Høgskulen på Vestlandet

BIO160 Bacheloroppgave og Plakat Gruppe A - Bioingeniør

BIO160

Predefinert informasjon

Startdato:	26-05-2021 12:12	**Termin:**	2021 VÅR
Sluttdato:	28-05-2021 14:00	**Vurderingsform:**	Bestått/ikke bestått
Eksamensform:	Bacheloroppgave (skriftlig i gruppe)		
Flowkode:	203 BIO160 1 O 2021 VÅR		
Intern sensor:	Karl Albert Brokstad		

Deltaker

Navn:	Marte Gisvold Myrseth
Kandidatnr.:	233
HVL-id:	580671@hvl.no

Informasjon fra deltaker

Antall ord *:	11748

Egenerklæring *:	Ja	**Inneholder besvarelsen konfidensielt materiale?:**	Nei
Jeg bekrefter at jeg har registrert oppgavetittelen på norsk og engelsk i StudentWeb og vet at denne vil stå på vitnemålet mitt *:	Ja		

Gruppe

Gruppenavn:	Gruppe A4
Gruppenummer:	1
Andre medlemmer i gruppen:	Julie Stenkleu Mykland, Marie Sofie Ressem

Jeg godkjenner avtalen om publisering av bacheloroppgaven min *

Ja

Er bacheloroppgaven skrevet som del av et større forskningsprosjekt ved HVL? *

Nei

Er bacheloroppgaven skrevet ved bedrift/virksomhet i næringsliv eller offentlig sektor? *

Ja, Haukeland universitetssjukehus

Høgskulen på Vestlandet

BACHELOROPPGAVE

Påvisning av hepatitt D; metodeverifisering av anti-HDV på Liaison XL, og sammenligning av to Liaison XL instrumenter

Detection of hepatitis D; method verification of anti-HDV on Liaison XL, and instrument comparison of two Liaison XL instruments

Julie Mykland, Marte Myrseth og Marie Sofie Ressem

Bachelor i Bioingeniørfag

Fakultet for ingeniør- og naturvitskap

Institutt for bio- og kjemiingeniørfag

Veiledere: Karl Albert Brokstad (HVL), Håvard Daae Fosse og Catherine Davanger (MIA, HUS)

28.05.2021

Jeg bekrefter at arbeidet er selvstendig utarbeidet, og at referanser/kildehenvisninger til alle kilder som er brukt i arbeidet er oppgitt, *jf. Forskrift om studium og eksamen ved Høgskulen på Vestlandet, § 12-1.*

Sammendrag

Introduksjon:
Analyser av hepatitt D-virus (HDV) blir i dag utført ved Folkehelseinstituttet (FHI). For å korte ned på svartiden, ønsker Haukeland universitetssjukehus å utføre denne analysen selv. Vår oppgave var å verifisere anti-HDV på to Liaison XL instrumenter ved mikrobiologisk avdeling (MIA), og sammenligne disse instrumentene.

Metode: 25 anti-HDV negative pasientprøver fra blodgivere og 25 anti-HDV positive pasientprøver, ble analysert på to Liaison XL instrument ("Mario" og "Luigi"). Til verifiseringen ble det benyttet kit-avhengig kontroll (DiaSorin) og egenprodusert kit-uavhengig kontroll (KUA), i tillegg til fire sammenlignende laboratorieprøving-prøver (SLP-prøver).

Resultat og diskusjon: Fra innkjøring av KUA ble det observert en større variasjon mellom målingene på "Mario" sammenlignet med "Luigi".

Ved analysering av pasientprøvene fra FHI var 22 av 25 positive prøver over cut-off (88 %) mens 23 av 25 prøver fra blodgivere var under cut-off (92 %). Dvs. at det ikke var helt samsvar mellom analysen som ble utført ved MIA og den som er utført av FHI. Det vil derfor være hensiktsmessig å definere gråsone-område. Statistiske analyser viste en lineær sammenheng mellom instrumentene, men at Luigi har en tendens til å måle høyere enn Mario i områder med høy konsentrasjon.

Konklusjon: Det vil være fullt mulig å utføre HDV-diagnostikk på Liaison XL instrumentene, på bakgrunn av samsvarende pasientprøve-resultater og riktig svar på SLP-prøver i forhold til kjent verdi fra Instand. Det vil være nødvendig å kjøre inn KUA på nytt før analysen tas i bruk på Mario.

Nøkkelord: Hepatitt D-virus, CLIA, verifisering, Liaison XL, SLP, gråsone

Abstract

Introduction: Until now, hepatitis D analyzes are performed at FHI. To shorten the response time, Haukeland University Hospital wants to perform this analysis itself. Our task was to verify anti-HDV on two Liaison XL instruments at MIA and compare these instruments.

Method: 25 anti-HDV negative patient samples from blood donors and 25 anti-HDV positive patient samples were analyzed on two Liaison XL instruments (“Mario” and “Luigi”). Kit-dependent control (DiaSorin) and in-house kit-independent control were analyzed for anti-HDV for the verification, in addition to four SLP-samples.

Results and discussion: From the instrument startup procedure of KUA analysis, a greater variation was observed between the measurements on "Mario" compared to "Luigi".

When analyzing the patient samples from FHI, 22 of 25 positive samples were above the cut-off (88 %) while 23 of 25 from blood donors were below the cut-off (92 %). Which implies that there wasn`t full correspondence between the analysis performed at MIA and the one performed by FHI. It will therefore be appropriate to define the gray zone area. Statistical analyzes showed a linear relationship between the instruments, but that Luigi tends to give higher signals than Mario in strong positive samples.

Conclusion: It is possible to perform HDV diagnostics on the Liaison XL instruments, based on the corresponding patient test results and the correct results from the SLP tests in relation to the known value from Instand. However, it will be necessary to redo the KUA analyzes again before the analysis is used on Mario.

Keywords: Hepatitis D-virus, CLIA, verification, Liaison XL, SLP, grey zone

Forord

Bachelorprosjektet er et avsluttende prosjekt av et 3-årig profesjonsstudium ved bioingeniørutdanningen ved Høgskulen på Vestlandet. Prosjektet er utført i samarbeid med Mikrobiologisk avdeling (MIA) ved Haukeland Universitetssjukehus, og Høgskulen på Vestlandet. Bakgrunnen for prosjektet var et ønske om å ta i bruk en metode for påvisning av hepatitt D-antistoff.

Vi vil takke våre eksterne veiledere, Håvard Daae Fosse og Catherine Davanger, for opplæring på instrumentet, samt råd og tilbakemeldinger på bacheloroppgaven. Karl Albert Brokstad, vår interne veileder, vil vi takke for gode innspill i skriveprosessen. Vi har satt stor pris på at Mikrobiologisk avdeling, seksjonsoverlege Gro Njølstad, kvalitetsleder Lene Henriksen Holm og seksjonsleder Marita Vik har tatt oss godt imot og bidratt med fagkunnskap og praktisk arbeid ved laboratoriet. Takker Turid Aarhus Braseth for god prosessveiledning underveis i prosjektet.

Det har vært lærerikt å planlegge og gjennomføre et større prosjekt, og vi håper leseren sitter igjen med ny kunnskap om hepatitt D-virus og metodeverifisering.

Julie Stenklev Mykland

Julie Stenklev Mykland

Marte Gisvold Myrseth

Marte Gisvold Myrseth

Marie Sofie Ressem

Marie Sofie Ressem

Innhold

1 Forkortelser og ordforklaring 7
2 Innledning 8
3 Bakgrunn 9
3.1 Virus 9
3.1.1 Replikasjon 10
3.1.2 Konsekvenser av virusinfeksjon i en celle 11
3.2 Hepatitt 12
3.3 Hepatitt B 13
3.3.1 Virologi 13
3.3.2 Smittevei og inkubasjonstid 15
3.3.3 Epidemiologi 16
3.3.4 Symptomer og forløp 17
3.3.5 Diagnostikk og behandling 17
3.4 Hepatitt D 18
3.4.1 Virologi 19
3.4.2 Smittevei og inkubasjonstid 19
3.4.3 Epidemiologi 20
3.4.4 Symptomer og forløp 21
3.4.5 Diagnostikk og behandling 21
3.5 Analyseprinsipp LIAISON® XL MUREX anti-HDV 22
3.5.1 Faktorer som kan påvirke analysen 23
3.6 Kvalitetskontroller 24
3.6.1 Intern kvalitetskontroll 24
3.6.2 Ekstern kvalitetskontroll 25
3.7 Validering/verifisering 25
4 Material og metode 26
4.1 Prøvemateriale 26
4.1.1 Pasientprøver 26
4.1.2 Etiske betraktninger 27
4.1.3 Sammenlignende laboratorieprøving (SLP) 27
4.2 Reagenser og kontroller 27
4.2.1 Produksjon av kit-uavhengig kontroll 27

4.3 Instrument og utstyr 28
4.4 Liaison XL analyse 30
4.5 Statistisk sammenligning av Liaison XL instrumentene 30
4.5.1 Formler 30
4.5.2 Regresjonsanalyse 31
4.5.3 Sensitivitet og spesifisitet 31
5 Resultat 32
5.1 Kontroller 32
5.1.1 Kit-avhengig kontroll 32
5.1.2 Kit-uavhengig kontroll (KUA) 32
5.3 Sammenligning av prøvesvar fra Liaison XL og analyser utført ved FHI 34
5.4 Sammenligning av Mario og Luigi 36
5.4.1 Lineær regresjon 37
6 Diskusjon 38
6.1 Kit-uavhengig kontroll (KUA) 38
6.2 Sammenligning av ETI-AB-DELTAK-2 og murex anti-HDV 39
6.3 Sammenligning av prøvesvar fra Liaison XL og analyser utført ved FHI 40
6.4 Instrumentsammenligning av Mario og Luigi 41
7 Konklusjon 42
8 Referanser 43
9 Vedlegg 47

1 Forkortelser og ordforklaring

ALAT - Alaninaminotransferase
ASAT - Aspartataminotransferase
AU/mL - Arbitrary Units (vilkårlige enheter) per milliliter
CLIA - Kjemilumenescens immunoassay
CV % - Variasjonskoeffisient
DiaSorin - Italiensk multinasjonalt bioteknologiselskap som produserer og markedsfører reagenssett for in vitro-diagnostikk som brukes i immunodiagnostikk
FBS - Føtalt bovinserum
HBsAg - Hepatitt B surface antigen
HBcAg - Hepatitt B core antigen
HBeAg - Hepatitt B envelope antigen
HCC - Hepatocellulært carsinom
HDAg - Hepatitt delta virus antigen
HIV - Humant immunsviktvirus
Interferoner - Signalstoffer som produseres i kroppen ved bla. virusinfeksjoner
Instand - Laboratorium i Tyskland som sender prøver til laboratorier som deltar i deres eksterne kvalitets kontroll programmer
KUA - Kit-uavhengig kontroll
“Luigi” - LIAISON XL 2, serienummer 22100003714, helautomatisk instrument som benytter kjemilumenescens
“Mario” - LIAISON XL 1, serienummer 22100002632, helautomatisk instrument som benytter kjemilumenescens
MSIS - Meldingssystem for smittsomme sykdommer
NKK - Norsk klinisk-kjemisk kvalitetssikring
qPCR - Sanntids polymerase kjedereaksjon
RLU - Relative lysenheter
SLP - Sammenlignende laboratorieprøving
WHO - Verdens helse organisasjon

2 Innledning

Leverbetennelse som følge av virusinfeksjon er et globalt helseproblem [1]. Per dags dato er det antatt at omtrent 15-20 millioner er infisert med hepatitt D-virus (HDV), til sammenligning tilsvarer dette tre ganger Norges befolkning. Så mange som 60-70 % av de infiserte utvikler kronisk leversykdom med levercirrhose, skrumplever og leverdekompensasjon. Det er derfor avgjørende med rask diagnostisering, slik at behandling kan settes i gang tidlig for å forhindre de alvorlige komplikasjonene [2].

HDV ble først rapportert i 1977 hos pasienter med kronisk infeksjon med hepatitt B-virus (HBV). Viruset ble identifisert i 1986 og fikk da navnet deltavirus [3]. Hepatitt D krever tilstedeværelse av hepatitt B for å være infeksiøs. HDV har svært begrenset med gener og bruker HBV proteiner til å bygge virionet. Smitte kan enten skje sammen med HBV (ko-infeksjon), eller hos pasienter som allerede er kroniske bærere av HBV (superinfeksjon). En ko-infeksjon eller superinfeksjon med HDV vil vanligvis forårsake et alvorligere sykdomsforløp, som medfører økt risiko for fulminant hepatitt, cirrhose og hepatocellulært karsinom [3]. Det er derfor ønskelig at pasienter med påvist HBV infeksjon også skal utredes for HDV.

