≤ 360
Nifurtimox	≤ 720

Dans de rares cas, des titres extrêmement élevés d'anticorps dirigés contre des anticorps spécifiques de l'analyte, la streptavidine ou le ruthénium peuvent conduire à des interférences. Ces effets sont minimisés dans le test par un procédé approprié.

Pour le diagnostic, les résultats devraient toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Le test Elecsys Chagas est très sensible aux dilutions. Éviter toute contamination des échantillons au cours des manipulations pré-analytiques.

Limites et intervalles

Limite de détection: ≤ 10 mUI OMS/mL

La sensibilité a été déterminée en mesurant le titre d'anticorps anti-T. cruzi correspondant au signal de la valeur seuil relevée sur des courbes de référence résultant de dilutions en cascade du 1^{er} panel de référence d'anticorps contre Chagas de l'OMS (1st Int. Std. for Chagas (TcI) antibody in human plasma NIBSC 09/188 + 1st Int. Std. for Chagas (TcII) antibody in human plasma NIBSC 09/186) dans du sérum humain négatif pour les anticorps dirigés contre T. cruzi.

Valeurs de référence

La prévalence des anticorps IgG anti-T. cruzi varie considérablement en fonction de la géographie et de la population examinée.

Performances analytiques

Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La précision a été déterminée à l'aide de réactifs Elecsys, d'échantillons et de contrôles, selon un protocole (EP05-A3) du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Chaque échantillon a été dosé en double dans 2 séries par jour pendant 21 jours (n = 84). Les résultats suivants ont été obtenus:

Analyseur cobas e 801					
		Répétabilité		Précision intermédiaire	
Échantillon	Moyenne E/S	SD E/S	CV %	SD E/S	CV %
SH ^{c)} négatif	0.085	0.001	1.4	0.001	1.6
SH faiblement positif	1.13	0.011	1.0	0.018	1.6
SH, fortement positif	9.31	0.135	1.4	0.221	2.4
PC ^{d)} Chagas 1	0.084	0.001	1.2	0.001	1.7
PC Chagas 2	3.44	0.031	0.9	0.057	1.7

c) SH = sérum humain

d) PC = PreciControl

Spécificité analytique

Un total de 594 échantillons infectés par d'autres maladies de régions endémiques et non endémiques ont été testés avec le test Elecsys Chagas. Les résultats suivants ont été obtenus:

Maladie	n	Non réactifs	Réactifs
EBV	26	26	0
Leishmaniose	241	241	0
Malaria	204	203	1
Dengue	87	87	0
Syphilis	19	19	0
Toxoplasmose	15	15	0
Trypanosomiase africaine (<i>T. brucei</i>)	2	2	0
Total	594	593	1

6 autres échantillons (dengue: 5, leishmaniose: 1) ont été exclus du tableau. Ces échantillons provenaient de régions endémiques pour la

maladie de Chagas et étaient réactifs dans le test Elecsys Chagas et un autre test de détection des anticorps contre Chagas.

Sensibilité relative

La sensibilité relative a été évaluée sur un total de 674 échantillons de patients à différents stades de la maladie de Chagas provenant d'un centre de référence d'Espagne et de régions endémiques d'Amérique latine. Tous les échantillons étaient soit prédéfinis comme positifs par PCR (n = 158), soit considérés comme réactifs par au moins 3 méthodes sérologiques (n = 516). 135 échantillons provenant du groupe de sérologie positive pour la maladie de Chagas comprenaient par ailleurs des informations cliniques permettant d'établir le stade de la maladie.

Tous les échantillons Chagas positifs ont été retrouvés réactifs. La sensibilité globale relative obtenue était de 100 % (intervalle de confiance à 95 % bilatéral entre 99.45 et 100 %).

Spécificité relative

La spécificité relative a été évaluée à l'aide d'échantillons de sérum/plasma frais ou congelés de cohortes de donneurs de sang (n = 14681), patients hospitalisés (n = 517) et femmes enceintes (n = 313) collectés dans quatre centres de dons de sang en Italie, Allemagne, Colombie et Argentine. La cohorte de 9635 échantillons de dons de sang d'Europe incluait 5244 échantillons de donneurs provenant d'une région méditerranéenne endémique de la leishmaniose. 5046 échantillons provenaient de donneurs d'Amérique latine.

Les échantillons trouvés réactifs pour les anticorps anti-T. cruzi dans au moins une méthode ont été confirmés par deux centres de référence selon leurs algorithmes de diagnostic. La spécificité relative pour ces cohortes est résumée dans le tableau suivant:

Cohorte	n	Spécificité relative, % (IC ^{e)} 95 % bilatéral)
Donneurs de sang	14681 ^{f)}	99.90 (99.83-99.94)
Femmes enceintes	313	100 (98.83-100)
Patients hospitalisés	517	100 (99.29-100)

e) IC = intervalle de confiance

f) 8 échantillons confirmés réactifs ont été exclus du calcul de la spécificité.

Références bibliographiques

- Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet* 2010;375:1388-1402.
- Pan American Health Organisation. Chagas Disease (American Trypanosomiasis).
- Gascon J, Bern C, Pinazzo MJ, Chagas disease I Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop* 2010;115:22-27.
- Bern C, Chagas disease. *N Engl J Med* 2015. 373: 456-466.
- Chagas Disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. *Wkly Epidemiol Rec* 2015;90:33-43.
- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/> (Accessed February 16, 2016)
- Maguire JH, Trypanosoma. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2004.
- Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

Pour de plus amples informations, se référer au manuel d'utilisation de l'analyseur concerné, aux fiches techniques respectives et aux notices d'utilisation de tous les réactifs nécessaires disponibles dans votre pays.

Dans cette fiche technique, le séparateur décimal pour distinguer la partie décimale de la partie entière d'un nombre décimal est un point. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Symboles

Roche Diagnostics utilise les signes et les symboles suivants en plus de ceux de la norme ISO 15223-1 (pour les USA : voir <https://usdiagnostics.roche.com> pour la définition des symboles utilisés) :

	Contenu du coffret
	Analyseurs/appareils compatibles avec les réactifs
	Réactif
	Calibrateur
	Volume après reconstitution ou homogénéisation
	Code article international

Les ajouts, modifications ou suppressions sont signalés par une barre verticale dans la marge.

© 2018, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

