

REF



SYSTEM

07027427119

07027427500

300

cobas e 801

Français

Informations techniques

Nom abrégé	ACN (code d'application)
HBEAG	10036

Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination qualitative in vitro de l'antigène e du virus de l'hépatite B (Ag HBe) dans le sérum et le plasma humains.

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 : 07027427190 pour le test Elecsys HBeAg. Les 3 derniers chiffres -190 ont été remplacés par -119 à des fins logistiques.

Caractéristiques

Le virus de l'hépatite B (VHB) se transmet par exposition percutanée ou cutanéomuqueuse à du sang ou des liquides organiques contaminés (salive, muqueuse vaginale, menstruation, liquide séminal, etc.).¹ Si la majorité des adultes guérissent de l'infection à VHB, 10 % restent porteurs asymptomatiques du virus ou développent une hépatite chronique qui peut conduire à une cirrhose et/ou un cancer hépatique.^{2,3} Malgré l'immunisation, le VHB est encore prévalent avec environ 250 millions de patients chroniques dans le monde et pose un sérieux problème pour la sécurité transfusionnelle, particulièrement dans les pays fortement endémiques.^{4,5}

Le diagnostic sérologique de l'infection à VHB comprend la détection d'antigènes et/ou d'anticorps spécifiques pour identifier les différentes phases de l'infection à VHB et déterminer si un patient est porteur d'une infection à VHB aiguë ou chronique, susceptible de contracter l'infection ou immunisé contre le VHB par une infection antérieure ou une vaccination.^{6,7} Les marqueurs du VHB sont également utilisés de façon routinière dans le dépistage des patients et des donneurs de sang.⁷

L'antigène e du virus de l'hépatite B (Ag HBe) est un produit du gène pré-C/C qui peut être décelé dans les hépatocytes au cours de la réplication du virus de l'hépatite B (VHB). Il est un élément diagnostique important dans la détermination du statut des infections à VHB en cours. La présence d'Ag HBe est liée en général à la présence du virus en quantité importante, celui-ci étant témoin de la réplication virale.^{4,8,9} L'Ag HBe peut être détecté dans le sérum peu de temps après l'Ag HBs au cours de la phase aiguë des infections à VHB et disparaît habituellement avant l'Ag HBs quand le taux d'alanine aminotransférase (ALT) est au pic et est suivi par l'apparition de l'anticorps correspondant (anti-HBe).^{9,10} L'Ag HBe peut être détecté quand la réplication virale est élevée lors d'infections auto-limitées comme lors d'hépatite B chronique; sa présence sur plus de 10 semaines indique la transition vers une infection persistante. La séroconversion de Ag HBe en anticorps anti-HBe suggère la fin de la réplication active et est donc associée avec la résolution clinique (auto-limitée) ou la rémission (affection chronique), et marque la transition de la phase immune active de la maladie vers le stade de porteur inactif.^{6,8,9,11} L'infection à VHB peut se manifester sans que l'Ag HBe ne soit détectable en raison de l'existence de codons stop précocore mutants; même si le virus ne peut plus produire d'Ag HBe, l'infection reste active et des anticorps anti-HBe peuvent être présents.^{8,12,13}

Il est donc pertinent de doser les anticorps anti-HBe parallèlement à l'Ag HBe dans les suivis évolutifs et thérapeutiques de l'infection à VHB et de l'hépatite B chronique.^{6,8,9,11} Le test Elecsys HBeAg utilise des anticorps monoclonaux (de souris) anti-HBe pour détecter l'Ag HBe.

Principe

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

- 1ère incubation: une prise d'essai de 21 µL est mise en présence d'un anticorps monoclonal spécifique d'Ag HBe marqué à la biotine et d'un anticorps monoclonal spécifique d'Ag HBe marqué au ruthénium^{a)}. 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 transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell II M. Une différence de potentiel 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 HBEAG.