I dag benyttes det ulike metoder for påvisning av HDV; påvisning av antistoffer mot HDV med immunoassay og kvantitering av HDV RNA med sanntids polymerase kjedereaksjon (qPCR). For laboratorier som ikke utfører analysen selv blir prøvene sendt for analysering til Folkehelseinstituttet (FHI), som er referanselaboratorium for hepatittvirus A-E [4]. Metoden som benyttes i denne oppgaven er en to-trinns kjemilumenecens immunoassay (CLIA) kalt LIAISON® XL MUREX Anti-HDV assay. Det er den første fullautomatiserte metoden for kvalitativ bestemmelse av anti-HDV tilgjengelig på markedet [5; vedlegg 1]. Metoden leveres av produsenten DiaSorin, som allerede har validert metoden og utarbeidet en prosedyre for analysering. Når metoden skal tas i bruk er det derfor tilstrekkelig å verifisere at metoden holder samme kvalitet på eget laboratorium [6].

Mikrobiologisk avdeling (MIA) ved Haukeland universitetssjukehus ønsker å verifisere murex anti-HDV på analyseinstrumentet Liaison XL for å ta i bruk analysen selv, da prøvene i dag sendes til FHI for analysering. Det er ønskelig for laboratoriet å utføre denne analysen

selv da dette vil gi rekvirentene kortere svartid og de får kontroll over hele analyseprosessen, ettersom de slipper å benytte et eksternt laboratorium. Dette vil også gagne helseforetaket Helse Vest, da andre sykehus innenfor helseforetaket kan sende sine prøver til MIA for analysering av sine prøver.

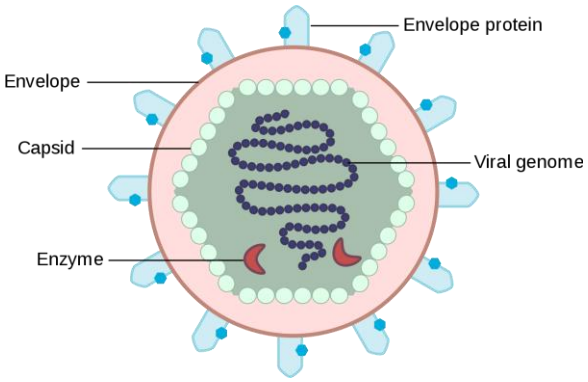
Avdelingen har to Liaison XL instrumenter som benyttes til ulike analyser, der de begge fungerer som reserveinstrument for hverandre. Metoden skal kunne utføres på begge instrumentene, og det er derfor ønskelig å utføre en sammenligning av de to for å utelukke signifikante forskjeller mellom instrumentene.

Vår problemstilling for denne oppgaven blir dermed å verifisere metoden for murex anti-HDV på Liaison XL, og undersøke om det er statistisk forskjell mellom Liaison XL instrumentene.

3 Bakgrunn

3.1 Virus

Virus er enkle biologiske infeksiøse partikler som kan består av et genom og en proteinkappe (kapsid). Noen virus har en membran utenpå proteinkappen, som inneholder proteiner, lipider og karbohydrater. Virus uten denne membranen kalles nakne virus. Nukleinsyren, genomet, er den viktigste bestanddelen i viruspartikkelen. Nukleinsyren består av enten DNA eller RNA, og inneholder all informasjon som er nødvendig for at viruset kan replikere seg [7].



Figur 1. Fremstilling av oppbyggingen til en viruspartikkel **[8]**. Viruspartikkel som inneholder genom, proteinkapsid og en ytre membran med membranproteiner.

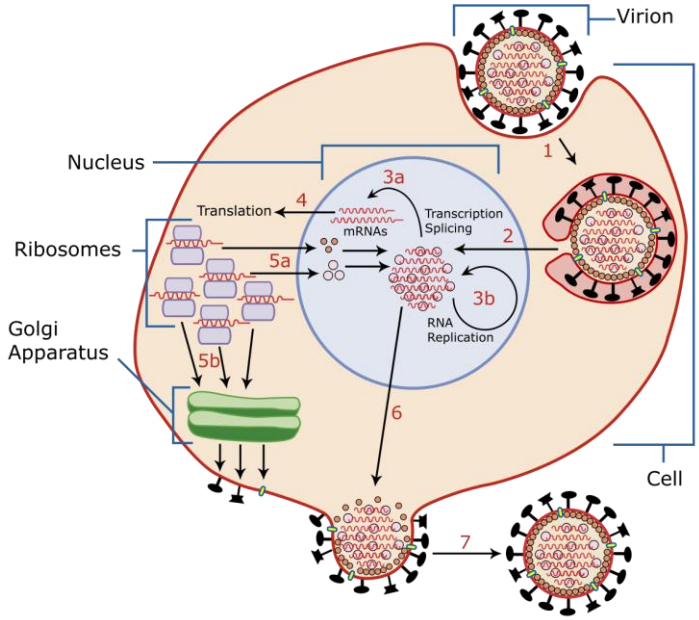
3.1.1 Replikasjon

Virusene er enkle og har ikke komplett maskineri for å replikere eller ha metabolsk aktivitet. De er avhengig av å infisere celler eller bakterier og bruke vertens maskineri til disse prosessene. Viruset inneholder kun nøkkelenzymene. Hovedmålet for viruspartikkelen er å ta kontroll over vertscellen, ved at den tvinger cellen til å syntetisere alle essensielle molekyler og det blir dannet nye identiske virus.

Replikeringen består av seks prosesser. Viruset vil feste seg til mottakelige celler som har spesifikke reseptorer for viruset. Reseptormolekyler er proteiner, glykoproteiner eller glykolipider. Tilsvarende er ligandene på viruset som binder seg til cellen også proteiner eller glykoproteiner. Deretter trenger viruset inn i vertscellen. Virus vil bli tatt opp i cellen ved endocytose, translokasjon eller ved fusjon mellom virusmembran og cellemembran. Det er mest vanlig at denne prosessen skjer ved endocytose, som foregår umiddelbart etter binding av virus til reseptor. Viruset kommer inn i cytoplasma i et endosom.

Membran og kapsid fjernes og genomet frigjøres. Ved opptak av virus i et endosom må først membranen til viruset fjernes. Dette kan skje ved fusjon av virusmembran og endosommembran. Videre vil det foregår en konformasjonsendring av kapsidproteiner slik at kapsidet desintegrerer og arvestoffet blir fritt. I hovedsak replikerer RNA-virus i cytoplasma, mens DNA-virus replikerer i cellekjernen. Etter at RNA eller DNA er frigjort fra viruspartikkelen vil virusnukleinsyre bli replikert og syntesen av virusproteiner foregå. Denne prosessen er forskjellig, avhengig av om det er et DNA- eller RNA-virus, om det er dobbelt- eller enkelttrådet og om det er positivt- eller negativtrådet. Viruset benytter seg av cellenes egne enzymer til dette, men benytter også koder for virusspesifikke enzymer.

Etter at alle nødvendige bestanddeler er syntetisert, vil disse bli satt sammen til ferdige viruspartikler. De proteinene som utgjør kapsomerenes bindingsseter vil pakke rundt vironet. Noen virus vil bygge kapsidet rundt genomet, mens hos andre virus vil genomet trekkes inn i kapsidet til slutt. Nakne virus frigjøres ved ødeleggelse av cellen (cellelysis), mens virus som har membran frigjøres ved knoppskyting eller eksocytose [7;9].



Figur 2. ***De ulike prosessene av virusreplikasjon i en celle*** **[10]**. Viruset fester seg til mottakelige celler med spesifikke reseptorer og blir tatt opp i cellen ved endocytose, translokasjon eller fusjon mellom virusmembran og cellemembran. Frigjøring av nukleinsyre og replikasjonen foregår i cytoplasma eller i cellekjernen. Viruset blir satt sammen av proteinene som er syntetisert. Viruset blir frigjort ved knoppskyting eller cellelysis.

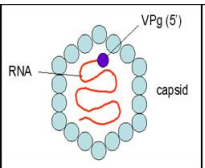
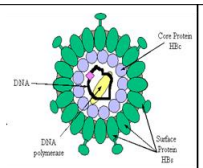
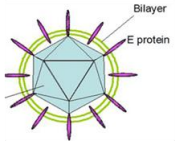
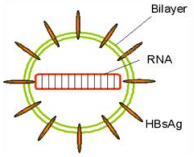
3.1.2 Konsekvenser av virusinfeksjon i en celle

Virusinfeksjoner fører ofte til at vertsceller skades eller dør. Den cytopatogene effekten av en virusinfeksjon er at cellene i en cellekultur forandrer form, kan bli runde og løsne, samt flyte opp som døde rester. Ødeleggelse av celler i ulike organer ses ved akutte virusinfeksjoner og vil ha betydning for pasientens sykdom. De fleste virusinfeksjoner er akutte der formeringen opphører etter kun dager eller uker [7].

Virusinfeksjoner der virus replikeres langsomt kan gi persisterende infeksjon. Vedvarende infeksjon fører til at cellene skades lite og av den grunn blir langvarig. Ved kroniske infeksjoner vil virus kun påvises i små mengder og infeksjonen kan forekomme uten symptomer. Infeksjon med virus kan føre til proliferasjon. Denne økte celledelingen kan være godartet, men kan også føre til ondartet celledeling. Virus som fremkaller svulster kalles onkogene virus. Onkogene virus vil endre arvestoffet i cellene, slik at disse vil dele seg tilnærmet uendelig [7].

3.2 Hepatitt

Hepatitt er en sykdom som kjennetegnes ved leverbetennelse som hovedmanifestasjon, og forårsakes hovedsakelig av ulike hepatittvirus som i stor grad angriper levercellene. Symptomene begynner gjerne med en generell sykdomsfølelse som slapphet, feber og dårlig appetitt, før tilstanden går over til et ikterisk stadium, der pasienten viser tydelige tegn på ikterus, gulsott [11]. Gulsott er en tilstand der pasientene får en gulfarge i huden, slimhinner og øyne som følge av opphopning av gallefargestoff (bilirubin) i serum [12]. Kliniske tegn som økt nivå av leverenzymer som ALAT og ASAT i blodet, forstørret lever og milt og mørk urin vil som regel oppstå ved en hepatittinfeksjon. En skiller mellom fem hovedtyper av hepatittvirus som utarter seg relativt likt i form av symptomer og klinisk forløp, men som varierer i form av overføringsmåter, alvorlighetsgrad, geografisk fordeling og forebyggingsmetoder. De mest vanlige er hepatitt A, B og C, mens D og E er mindre vanlige. De aller fleste opplever å bli helt frisk fra hepatittinfeksjonen, og utvikler en immunitet mot den typen de ble smittet med. Men i noen tilfeller kan hepatittinfeksjonen vedvare og utvikle seg til kronisk hepatitt, dette skjer hovedsakelig kun hos pasienter som er smittet med HBV eller HCV [7].

					
Name of Virus	Hepatitis A Virus (HAV)	Hepatitis B Virus (HBV)	Hepatitis C Virus (HCV)	Hepatitis D Virus (HDV)	Hepatitis E Virus (HEV)
Classification	Picornavirus	Hepadnavirus	Flavivirus	Deltavirus	Hepevirus
Viral genome	ssRNA	dsDNA	ssRNA	-ssRNA (-ve)	ssRNA
Transmission	Enteric	Parental	Parental	Parental	Enteric
Incubation period	15-45 days	45-160 days	15-150 days	30-60 days	15-60 days
Chronic Hepatitis	No.	Yes. 10% chance	Yes. >50% chance	Yes. <5% of coinfectious >80% of superinfectious	No.

***Figur 3. Skjematisk oversikt for hepatittvirus* [13]**. Figuren viser de fem hovedtypene av hepatitt og beskriver kort hvilken klassifisering de ulike virusene tilhører, virusets genom, smittemåte, inkubasjonstid og sannsynlighet for utvikling av kronisk hepatitt.

HAV, HCV, og HEV er enkelttrådede RNA-virus, der HAV og HEV er nakne virus, mens HCV har en ytre membran. Hepatittvirusene kan føre til akutt leverbetennelse, men av disse tre er det kun HCV som kan føre til kronisk infeksjon med økt risiko for utvikling av levercirrhose og hepatocellulært karsinom. De fleste tilfeller av hepatitt i Norge skyldes HCV [14-16]. HAV og HEV smitter via fekal-oral smittevei. Smitten skjer etter inntak av kontaminerte næringsmidler, som matvarer og vann, eller via matvarer som er håndtert av personer som bærer smitten [14;16]. Smittemåten for HCV er i hovedsak parenteralt, der smitten blir overført ved inokulasjonssmitte med kontaminerte sprøytespisser ved deling av sprøyter og ved stikkuhell [15]. Videre presenteres hepatitt-virusene B og D, der hepatitt D er fokuset i denne oppgaven, men er avhengig av HBV for å replikere seg.

3.3 Hepatitt B

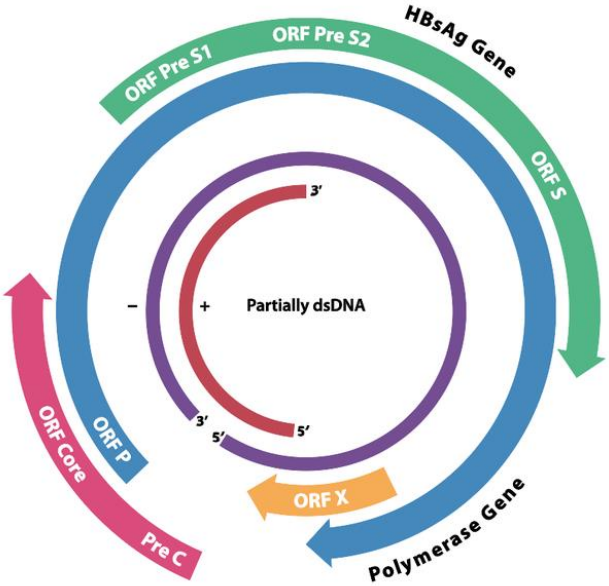
Hepatitt B er en sykdom forårsakes av HBV, som både kan gi akutt- og kronisk infeksjon. Akutt hepatitt innebærer leverbetennelse, og en kronisk infeksjon kan føre til cirrhose, leversvikt og leverkreft - og er et stort helseproblem globalt [17]. Det er til nå identifisert 8 ulike HBV-genotyper (A-H) og flere undergenotyper. Genotype A er vanligst i Nord-Europa, USA (A2) og Sørøst-Asia og Afrika (A1) [18].

3.3.1 Virologi

HBV er et lite DNA-virus (3,2 kB) i Hepadnaviridae familien. Virusets genom består av avslappet sirkulært DNA som er delvis dobbelttrådet, hvor baserekkefølgen er kartlagt. Den infeksiøse viruspartikkelen til HBV, kjent som Dane partikkelen, består av en ytre lipidkappe med komplekser av L-, M-, og S-hepatitt B-overflate-antigen (HBsAg). Lipidkappen omgir et ikosaeder-formet nukleokapsid sammensatt av hepatitt B-kjerne-antigen (HBcAg) som inneslutter det virale DNA og viralt kodet polymerase [18-19].

HBV genomet koder for fire overlappende åpne leserammer S, C, P og X. Den største av de fire åpne leserammene (P) koder for viral polymerase. Den nest største åpne leserammen (S) koder for tre virale kappeprotein kjent som stort- (L), middels- (M) og lite- (S) overflateantigen (HBsAg). Det nest minste av de åpne leserammene (C) koder for HBeAg og HBcAg som sammen danner det virale nukleokapsidet. Den minste åpne leserammen (X) koder for x proteinet (HBx), et lite protein med regulatoriske egenskaper som er nødvendig

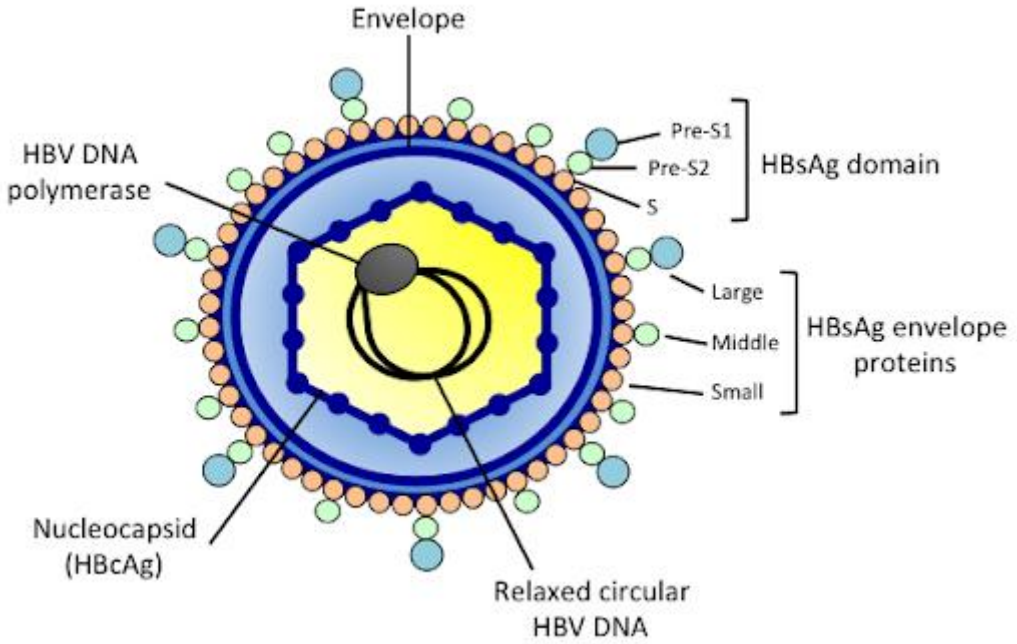
for replikasjon av HBV. De tre overflateantigenene (L, M og S) kodet av HBV spiller en viktig rolle i dannelsen av den ytre lipidkappen. De tre overflateantigenene utrykkes ulikt i en HBV-infisert celle, som et resultat av dette utskilles tre forskjellige former av virale partikler. S-HBsAg er det overflateantigenet med størst uttrykkelse og utgjør dermed den største delen av lipidkappen. Partiklene som ikke er infeksiøse konstrueres i all hovedsak av S-HBsAg, og inneholder varierende, men mye lavere mengder av M-HBsAg og lite/ingen grad av L-HBsAg. De infeksiøse partiklene (Dane partikler) består av både S-, M- og L-HBsAg.



***Figur 4. Organisering av Hepatitt B-virus genom* [20].** Figuren illustrerer HBV genomet som består av delvis dobbeltrådet, sirkulært DNA, med de overlappende åpne leserammene S, C, P og X.

Kjerneproteinet til HBV, kjent som HBcAg, danner rammeverket for virionene. En av kjerneproteinets hovedfunksjon er dens egenskap til å samle nukelokapsidet i en kapsel-lignende struktur. HBcAg inneholder også viralt DNA og viralt DNA-polymerase med revers transkriptase (RT) aktivitet, hvor HBcAg spiller en aktiv rolle i initieringen av RT for replikasjon av HBV. Nukleosidkapsidet er også nært forbundet med den antigene determinanten, hepatitt B konvolutt-antigenet (HBeAg). HBcAg/HBeAg kodes av den samme åpne leserammen (C), men produktet avhenger av om translasjonen initieres fra kjernen eller pre-kjernen. Den åpne leserammen for HBeAg koder for et signalpeptid som sørger for at produktet fraktes til endoplasmatisk retikulum (ER), hvor proteinet prosesseres til den endelige formen av HBeAg som skilles ut av HBV-infiserte celler.

HBV sitt eneste regulatoriske protein er HBx. Proteinet har en rekke regulerende egenskaper som påvirker blant annet signaltransduksjon, transkripsjonsaktivering, reparasjon av DNA og inhibering av proteindegradering [21]. Selv om den eksakte rollen til HBx ved HBV-infeksjon ikke er fullstendig kjent, viser flere studier at HBx er viktig for en effektiv HBV-replikasjon og proliferasjon [22].



Figur 5. Morfologi av hepatitt B-virus **[23]**. Figuren viser strukturen til hepatitt B-viruspartikkelen. Vironet består av en ytre lipidkappe som inneholder virale glykoproteiner og et indre nukleokapsid. De virale glykoproteinene utgjør overflateantigen (L-, M- og S-HBsAg) og kjerneantigen (HBcAg). I midten sees nukleokapsidet, sammensatt av kjerneantigen, som omslutter et delvis dobbeltstrenget sirkulært viralt DNA og viralt DNA-polymerase.

3.3.2 Smittevei og inkubasjonstid

HBV er et blodbårent virus, men finnes også i andre kroppsvæsker som spytt og sæd [24]. Viruset overføres ved direkte kontakt med infeksiøst blod, gjennom seksuell kontakt og ved inokulasjonssmitte gjennom kontaminerte sprøytespisser og blodprodukter [17]. I områder med hyppig forekomst av HBV-bærere skjer smitte hovedsakelig gjennom perinatal/vertikal overføring fra mor til barn under svangerskap og fødsel, eller ved horisontal smitte ved eksponering av infeksiøst blod [25].

Inkubasjonstiden varierer fra 45 til 180 dager, men er vanligvis på mellom 60 til 90 dager. Under inkubasjonstiden vil alle være smitteførende, men smitterisikoen vil være avhengig av

blant annet viruskonsentrasjonen i blodet til smittebæreren [17]. Viruset har også evne til overlevelse utenfor kroppen i minst 7 dager, og kan fremdeles forårsake smitte i løpet av denne tiden hos individer som ikke er beskyttet av vaksine [25].

3.3.3 Epidemiologi

Hepatitt B er en av de vanligste smittsomme sykdommene globalt. Det er anslått at 350 millioner lever med kronisk HBV over hele verden, og omtrent 40 % av verdens befolkning har vært smittet med HBV [17]. Utbredelsen av hepatitt B er størst i utviklingsland og land med stor befolkning som i Sørøst-Asia, Kina, deler av Afrika og Sør-Amerika, og omtrent 75 % av de kroniske bærerne befinner seg i Asia og den vestlige stillehavsregionen. Hepatitt B forekommer også i moderat grad i Sør- og Øst-Europa, Midtøsten, Japan og deler av Sør-Amerika [26].

Hepatitt B-vaksinering er hovedstrategien for bekjempelsen av hepatitt B. I 1991 satte WHO et mål om at samtlige medlemsland skulle innføre hepatitt B-vaksine for spedbarn som en del av de nasjonale vaksinasjonsprogrammene. Så langt har 189 av 194 medlemsland innført vaksinen [17]. WHO anbefaler at første dose gis så tidlig som mulig til alle spedbarn, helst innen 24 timer, etterfulgt av andre og tredje dose innen 1 års levealder for å oppnå full effekt [27]. Over 96 % av barn, ungdom og voksne oppnår beskyttende antistoffnivå etter fullvaksinering med tre eller fire doser [28]. Vaksinen gir langvarig og har muligens livslang effekt [27].

Hepatittforekomsten i den generelle befolkningen i Norge er lav, og mulighetene for forebygging og behandling er gode. De utsatte gruppene er knyttet til personer som injiserer rusmidler, menn som har sex med menn, og innvandrere fra land med høy forekomst av hepatitt B. Forekomsten overvåkes gjennom meldesystemet for smittsomme sykdommer (MSIS) hvor det årlig meldes ca. 400-500 nye tilfeller med kronisk hepatitt B, primært knyttet til innvandrere som har blitt smittet før de kom til Norge. 20-30 % av tilfellene av akutt hepatitt B knyttes til seksuell smitteoverføring [1].

I Norge i perioden 1990-2016 har hepatitt B vaksinen kun blitt tilbudt spedbarn av foreldre fra land med middels til høy forekomst av HBV [29]. I 2016 lanserte helse- og omsorgsdepartementet i en nasjonal strategi mot virale hepatitter, med en påfølgende revidert

strategiplan i 2018. De nye tiltakene førte til at hepatitt B-vaksinen ble innført i barnevaksinasjonsprogrammet, og alle gravide ble tilbudt testing for HBV. HBV-screeningen av gravide er et vesentlig tiltak for å kunne gi tilbud om behandling og profylakse slik at en kan forhindre smitte ved fødsel. Gjennom ulike lavterskeltilbud tilbys det også rent brukerutstyr til personer som tar stoff med sprøyter, samt informasjonsarbeid rettet mot rusavhengige som tiltak for å behandle og forebygge spredning [17].