- M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon, 12.4 mL:
Microparticules tapissées de streptavidine 0.72 mg/mL; conservateur
- R1 Ac anti-Ag HBe-biotine, 1 flacon, 21.0 mL:
Anticorps monoclonal (souris) anti-Ag HBe biotinylé > 0.8 mg/L;
tampon TRIS 50 mmol/L, pH 7.4; conservateur
- R2 Ac anti-Ag HBe-Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacon, 14.8 mL:
Anticorps monoclonal (souris) anti-Ag HBe ruthénylé > 0.3 mg/L;
tampon TRIS 50 mmol/L, pH 7.4; conservateur

HBEAG Cal1 Calibrateur 1 négatif, 1 flacon de 1.0 mL:
Sérum humain; conservateur

HBEAG Cal2 Calibrateur positif 2, 1 flacon de 1.0 mL:
Ag HBe (E. coli, ADN^r) ≥ 3.5 UI/mL dans un tampon
HEPES^{b)}, pH 7.4; conservateur

b) HEPES: acide [(hydroxy-2 éthyl)-4 pipérazinyl-1]-2 éthanesulfonique

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 doit 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. Tous les dérivés de sang humain utilisés ont été préparés uniquement à partir de sang de donneurs où la recherche de l'antigène HBs et des anticorps anti-VHC et anti-VIH a conduit à un résultat négatif. 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.^{14,15}

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 couvercles.

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, de sodium, 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 avec un rapport échantillon/seuil (E/S) ≥ 1.0 : recouvrement $\pm 20\%$; Échantillons avec un E/S < 1.0 : recouvrement ± 0.20

Stabilité: 7 jours entre 20 et 25 °C, 14 jours entre 2 et 8 °C (plasma), 11 jours entre 2 et 8 °C (sérum), 3 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 contenant un précipité, les échantillons décongelés et les échantillons de réanalyse doivent être centrifugés avant l'analyse.

Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur.

Les échantillons ou contrôles stabilisés par de l'azide ne doivent pas être utilisés.

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 HBeAg 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 ».

- 2 x 6 étiquettes

Matériel auxiliaire nécessaire

- [REF 11876376122](#), PreciControl HBeAg, 16 x 1.3 mL
- [REF 11776576322](#), CalSet Vials, 2 x 56 godets vides à bouchon
- [REF 07299001190](#), Diluent Universal, 45.2 mL, diluant pour échantillon

- 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) sur le Reagent Manager. 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

Traçabilité: La méthode a été standardisée par rapport au 1^{er} standard international de l'OMS pour l'antigène e du virus de l'hépatite B (HBeAg, code 129097/12) de l'Institut Paul-Ehrlich (Langen, Allemagne).

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

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 les résultats du contrôle de qualité avec PreciControl HBeAg se situent en dehors des limites de confiance.

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

Calibrateur négatif (HBEAG Cal1): 400-2000
Calibrateur positif (HBEAG Cal2): 20000-100000

Contrôle de qualité

Utiliser PreciControl HBeAg.

Il est recommandé de doser les sérums de contrôle en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque **cobas e** pack et après chaque calibration.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra 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 gouvernementale 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 HBEAG Cal1 et HBEAG 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
E/S < 1.0	Non réactif	Négatif pour Ag HBe
E/S ≥ 1.0	Réactif	Positif pour Ag HBe

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	≤ 428 µmol/L ou ≤ 25 mg/dL
Hémoglobine	≤ 0.621 mmol/L ou ≤ 1000 mg/dL
Intralipid	≤ 1500 mg/dL
Biotine	≤ 164 nmol/L ou ≤ 40 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 ± 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 HBeAg, l'effet crochet ne conduit pas à l'obtention de résultats faussement négatifs.

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 l'hépatite B, ont été testées. Aucune interférence n'a été observée.

Spécialités

Médicament	Concentration testée mg/L
Peginterféron alfa-2a	≤ 0.18
Peginterféron alfa-2b	≤ 0.08
Lamivudine	≤ 300
Adéfovir	≤ 10
Entécavir	≤ 1
Telbivudine	≤ 600
Ténofovir	≤ 245

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

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

Limites et intervalles

Sensibilité pour le seuil: ≤ 0.3 UI/mL

La sensibilité a été déterminée en mesurant le titre d'Ag HBe correspondant au signal de la valeur seuil, relevé sur des courbes de référence résultant de dilutions sérielles du standard de référence Ag HBe de l'OMS avec du sérum humain exempt de VHB.

Dilution

Pour diluer les échantillons, utiliser Diluent Universel ou du sérum humain VHB négatif.

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					
Échantillon	Moyenne E/S	Répétabilité ^{c)}		Précision intermédiaire ^{d)}	
		SD E/S	CV %	SD E/S	CV %
SH ^{e)} négatif	0.103	0.004	4.1	0.004	4.1
SH faiblement positif	1.08	0.017	1.6	0.034	3.1
SH positif	2.34	0.036	1.5	0.056	2.4
PreciControl HBeAg 1	0.095	0.004	3.8	0.004	4.2
PreciControl HBeAg 2	15.9	0.138	0.9	0.450	2.8

c) Répétabilité = précision intra-série

d) Précision intermédiaire = précision inter-séries

e) SH = sérum humain

Spécificité analytique

Aucune interférence avec VHA, VHC, VHE, CMV, EBV, HSV, VIH, E. coli, Toxoplasma gondii, Rubella et Treponema pallidum n'a été observée.

Dans chaque cas, ≥ 5 échantillons de sérum et de plasma, positifs en anticorps pour les agents cités, ou contenant des autoanticorps (ANA), ont été testés.

Aucun résultat faussement positif n'a été observé dans les échantillons de sujets après vaccination anti-VHB ou anti-grippale et de patients présentant une infection hépatique non virale.

Aucun résultat faussement positif n'a été observé dans des échantillons de sujets hémophiles, homosexuels et toxicomanes intraveineux.

Sensibilité clinique

245 échantillons de patients présentant une infection aiguë ou persistante à VHB ont été testés et trouvés réactifs dans le test Elecsys HBeAg et un test de comparaison.

Spécificité clinique

La spécificité du test a été déterminée à partir d'échantillons de donneurs de sang, de routine et de patients hospitalisés pris au hasard.

Population	Nombre testé	Echantillons réactifs	Spécificité %
Donneurs de sang	1000	0	100
Échantillons de routine et de patients hospitalisés	1000	3 ^{f)}	100

f) Sur 1000 échantillons de routine ou de patients hospitalisés, 3 ont été trouvés réactifs avec le test Elecsys HBeAg et le test de comparaison et ont pu être confirmés VHB positifs. Ils ont été exclus du calcul de la spécificité.

Références bibliographiques

- World Health Organization (WHO), 2015. Hepatitis B. Fact sheet N°204. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>

- Kim do Y, Han KH. Epidemiology and Surveillance of Hepatocellular Carcinoma. *Liver Cancer* 2012;1(1):2-14.
- Liang T.J. Hepatitis B: The Virus and Disease. *Hepatology* 2009;49(5 Suppl):13-21.
- Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*. 2015;386(10003):1546-1555.
- Song Y, Bian Y, Petzold M, et al. Prevalence and Trend of Major Transfusion-Transmissible Infections among Blood Donors in Western China, 2005 through 2010. *PLoS One*. 2014;9(4):e94528.
- Elgouhari HM, Abu-Rajab Tamini TI, Carey W. Hepatitis B virus infection: understanding its epidemiology, course, and diagnosis. *Cleve Clin J Med* 2008;75:881-889.
- World Health Organization (WHO), 2009. Screening Donated Blood for Transfusion-Transmissible Infections. Recommendations. Available at: <http://www.who.int/bloodsafety/ScreeningTTI.pdf> (last access January, 2016).
- Seeger C, Zoulim F, Mason WS. Hepadnaviruses. In: Field's Virology, Knipe DM, Howley RM (eds), 2007 5th edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA. Chapter 76, pp2977-3029.
- Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2009;373:582-592.
- Turgeon ML. Immunology & Serology in Laboratory Medicine, 2013 5th edition, Elsevier Health Sciences, Missouri, USA. Chapter 23.
- Liaw YF. HBeAg seroconversion as an important end point in the treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009;3:425-433.
- Negro F. Management of chronic hepatitis B: an update. *Swiss Med Wkly* 2011;141:w13264.
- Marcellin P. Hepatitis B and hepatitis C in 2009. *Liver Int* 2009;29(S1):1-8.
- 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, au dossier « Product Information » et aux notices d'utilisation de tous les réactifs nécessaires disponibles dans votre pays.

Dans cette fiche technique, le séparateur décimal pour partager 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:

	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.

© 2016, Roche Diagnostics



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