3.3.4 Symptomer og forløp

Akutt infeksjon med hepatitt B-virus gir ofte ingen symptomer. Ca. 30 % av voksne som smittes med viruset vil være asymptomatiske, mens ca. 30 % vil få en mild infeksjon med influensalignende symptomer. Omtrent 30 % vil imidlertid utvikle kliniske symptomer og tydelige tegn på hepatitt, som forhøyede leverenzymer, avfarget avføring, mørk urin og gulsott. En liten andel vil også kunne utvikle akutt leversvikt, som potensielt kan være dødelig. 3-5 % av de med akutt hepatitt B-infeksjon blir kroniske bærere, med fare for utvikling av leverskader som på sikt kan føre til cirrhose eller hepatocellulært karsinom (primær leverkreft). Risikoen for slike komplikasjoner er imidlertid sjelden før 30-årsalderen, men vil deretter øke i takt med alder, og totalt sett ramme omtrent 20-30 % av de med kronisk hepatitt B. Ko-infeksjon med HIV, hepatitt- C og D vil gi en forverret prognose [17].

3.3.5 Diagnostikk og behandling

Da de kliniske symptomene for de ulike hepatittene er nokså like, er det ikke mulig å skille hepatitt B fra andre hepatitt-virus basert på symptomer alene. Laboratorietester er derfor essensielle i diagnostiseringen. Infeksjon med hepatitt B påvises hovedsakelig på to måter; deteksjon av anti-HBV/HBV-antigen ved hjelp av immunoassay eller amplifisering av HBV-DNA ved qPCR. Ved HBV-infeksjon vil en rekke antigen og deres respektive antistoff kunne påvises i serum, og det er disse antigenene/antistoffene som benyttes som serologiske markører ved HBV-påvisning med immunoassays. Basert på den kliniske situasjonen bestemmes det hvilke markører som skal undersøkes [17].

***Tabell 1. Serologiske markører for hepatitt B* [17].**

Diagnostikk akutt hepatitt	HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc, anti-HBc IgM, HBV-PCR
Utredning av bærertilstand	HBsAg, anti-HBc, evt. i tillegg HBeAg og anti-HBe
Testing av risikogrupper	HBsAg, anti-HBc, anti-HBs
Testing av gravide	HBsAg, anti-HBc
Testing før vaksinasjon	HBsAg, anti-HBc, anti-HBs
Testing etter vaksinasjon	anti-HBs
Testing av blodgivere	anti-HBc og HBsAg

Akutt HBV-infeksjon er preget av tilstedeværelse av HBsAg og IgM-antistoff mot HBcAg. Påvisning av HBsAg tilsier at vedkommende er smitteførende. I starten av sykdomsforløpet vil det også kunne påvises HBeAg, en markør som indikerer høyt replikasjonsnivå av viruset. Påvisning av HBeAg sammen med HBsAg indikerer at virusmengden og smittsomheten er svært høy. Kronisk infeksjon med HBV er preget av vedvarende HBsAg i minst 6 måneder. Langvarig tilstedeværelse av HBsAg er en viktig markør på risiko for utvikling av kronisk leversykdom og hepatocellulært karsinom (HCC) [25].

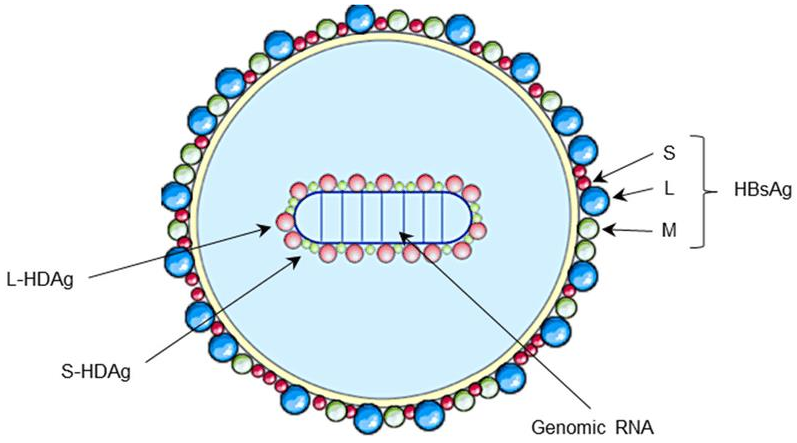
Til nå finnes det ingen spesifikk behandling for akutt hepatitt B, og det gis derfor vanligvis kun symptomatisk behandling. Kronisk hepatitt B kan imidlertid behandles medikamentelt med antivirale midler. Per 2018 finnes det 10 ulike medikamenter tilgjengelig for behandling, disse er interferon-baserte medikamenter og nukleosid/nukleotid analoger. Hensikten med behandlingen er å forebygge/redusere utviklingen av cirrhose, HCC og vertikal smitte. Alle med påvist kronisk infeksjon skal også utredes for ko-infeksjon med HIV, HCV og HDV da det kan påvirke prognosen negativt [17].

3.4 Hepatitt D

HDV er et sjeldent virus i Norge, som fører til akutt eller kronisk leverbetennelse (hepatitt), men kun i kombinasjon med HBV, ettersom det er avhengig av HBV for å kunne replikere. Infeksjonen med HDV kan enten skje samtidig med en HBV-infeksjon (ko-infeksjon) eller hos en pasient med kronisk hepatitt B (superinfeksjon). Det ble først antatt at HDV var et ukjent HBV-antigen, før det i 1986 ble identifisert som et nytt patogen som fikk navnet delta-virus [3].

3.4.1 Virologi

HDV er et inkomplett virus med enkelttrådet genomisk RNA med negativ polaritet, og en lipidmembran. HDV virion består av sirkulært RNA med en størrelse på 36 nm, som folder seg til en stav-struktur på grunn av intramolekylære baseparinger i HDV genomet, som koder for HDAg. Det sirkulære RNA-et danner komplekser med to ulike virale HDV proteiner som har fått navn etter størrelsen, små HDAg (195 aa) og store HDAg (213-214 aa). Genomet og de virale proteinene innkapsles av en membran som består av HBV overflateantigenet HBsAg i tre ulike størrelser, liten, medium og stor. Ettersom HDV genomet ikke koder for enzymer som er nødvendig for replikasjon av viruset, er den avhengig av RNA-polymerase II fra vertens infiserte hepatocytter og HBsAg til å formere seg. Replikasjonen skjer i de infiserte hepatocyttene der HDV tvinger vertens RNA-polymerase II til å produsere mRNA fra genomisk RNA. mRNA som koder for små og store HDAg fraktes ut i cytoplasma, og oversettes til relevante proteiner. Små HDAg (S-HDAg) sørger for å aktivere viral replikering ved å binde seg til HDV-RNA, mens store HDAg (L-HDAg) inhiberer viral replikering og samhandler med HBsAg for å initiere oppbyggingen av flere virioner. Deretter omsluttes HDV av HBsAg og forlater cellen gjennom exocytose [30]. Det finnes minst 8 ulike genotyper av HDV, der genotype 1 er mest vanlig og finnes i store deler av verden [2].



Figur 6. Morfologi av hepatitt D-virus **[31]**. Figuren viser strukturen til HDV-viruset. Innerst ses et enkelttrådet sirkulært genomisk RNA, som omsluttes av de virale HDV proteinene L-HDAg og S-HDAg. Ytterst består vironet av en lipidkappe med HBV overflateantigen (glykoproteiner) i ulik størrelse.

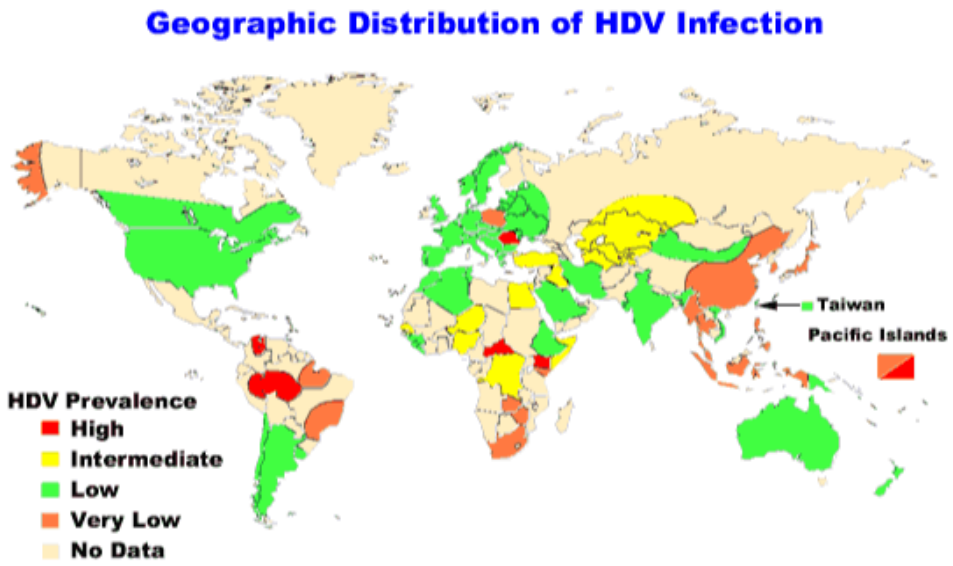
3.4.2 Smittevei og inkubasjonstid

HDV smitter i likhet med HBV parenteralt, altså gjennom injeksjoner eller infusjon. Hovedsakelig blodsmitte som følge av blodtransfusjon og urene sprøyter. Seksuell smitte og

smitte fra mor til barn under fødsel er sjeldent. Inkubasjonstiden fra smitte til utbrudd av sykdommen er usikker, men antagelig 2 til 8 uker [3].

3.4.3 Epidemiologi

Ifølge WHO er rundt 5 % av verdens befolkning med kronisk HBV ko-infisert med HDV, noe som tilsvarer et tall på rundt 15-20 millioner mennesker. Dette tallet er ikke helt eksakt ettersom HDV ikke studeres godt nok i områder med høy forekomst av HBV [2]. De områdene i verden med høyest forekomst av HDV befinner seg i den midtre og vestlige delen av Afrika, Asia, Midtøsten og Sør-Amerika. I Europa har landene i øst, samt Grønland og land rundt Middelhavet hatt høyest forekomst. De som er mest utsatt inkluderer sprøytenarkomane, personer med kronisk hepatitt B infeksjon og urbefolkninger. Antallet med HDV-infeksjon har avtatt siden 1980 tallet, etter innførelsen av HBV vaksinen, som er det eneste middelet som kan forhindre en HDV-infeksjon [25]. Men på 2000-tallet økte antallet HDV-infiserte i Europa igjen, som trolig kom av økt innvandring til Europa fra andre deler av verden med høyere forekomst av HBV og dårligere tilgang til helsetjenester og vaksineringsprogram [2]. I 2002 ble det kun påvist 19 tilfeller av HDV i Norge, mens tallet i 2018 var 225 [32]. Økningen i tilfeller utover 2000-tallet i Norge følger trenden i resten av Europa, og har ført til et økt behov for å utrede pasienter med akutt og spesielt kronisk HBV-infeksjon for HDV.



Figur 7. Epidemiologi av HDV infeksjon i verden **[33].** Kartet viser at det er størst forekomst av HDV i deler av Sør-Amerika, Afrika og Asia, mens forekomsten er relativt lav i Norge.

3.4.4 Symptomer og forløp

Symptomene ved en HDV-infeksjon er lik de ved andre hepatittinfeksjoner, men de fleste forblir asymptomatiske. I inkubasjonsfasen kan man føle seg slapp, ha liten matlyst, leddsmerter og diaré, etterfulgt av gulsott. Dersom sykdommen er et resultat av en ko-infeksjon med HBV og HDV, vil de fleste bli helt frisk og ikke utvikle kronisk hepatitt. Sannsynligheten for å utvikle kronisk HDV-infeksjon er imidlertid større ved en superinfeksjon hos en med kronisk hepatitt B, da er sjansen ca. 80 % [2]. I begge tilfeller vil gjerne forløpet være mer alvorlig enn ved en enkeltstående HBV-infeksjon, og kan lede til cirrhose (skrumplever) i 60-70 % av tilfellene ved superinfeksjon, fulminant hepatitt og hepatocellulært karsinom [3].

3.4.5 Diagnostikk og behandling

Diagnostikk av HDV utføres hos pasienter med påvist akutt eller kronisk HBV-infeksjon som skal utredes for behandling, da en ko-infeksjon eller superinfeksjon med HDV ofte vil medføre et alvorligere forløp. En HDV-infeksjon kan påvises på to måter; gjennom deteksjon av anti-HDV ved immunoassay, eller ved qPCR for påvisning av HDV-RNA. Mengden anti-HDV og HDV-RNA som påvises vil avhenge av om det skyldes en ko-infeksjon, en superinfeksjon eller en kronisk HDV-infeksjon. Som en respons på at kroppens immunforsvar oppdager HDAg, vil antistoffer mot HDV bli produsert i form av IgG og IgM som kan detekteres ved ulike immunoassays. Deteksjon av anti-HDV IgM indikerer en akutt HDV-infeksjon hos pasienten, mens en kronisk HDV-infeksjon må bekreftes gjennom påvisning av HDV-RNA [3]. I dag regnes qPCR som den mest sensitive analysen for deteksjon av HDV-viremi [34]. Folkehelseinstituttet fungerer i dag som referanselaboratorium for HDV analyser, der de utfører påvisning av anti-HDV med ELISA, og kvantitering av HDV-RNA med qPCR på tilsendte prøver fra laboratorier rundt om i landet. Per dags dato er det ikke funnet en behandlingsmetode med god respons mot HDV-infeksjon. Den eneste behandlingen som er godkjent og tilgjengelig er interferonbehandling i 12 måneder for å forhindre cirrhose og leverkarsinom, men behandlingen har kun vist moderat effekt. For å forebygge infeksjon med HDV anbefales forebyggende tiltak mot hepatitt B, der vaksinasjon vil ha størst effekt [3].

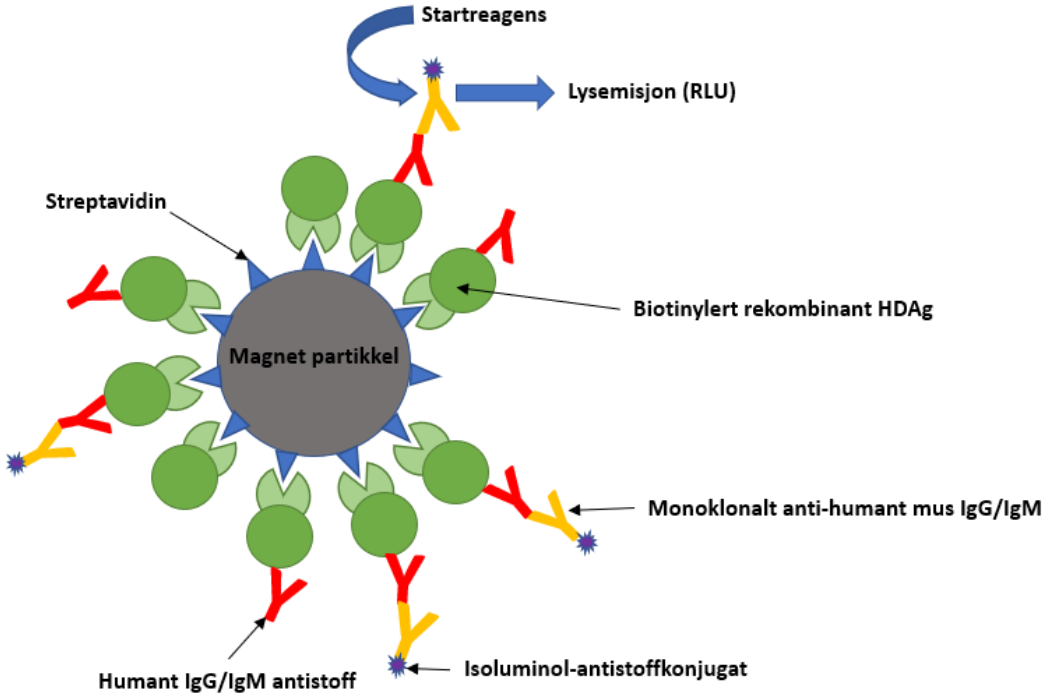
3.5 Analyseprinsipp LIAISON® XL MUREX anti-HDV

LIAISON® XL MUREX anti-HDV er en to-trinns kjemilumenescens immunoassay (CLIA). Metoden er fullautomatisert og benyttes til kvalitativ bestemmelse av anti-HDV. Leverandør oppgir at metoden har en sensitivitet på 100 %, og en spesifisitet på 99,35 % [2]. Analysen må utføres på instrumenter i Liaison familien, og i denne oppgaven benyttes to Liaison XL instrumenter.

CLIA er en metode som utnytter kjemilumenescens, emisjon av elektromagnetisk stråling, fra immunologiske reaksjoner når et elektron går fra eksitert til avslappet tilstand. Energien som oppstår frigis i form av lys med bølgelengde mellom 300 - 800 nm, og måles av en detektor. [35].

I denne analysen benyttes biotinylert rekombinant HDAg som fester seg til streptavidin på magnetpartiklene (fast fase). Ved første inkubasjon tilsettes kontroll/prøvemateriale til kyvettene med magnetpartikler og prøvefortynner (Bovint serumalbumin), der HDV-antistoffer vil binde seg til det rekombinante HDAg som dekker magnetpartiklene. Under andre inkubasjonsperiode tilsettes monoklonale IgG antistoffer fra mus mot humant IgG og humant IgM, som begge er knyttet til et isoluminolderivat (isoluminol-antistoffkonjugat). Disse vil reagere med HDV-antistoff på den faste fasen, og binde seg til dem. Mellom hver inkubasjon følger det et vasketrinn, som sørger for å vaske bort alt som ikke er bundet til magnetpartiklene. Til slutt tilsettes et startreagens som setter i gang en flash-kjemilumenescensreaksjon, som induserer et lyssignal som detekteres av en fotomultiplikator som relative lysenheter (RLU). Lyssignalet er proporsjonal med mengden isoluminol-antistoffkonjugat i prøven, og omregnes fra RLU til arbitrary units per milliliter (AU/mL).

Ved å sammenligne RLU-verdien til prøven med RLU til kalibreringskurven (beregnet vha. kalibratorer), bestemmes konsentrasjonen av prøven i AU/mL. Kalibrator 1 inneholder bovint serumalbumin (BSA), fosfatbuffer, EDTA, 0,2 % ProClin® 300 og et inert gult fargestoff, mens kalibrator 2 inneholder fortynnet og inaktivert serum/plasma med lave nivåer av anti-HDV, BSA, fosfatbuffer, EDTA, 0,2 % ProClin® 300 og et inert blått fargestoff. En prøve med en verdi lik eller høyere enn 1,0 AU/mL tolkes som positiv for anti-HDV. Analyseområdet strekker seg fra 0,100 til 30 AU/mL, der prøver med en konsentrasjon under 0,100 utgis som <0,100 AU/mL [Vedlegg 1].



Figur 8. Kjemilumenescens immunoassay. Magnetpartikler med streptavidin blir dekket av biotinylert rekombinant HDAg. Prøven tilsettes, der antistoffet som skal påvises vil binde seg til antigenene på magnetpartiklene. Deretter tilsettes IgG antistoffer fra mus mot humant IgG og IgM konjugert med isoluminol. Startreagens tilsettes som fører til en lysemisjon når det reagerer med isoluminolkonjugatet, som kan detekteres som relative lysenheter (RLU).

3.5.1 Faktorer som kan påvirke analysen

For å oppnå pålitelige resultater er det viktig med god laboratorieteknikk og overholdelse av prosedyrer, men det kan likevel oppstå uriktig resultat på grunn av svakheter ved analysen. Prøver som inneholder humane antistoffer mot mus (HAMA) kan påvirke testresultatet. HAMA kan forekomme hos pasienter som får behandling med monoklonale antistoffer fra mus og forstyrre den immunologiske metoden. Terapeutiske doser med biotin hos pasienten er også en faktor som kan påvirke testresultatene, men det er ingen forstyrrelser ved biotinserumkonsentrasjoner opptil 3500 ng/mL. Andre svakheter ved analysen er bakteriell kontaminasjon eller varmeinaktivering av prøvene som gir feil prøvesvar. Falskt reaktive testresultater kan ikke utelukkes, og bør derfor ses i sammenheng med kliniske funn og andre diagnostiske parametere før diagnosen settes [Vedlegg 1].

3.6 Kvalitetskontroller

En kvalitetskontroll benyttes til å vurdere om prøvesvar godkjennes og dermed kan utgis, eller om de må forkastes fordi en ikke kan stole på at resultatene er korrekte. En kontroll består av et prøvemateriale, ofte med en kjent verdi og/eller definerte akseptgrenser for hvor mye den kan variere før resultatet ikke kan godkjennes, og prøveoppsett må forkastes. Grenser for kontrollen legges inn på analyseenheten, og gjør det mulig å kontrollere analysens kvalitet til enhver tid. Det skilles hovedsakelig mellom interne- og eksterne kvalitetskontroller [36].

3.6.1 Intern kvalitetskontroll

Interne kvalitetskontroller benyttes til å vurdere presisjon, tilfeldige feil og riktighet, systematiske feil ved analysemetoder. De gjør det mulig å overvåke variasjoner ved analysene over lengre tidsperioder [36].

Til analysen LIAISON® XL MUREX anti-HDV benyttes to typer interne kvalitetskontroller, den ene er en kit-avhengig kontroll og den andre en kit-uavhengig kontroll. En kit-avhengig kontroll er en kontroll som vanligvis følger med analysekitene, og brukes for å bekrefte at reagensene er virksomme og at analyseoppsettet er gyldig. Til denne analysen følger det med et slikt kontroll-kit som består av en positiv og en negativ kontroll av humant serum/plasma, som analyseres hver dag analysen tas i bruk. Kontrollene analyseres ved skifte av reagenslot, etter ny kalibrering, starterlot og service [37]. For kontroll-lotten som benyttes i oppgaven har den positive kontrollen en verdi på 1,97 AU/mL, men metoden godkjenner resultater fra 1,1 til 3,8 AU/mL. Den negative kontrollen har en verdi på 0,125 AU/mL, men verdier fra 0 - 0,25 AU/mL godkjennes [Vedlegg 1]. Dersom verdiene til en eller begge kontroller legger seg utenfor disse grensene må kontrollen analyseres på nytt. Dersom den fortsatt legger seg utenfor grensene, må analysen kalibreres og alle kontroller må analyseres om igjen. Prøveresultater kan ikke utgis dersom kontrollene ikke legger seg innenfor de gitte grensene.

En kit-uavhengig kontroll (KUA) benyttes derimot for å overvåke analysens stabilitet, og føres inn i et Excel-ark som gjør det mulig å observere trender; dag til dag og lot til lot variasjoner. Dersom en analyse skal akkrediteres kreves det at analysen overvåkes med en KUA. For å sikre at kontrollene er mest mulig sammenlignbare med pasientprøver bør

kontrollmateriale reflektere det kliniske materialet så godt det lar seg gjøre [37]. En KUA kan enten være kommersiell eller egenprodusert. Egenprodusert kontroll benyttes dersom det ikke finnes en kommersiell på markedet eller det blir vurdert at denne ikke er av god nok kvalitet. Når denne oppgaven utførtes var det ingen kommersiell kontroll tilgjengelig for anti-HDV analyser, og det ble derfor laget en egenprodusert KUA.

Til KUA for denne analysen benyttes kontrollgrenser på 2 og 3 standardavvik (SD). Dersom kontrollen legger seg utenfor 3SD må det gjøres en ny analysering x 3 med ny kontroll. Samtlige av målingene må da ligge innenfor 2SD. Hvis det ikke går, utføres det en kalibrering og alle kontroller analyseres på nytt x 1.

3.6.2 Ekstern kvalitetskontroll

En ekstern kvalitetskontroll kan omtales med mange navn, som sammenlignende laboratorieprøving (SLP), ekstern kvalitetsvurdering (EKV) eller external quality assessment (EQA). I denne oppgaven blir de omtalt som SLP, da dette er akkrediteringsstandarden (ISO 15189) som avdelingen er akkreditert etter. SLP er en kontroll som laboratoriet får tilsendt med ukjent verdi, som skal analyseres som en vanlig prøve, før prøveresultatet sendes tilbake til leverandøren. Leverandøren vurderer riktigheten og presisjonen til de ulike laboratorienes analyse, ved å sammenligne resultatet fra de ulike deltakende laboratoriene mot kjent verdi for kontrollen. I etterkant får man tilsendt en rapport fra leverandøren med tilbakemelding på hvordan eget laboratorium har gjort det, i forhold til andre laboratorier. Ved å delta på et slikt kvalitetskontrollprogram får man dokumentert kvaliteten på egne analyser over lengre tid, som er nyttig for å holde en kontinuerlig nøyaktighet på analysene [36].

3.7 Validering/verifisering

Validering og verifisering er en viktig del av kvalitetssikringsarbeidet ved innføring av nye analysemetoder. Alle metoder og alt utstyr som benyttes på et laboratorium skal være validert [38]. Validering er ifølge NKK definert som *"bekreftelse fra en undersøkelse og fremskaffing av objektivt bevis på at spesielle krav for tilsiktet bruk er innfridd*" [6]. Hensikten med en validering er å undersøke om målemetoden egner seg til det formålet den skal benyttes til, og skal være så omfattende som nødvendig for å oppfylle behovene til den aktuelle bruken

[6;38]. En validering er aktuelt ved innføring av en ny målemetode der valideringsdokumentasjon ikke foreligger. En fullstendig validering bør innebære klinisk nytteverdi, praktisk egnethet og analytisk kvalitet.

Dersom metoden er validert og valideringsdokumentasjon foreligger, er det tilstrekkelig å verifisere metoden. Verifisering innebærer at man dokumenterer at metoden fungerer med samme kvalitet i eget laboratorium, som forventet i henhold til kravene fra leverandør. For å verifisere allerede spesifiserte egenskaper ved analysemetoden benyttes enkle kontroller som kit-avhengige og kit-uavhengige kontroller. I verifiseringsplanen skal det dokumenteres at informasjonen er gjennomgått [38].

Dette prosjektet tar for seg verifiseringen ved innføring av en ny analyse, murex anti-HDV på Liaison XL. Analysen er validert av produsenten DiaSorin. Det er derfor tilstrekkelig for laboratoriet å foreta en verifisering for å undersøke om metoden tilfredsstiller de samme kravene til kvalitet. Gjennom verifiseringsprosessen skal prosedyre og resultat dokumenteres, og gjennomgås av metodevalideringsansvarlig.

4 Material og metode

4.1 Prøvemateriale

4.1.1 Pasientprøver

Det ble analysert totalt 50 pasientprøver, 25 negative og 25 positive for anti-HDV på begge Liaison XL instrumentene. De 25 HDV-negative prøvene ble plukket ut fra blodgivere som allerede hadde testet negativt ved rutinemessig screening for HIV antigen/antistoff, HBsAg, anti-HBc, anti-HCV og syfilis antistoff. Prøvene ble oppbevart ved 5 ℃ fram til analysering. Fem av de positive anti-HDV prøvene ble hentet fram fra avdelingens arkivfryser (-20 ℃), de hadde tidligere blitt analysert for anti-HDV hos FHI. Mens de resterende 20 positive anti-HDV prøvene ble tilsendt fryst fra FHI, og ble oppbevart ved -20 ℃ fram til analysering, da de ble tint.

4.1.2 Etiske betraktninger

Bachelorprosjektet er en kvalitetssikringsoppgave, hvor en ønsker å verifisere en ny metode på analyseinstrumentet Liaison XL. Validering av metoden er allerede utført av produsenten DiaSorin. Oppgaven er et ledd i kvalitetssikring og er derfor fritatt fra søknad om tillatelse gjennom regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk [39]. Det sørges for at prøvesvarene lagres på sikker lagring, er anonymisert og ikke kan spores tilbake til pasienten uten koblingsnøkkel fra sikker lagring. Prosjektet er derfor fritatt meldeplikt til norsk senter for forskningsdata [40].

4.1.3 Sammenlignende laboratorieprøving (SLP)

Det ble benyttet to sett med totalt fire SLP-prøver med kjent verdi som ble tilsendt fra Instand i 2020. Prøvene ble oppbevart i frys (-20 °C), og tint før analysering.

4.2 Reagenser og kontroller

Under vises en oversikt over ulike reagenser og kontroller som
er benyttet i oppgaven.

Tabell 2. Reagenser og kontroller som ble benyttet til å verifisere metoden murex anti-HDV på Liaison XL. Reagenskit og kontroller ble oppbevart i kjøleskap (4 °C) mellom analyseringene.

Reagens/kontroll	**Referansenummer**	**Lot nummer**	**Utløpsdato**	**Leverandør**
LIAISON® XL murex anti-HDV	311260	#257007 #257009	01/04/2021 02/02/2022	DiaSorin
LIAISON® XL murex control anti-HDV	311261	#258006	03/04/2021	DiaSorin
kit-uavhengig kontroll	i.t	#HD240321	31/1/2025	Egenprodusert
Føtalt bovinserum (FBS)	SH30073.03	#AF29165348	03.01/2025	Thermo Fisher Scientific, GE Healthcare HyClone

4.2.1 Produksjon av kit-uavhengig kontroll

MIA ble akkreditert av Norsk Akkreditering i 2015 etter NS-EN ISO 15189. Med dette følger det visse krav for at en analyse skal akkrediteres, som bla. innebærer bruk av KUA [41]. På

grunn av mangel på kommersielt tilgjengelig kontroller for analysen anti-HDV på Liaison XL, ble det laget en egenprodusert kit-uavhengig kontroll (KUA).

Den kit-uavhengige kontrollen ble laget ved å fortynne en serumpool fra positive anti-HDV prøver med føtalt bovinserum (FBS). Ti sterkt positive prøver for anti-HDV ble avidentifisert, blandet sammen til en serumpool og analysert på Liaison XL for å finne dens kvantitative verdi. Det ble satt opp en fortynningsrekke av serumpool og FBS for å finne rett fortynning. FHI anbefaler å velge en fortynning som ligger mellom 1,5 - 2,5 x cut-off for serologiske analyser [42], som for denne analysen tilsvarer mellom 1,5 - 2,5 AU/mL, da cut-off er satt til 1,0 AU/mL av produsent. MIA benytter 2,0-2,5 x cut-off i sine interne prosedyrer, en tilpasning de har gjort for å sikre at kontrollgrensene ikke havner i gråsonen eller rundt cut-off for analysene.

Det ble testet et stort antall fortynningsrekker før en fortynning på 1:4600 ble valgt da denne ga verdier i området mellom 2,0 - 2,5 AU/mL. KUA fortynningen ble overført til ni arkivrør med 500 µl i hvert rør. Åtte av arkivrørene ble fryst ned (-20 °C) i egnet boks sammen med serumpoolen, mens ett av arkivrørene ble benyttet til en innkjøring av KUA på begge Liaison XL instrumentene. Mellom hver analysering ble KUA oppbevart i kjøleskap ved 4 °C. Det ble utført en «hurtig innkjøring» av KUA ved å analysere kontrollen fem ganger daglig, over tre dager slik at kontrollgrenser kunne defineres.

4.3 Instrument og utstyr

Det er to Liaison XL instrumenter på avdelingen, Mario (Liaison XL 1) og Luigi (Liaison XL 2), som i dag benyttes til analysering av antistoffer mot eller antigener av forskjellige mikrober/bakterier/virus. Liaison XL har tilhørende utstyr som består av kyvetter, spisser, avfallsposer, prøvestativ, akselerator, start-kit og et vaskesystem. Det ble utført en verifisering av metoden LIAISON® XL murex anti-HDV (DiaSorin) på to Liaison XL. Verifiseringen utføres før metoden kan tas i bruk for å bekrefte at metoden holder samme kvalitet i deres laboratorium, som produsent har dokumentert at den skal ha.

Tabell 3. Utstyrsliste. Materiale med manglende referanse- og lot nummer omtales med ikke tilgjengelig (i.t).

Material	**Referansenummer**	**Lot nummer**	**Leverandør**	**Produsentland**
Mega Star 1.6 sentrifuge	621-1749	i.t	VWR	Tyskland
Erlenmeyerkolbe 50 mL	214-1130	i.t	VWR	Tyskland
Arkivrør	60.549	7226/0006009	SARSTEDT AG & Co. KG	Tyskland
10 mL rør	62.9924.284	2005440	SARSTEDT AG & Co. KG	Tyskland
Transferpipette 3,5 mL	86.1172	1050421	SARSTEDT AG & Co. KG	Tyskland
Pipette 5-50 µl	OH30165	i.t	Thermo Fisher Scientific	Finland
Pipette 100-1000 µl	LH67015	i.t	Thermo Fisher Scientific	Finland
Pipette 0,5-5 mL	NH95051	i.t	Thermo Fisher Scientific	Finland
Finntip 5 mL pipette tips	9402030	20232M0	Thermo Fisher Scientific	Finland
Finntip 50 µl pipette tips	9400370	7176A0	Thermo Fisher Scientific	Finland
1000 µl pipette tips	70.3050.255	1050721	SARSTEDT AG & Co. KG	Tyskland

4.4 Liaison XL analyse

Prøvene ble ført inn i innlastningsområdet på instrumentet ved hjelp av egnet prøvestativ, med plass til tolv prøver av gangen. Instrumentet var utstyrt med en barkodeleser som scannet barkoden på prøvestativ og prøvene til analysering. Ønsket analyse ble bestilt manuelt for hver prøve.

Ved start av anti-HDV-analysen ble 20 µl av serumprøvene pipettert og fordelt i sine respektive kyvetter. Minimum volum for en enkelt bestemmelse av anti-HDV var på 170 µl da instrumentet i tillegg trengte et dødvolum på 150 µl for hver anti-HDV-analyse. Etter 30 minutters analysetid ble resultatet presentert på instrumentets display under "resultat" med tilhørende RLU, indeksverdi (< 0,100 - 30,0 AU/mL) og kvalitativt flagg (REACT = påvist, NONREACT = ikke påvist).

Resultatene ble skrevet ut og manuelt overført til Excel. For pasientprøver og SLP-prøver ble det ført inn både indeksverdi og kvalitative flagg. Kontroller ble ført inn med kun indeksverdi.

4.5 Statistisk sammenligning av Liaison XL instrumentene

4.5.1 Formler

(1) Standardavvik

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

x = utvalgsgjennomsnittet
n = utvalgsstørrelsen

(2) CV %

$$CV\ \% = \frac{SD}{\bar{x}} \cdot 100\ \%$$

SD = standardavvik
$\bar{x}$ = gjennomsnitt

(3) Sensitivitet

$$Sensitivitet = \frac{SP}{SP + FN}$$

SP = sann positiv

FN = falsk negativ

(4) Spesifisitet

$$Spesifisitet = \frac{SN}{SN + FP}$$

SN = sann negativ
FP = falsk positiv

4.5.2 Regresjonsanalyse

For å finne ut om det er en lineær sammenheng for analyseresultatene mellom Liaison XL instrumentene Mario og Luigi, ble det utført en lineær regresjonsanalyse. Resultatene fra Mario ble plottet langs x-aksen, og resultatene fra Luigi langs y-aksen, deretter ble det trukket en trendlinje gjennom resultatene. Det ble benyttet dataanalyse som verktøy for å finne korrelasjonskoeffisienten, stigningstall og konstantledd for den rette linjen. Korrelasjonskoeffisienten for den rette linjen angir styrken på den lineære sammenhengen mellom instrumentene. I teorien er det slik at jo nærmere r = 1, desto mer nøyaktig ligger punktene på den rette linjen [43].

4.5.3 Sensitivitet og spesifisitet

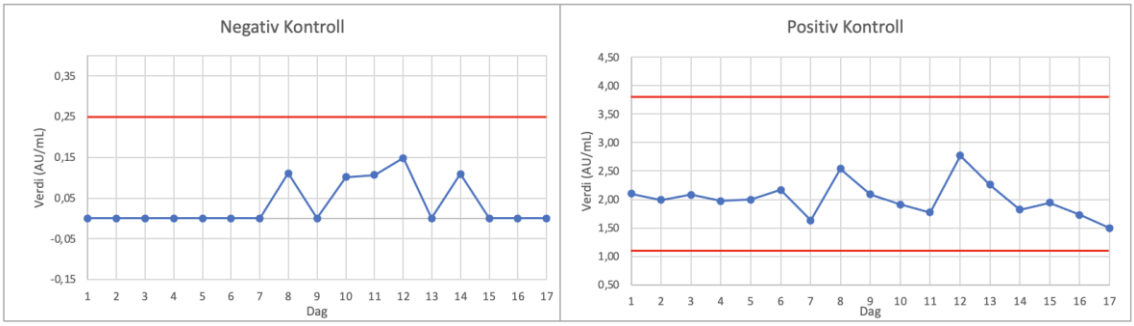
Sensitivitet defineres som sannsynligheten for at et sykt individ får en positiv test, mens spesifisitet defineres som sannsynligheten for at et friskt individ får negativ test. Det er ønskelig at en metode både har høy sensitivitet og spesifisitet [44]. Sensitivitet og spesifisitet ble beregnet for å sammenlikne med hva som er oppgitt i pakningsvedlegget for analysen. Disse ble beregnet ved hjelp av sann positiv, falsk positiv, sann negativ og falsk negativ for de totalt 50 pasientprøvene. Til beregning av sensitivitet og spesifisitet ble formel 3 og 4 benyttet.

5 Resultat

5.1 Kontroller

5.1.1 Kit-avhengig kontroll

Ved oppstart av instrumentene ble det analysert positiv og negativ kit-avhengig kontroll før selve analysering av pasientprøver og KUA. I løpet av prosjektet ble det totalt utført 17 analyser av hver av de kit-avhengige kontrollene. Alle verdiene for den negative kontrollen lå under den øvre grensen fra DiaSorin på 0,250 AU/mL (høy), og samtlige verdier for positiv kontroll lå innenfor de oppgitte grensene på 3,80 AU/mL (høy) og 1,10 AU/mL (lav) (figur 9).



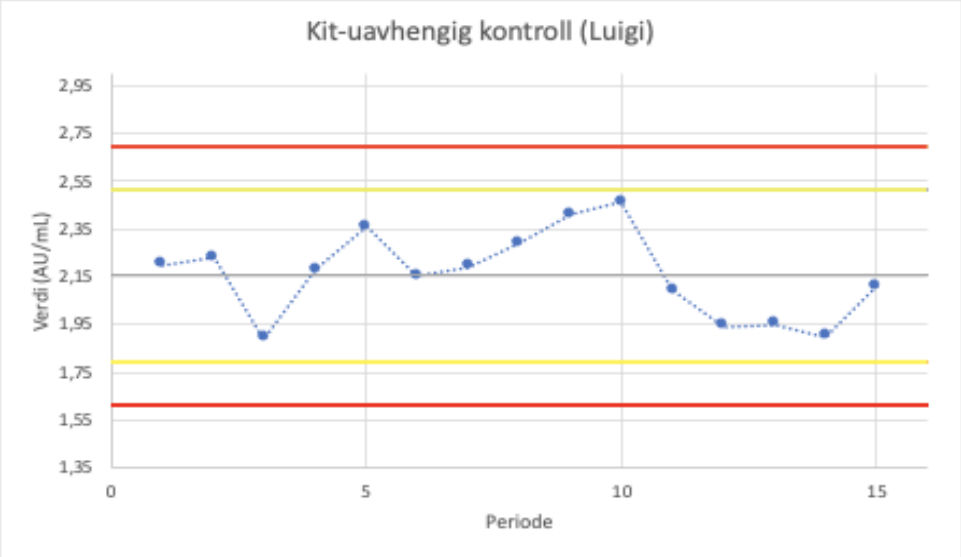
Figur 9. Negativ og positiv kit-uavhengig kontroll. Kontrollene er analysert ved oppstart av instrumentet før analysering av pasientprøver og kit-uavhengig kontroll. De røde linjene er øvre og nedre grenser for analysen, definert av produsenten DiaSorin.

5.1.2 Kit-uavhengig kontroll (KUA)

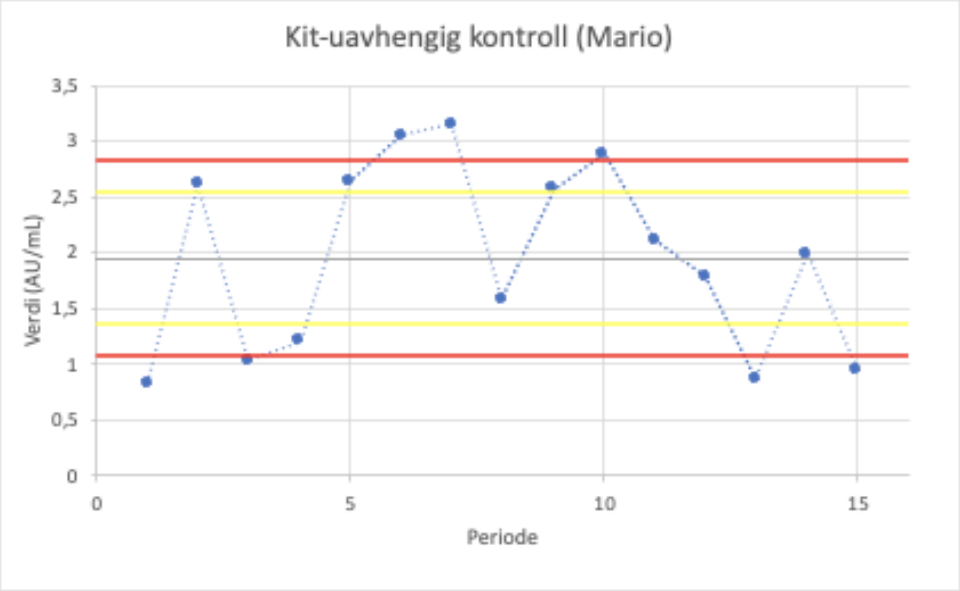
Resultatene for gjennomsnittet av de 15 KUA-målingene på Luigi og Mario ble på henholdsvis 2,16 og 1,95. Standardavviket ble beregnet til 0,18 på Luigi og 0,29 (oppgitt CV %) på Mario. Gjennomsnittsverdi og standardavvik (formel 1) ble benyttet til beregning av metodens variasjonskoeffisient (CV %) på de to instrumentene, samt kontrollgrenser (Luigi). Resultatene ga en beregnet CV % på 8,83 % på Luigi og 43,94 % på Mario (formel 2). Kontrollgrensene som ble benyttet var 2SD og 3SD, og ble beregnet til 2,16 +/- 0,362 og 2,16 +/- 0,542 på Luigi (tabell 4). Samtlige verdier for KUA-målingene på Luigi lå innenfor 2SD (figur 10). På Mario ble det benyttet oppgitt CV % fra produsenten (15 %) til beregning av standardavvik og kontrollgrenser, da beregnet CV % for Mario var for høy. MIA har satt sine akseptgrenser på 25 % for ELISA og CLIA analyser. Dette ga følgende grenser på 1,95 +/- 0,585 og 1,95 +/- 0,878 for KUA på Mario (tabell 4). Sju av de analyserte KUA--verdiene falt utenfor 3SD og fire utenfor 2SD under innkjøringen (figur 11).

Tabell 4. Beregnede statistiske verdier for kit-uavhengig kontroll på Liaison XL 1 og 2. Kontrollgrensene for Luigi ble beregnet fra gjennomsnittsverdien og standardavvik. For Mario ble kontrollgrensene beregnet fra gjennomsnittsverdien og oppgitt CV % på 15 %. Oppgitt CV % er basert på analysens reproduserbarhet, og er oppgitt fra produsenten. De resterende variablene i tabellen ble beregnet fra indeksverdien til KUA-målingene.

Variabel	**«Luigi» (Liaison XL 1)**	**«Mario» (Liaison XL 2)**
Gjennomsnitt	2,16	1,95
Standardavvik	0,18	0,29
Oppgitt CV %	15 %	15 %
Beregnet CV %	8,83 %	43,94 %
2SD	2,16 +/- 0,362	1,95 +/- 0,585
3SD	2,16 +/- 0,542	1,95 +/- 0,878



Figur 10. Levey-Jennings plot for kit-uavhengig kontroll fra Luigi. Figuren viser innkjøring av KUA i fortynning 1:4600 analysert i et intervall på fem målinger daglig over tre døgn. Kontrollgrensene på 3SD (rød) og 2SD (gul) er definert ut ifra innkjøringsresultatene. Gjennomsnittet av målingene er markert som en grå linje.



Figur 11. Levey-Jennings plot for kit-uavhengig kontroll fra Mario. Figuren viser innkjøring av KUA i fortynning 1:4600 analysert i et intervall på fem målinger daglig over tre døgn. Gjennomsnittet av målingene er markert som en grå linje. Kontrollgrensene på 3SD (rød) og 2SD (gul) er definert ut ifra innkjøringsresultatene og oppgitt CV % fra produsent. Sju av de analyserte KUA-verdiene faller utenfor 3SD og elleve utenfor 2SD.

5.2 Sammenlignende laboratorieprøving (SLP)

De kvalitative resultatene fra alle fire SLP ga samme resultat på begge Liaison XL instrumentene, og de stemte også overens med kjent verdi for SLP fra Instand (tabell 5).

Tabell 5. Kvalitative resultater for anti-HDV i SLP fra Instand analysert på Liaison XL 1 og 2. POS= reaktiv for anti-HDV, NEG ikke reaktiv for anti-HDV.

Prøve ID	Liaison XL 1 (Mario)	Liaison XL 2 (Luigi)	Kjent verdi (Instand)
41	NEG	NEG	NEG
42	POS	POS	POS
43	POS	POS	POS
44	POS	POS	POS

5.3 Sammenligning av prøvesvar fra Liaison XL og analyser utført ved FHI

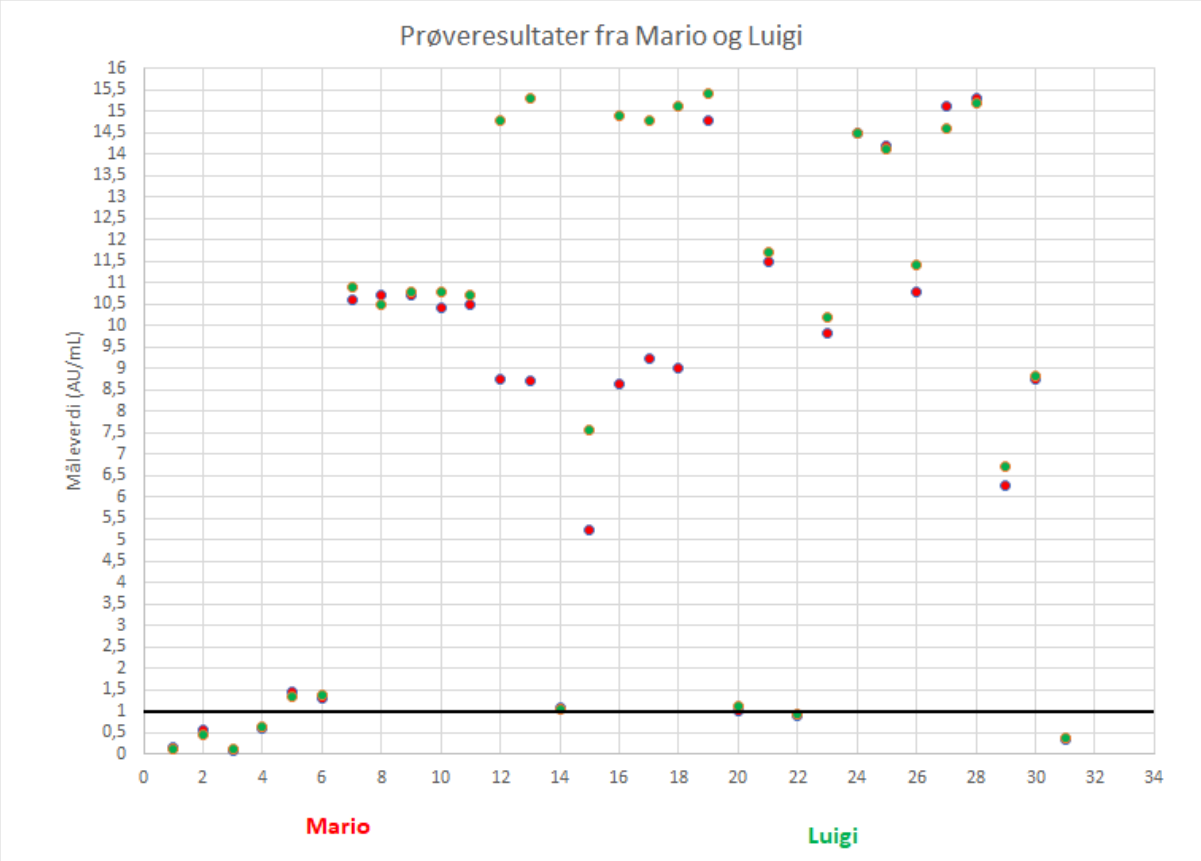
Det er samsvar mellom de kvalitative resultatene på Liaison XL instrumentene og resultatene fra FHI, med unntak av prøve B14, B16 og B25. B14 får et negativt resultat på Mario, men blir positiv på Luigi og hos FHI. Prøve B16 og B25 gir begge negativt resultat på Liaison XL instrumentene, men er positive hos FHI (tabell 6).

Tabell 6. Sammenligning av kvalitative resultater for anti-HDV på Liaison XL 1 og 2 mot FHI. POS= reaktiv for anti-HDV, NEG ikke reaktiv for anti-HDV.

Prøve ID	Liaison XL 1 (Mario)	Liaison XL 2 (Luigi)	FHI
B1	POS	POS	POS
B2	POS	POS	POS
B3	POS	POS	POS
B4	POS	POS	POS
B5	POS	POS	POS
B6	POS	POS	POS
B7	POS	POS	POS
B8	POS	POS	POS
B9	POS	POS	POS
B10	POS	POS	POS
B11	POS	POS	POS
B12	POS	POS	POS
B13	POS	POS	POS
B14	NEG	POS	POS
B15	POS	POS	POS
B16	NEG	NEG	POS
B17	POS	POS	POS
B18	POS	POS	POS
B19	POS	POS	POS
B20	POS	POS	POS
B21	POS	POS	POS
B22	POS	POS	POS
B23	POS	POS	POS
B24	POS	POS	POS
B25	NEG	NEG	POS

5.4 Sammenligning av Mario og Luigi

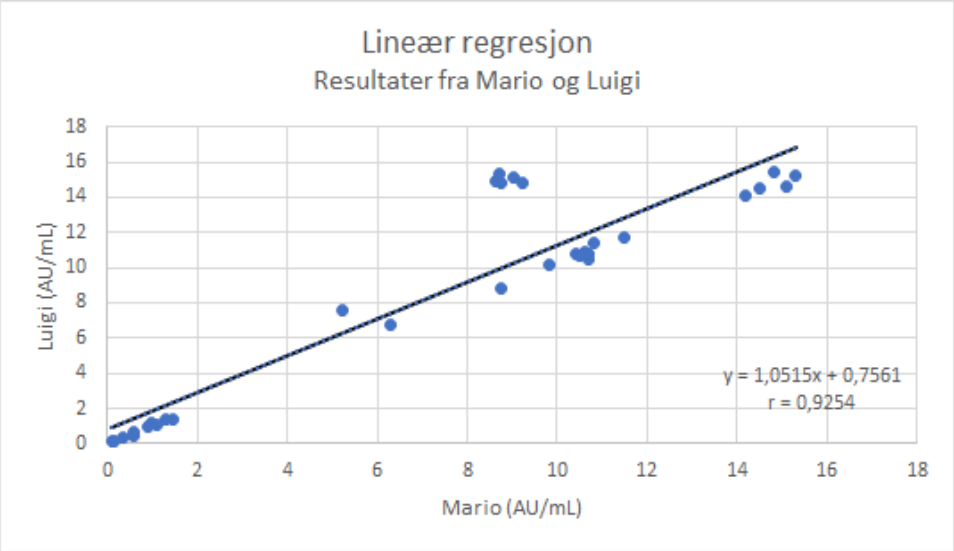
Diagrammet i figur 12 viser at de kvalitative resultatene fra pasientprøvene målt på Liaison XL instrumentene ble tilsvarende på både Mario og Luigi, med unntak av prøve nummer 20 (B14) i diagrammet. På Mario ble denne prøven detektert som negativ (0,998 AU/mL), mens den ble detektert positiv (1,12 AU/mL) på Luigi.



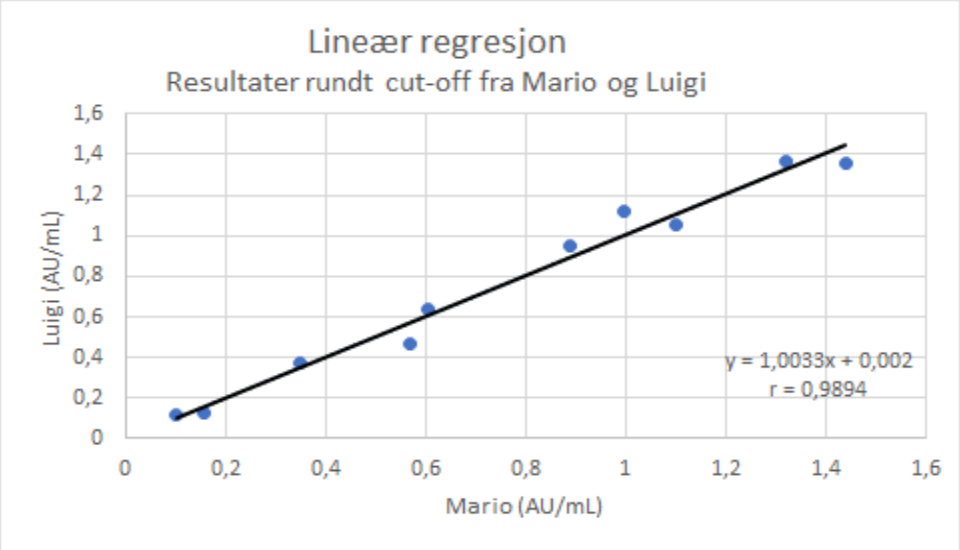
Figur 12. Prøveresultater fra Mario og Luigi. Sammenligning av pasientprøve-resultater målt på Liaison XL. Kun prøver med indeksverdi er tatt med i diagrammet, prøver med verdi < 0,100 er utelatt. De røde prikkene er resultater fra prøver målt på Mario, og de grønne fra Luigi. Horisontal linje viser cut-off verdi (1,0 AU/mL) for analysen.

5.4.1 Lineær regresjon

Fra diagrammet i figur 13 kan man se at de fleste resultatene plasserer seg tett inntil trendlinjen, med unntak av fem verdier som er plassert et lite stykke over trendlinjen, grunnet høyere måleverdi på Luigi enn Mario. Korrelasjonskoeffisienten er beregnet til 0,9254. Ved å kun benytte de prøvene med resultater rundt cut-off verdi for analysen ses det en forbedring i linearitet, og korrelasjonskoeffisienten (0,9894) legger seg nærmere 1 (figur 14).



Figur 13. Lineær regresjon Mario og Luigi. Diagrammet viser den lineære sammenhengen mellom instrumentene Mario og Luigi, der korrelasjonskoeffisient (r) og formel til trendlinjen er presentert. Kun prøver med indeksverdi er tatt med i diagrammet, prøver med verdi < 0,100 er utelatt.



Figur 14. Lineær regresjon Mario og Luigi. Diagrammet viser den lineære sammenhengen mellom instrumentene Mario og Luigi, der korrelasjonskoeffisient (r) og formel til trendlinjen er presentert. Det er kun benyttet resultater fra prøver som ligger rundt cut-off verdi (1,0 AU/mL).

5.4.2 Sensitivitet og spesifisitet

Beregningene for Mario ga en sensitivitet på 88 % og spesifisitet på 92 %. For Luigi ble samtlige parameter beregnet til 92 % (tabell 7).

Tabell 7. Beregning av spesifisitet og sensitivitet fra Luigi og Mario. De kvantitative resultatene fra de positive og negative pasientprøvene ble benyttet til å beregne spesifisitet og sensitivitet for hvert analyseinstrument.

Instrument	Sensitivitet	Spesifisitet
Mario	88 %	92 %
Luigi	92 %	92 %

6 Diskusjon

Målet med prosjektet var å undersøke om anti-HDV-analysen på Liaison XL kan verifiseres til bruk på MIA, og utføre en sammenligning av to Liaison XL instrumentene som er på avdelingen.

6.1 Kit-uavhengig kontroll (KUA)

Laboratoriet er akkreditert etter NS-EN ISO 15189, som blant annet medfører krav om analysering av KUA for at en analyse skal akkrediteres [41]. Ved oppstart av prosjektet fantes det ingen kommersielle kit-uavhengig kontroll tilgjengelig på markedet. Det ble derfor vedtatt å lage en egenprodusert KUA da det var tilstrekkelig med prøvemateriale igjen etter analysering av de positive pasientprøvene.

Resultatene fra "hurtig innkjøring" på instrumentene ga en CV % på 8,38 % på Luigi. På Mario ble det observert en større variasjon mellom resultatene, hvor CV % ble beregnet til 43,49 % (tabell 4). KUA ligger innenfor anbefalt verdi på 1,5 - 2,5 x cut-off (1,0 AU/mL) på Luigi, mens resultatene fra Mario legger seg både under og over anbefalt verdi for cut-off. I perioden når innkjøringen ble gjennomført hadde avdelingen problemer med Mario, der flere av deres kontroller til andre analyser la seg utenfor de gitte kontrollgrenser. Dette kan ha en sammenheng med den store spredningen i resultatene for KUA på Mario, da samme kontroll lå jevnt fordelt innenfor ønsket område på Luigi. På bakgrunn av dette er det rimelig å anta at de store variasjonene i måleresultater på Mario skyldes problemer med instrumentet, og ikke en ustabil KUA.

Grensene som benyttes er på 2SD og 3SD, og er presentert i tabell 4. Alle KUA-målingene ligger innenfor 2SD på Luigi (figur 10), mens på Mario er elleve av de analyserte KUA-verdiene utenfor 2SD og sju verdier ligger utenfor 3SD (figur 11). Grensene skal benyttes til å overvåke presisjon (usikkerhet), endringer i stabilitet og trender når analysen tas i bruk. Ettersom resultatene på Mario var svært varierende og avdelingen har hatt problemer med instrumentet, anbefales det å kun benytte Luigi til analysen fram til problemet er løst og KUA er kjørt inn på nytt.

En kommersiell kit-uavhengig kontroll vil bli tilgjengelig i løpet av 2021. Videre kan det derfor være hensiktsmessig å teste ut denne, og sammenligne den med egenprodusert KUA, for å se hvilken som egner seg best og er mest stabil over tid.

6.2 Sammenligning av ETI-AB-DELTAK-2 og murex anti-HDV

Til analysene i denne oppgaven er det kommersielle analysekittet murex anti-HDV (DiaSorin) brukt, til forskjell fra det de benytter hos FHI kalt ETI-AB-DELTAK-2 (DiaSorin). De to kittene benytter forskjellige måleprinsipper og resultatene fra testene kan derfor ikke direkte sammenlignes. DiaSorins ETI-AB-DELTAK-2 er en konkurransetest basert på enzymkoblet immunadsorberende analyseteknikk (ELISA). Cut-off for analysen bestemmes ved å legge sammen gjennomsnittabsorbansen for negativ kontroll x 0,5 til gjennomsnittsabsorbansen for positiv kontroll x 0,5. Prøver med en lavere absorbans enn cut-off detekteres som anti-HDV-positive. DiaSorins murex anti-HDV er en to-trinns kjemilumenecens immunoassay (CLIA), med en fast cut-off verdi satt til 1,0 AU/mL. Produsenten av ETI-AB-DELTAK-2 opplyser at metoden krever en rekke manuelle steg som må utføres før resultatet foreligger, og at dette tar rundt 3,5 time. Der DiaSorins murex anti-HDV er fullautomatisert og bruker kun 35 minutter. I tillegg til lang analyseringstid ved bruk av ETI-AB-DELTAK, vil denne manuelle metoden også føre til flere feilkilder sammenliknet med den fullautomatiserte metoden. Feilkilder kan oppstå ved unøyaktige pipetteringer og variasjoner fra person til person som utfører analysen. Den fullautomatiserte metoden er mer reproduserbar, der resultatene av målingene er uavhengig av hvem som analyserer prøvene. Ifølge Rocco m.fl. ved Università Federico II i Napoli som har utført en sammenligning mellom de to metodene, finner de at det er godt samsvar mellom dem, men at murex anti-HDV har en lavere deteksjonsgrense (sensitivitet) enn ETI-AB-DELTAK-2 [45].

6.3 Sammenligning av prøvesvar fra Liaison XL og analyser utført ved FHI

De positive pasientprøvene benyttet i dette prosjektet er tidligere analysert hos FHI, som er referanselaboratorium for HDV i Norge. Hos FHI har de blitt analysert ved hjelp av to ulike immunoassay-metoder (DiaSorin ETI-DELTAK-2 og Dia.Pro HDV Ab EIA). Det var godt samsvar mellom resultatene fra FHI og MIA, hvor totalt 22 av 25 (88 %) forventet positive prøver ble positive hos MIA (tabell 6). På Mario og Luigi er henholdsvis tre og to av de forventet positive prøvene detektert som negative. Dette gjelder prøve B14 (kun på Mario), B16 og B25, hvor prøvene B14 og B16 har verdier som ligger rundt cut-off området. På Luigi ble B14 liggende like over cut-off (1,12 AU/mL) og derfor vurdert som positiv, mens på Mario ble prøven liggende like under cut-off (0,998 AU/mL) og derav negativ(figur 12). B16 ble liggende rett under cut-off (0,890 og 0,951 AU/mL) på begge instrumentene, mens B25 (0,347 og 0,371 AU/mL) ble liggende et godt stykke under cut-off (figur 12).

Både prøve B14 og B16 legger seg i et område som omtales som gråsone (figur 12), en betegnelse på et måleområde hvor det ikke er sikkert om resultatet analytisk sett er positivt eller negativt. De fleste kit-leverandører definerer gråsoneområder i sine analyseprosedyrer, for DiaSorins murex anti-HDV-analysen er ikke dette tilfelle [42]. Gjennom videre analysering av KUA vil avdelingen definere gråsone for analysen. Størrelsen på gråsoneområdet defineres vanligvis som cut-off ± (2CV% x cut-off), og skal oppdateres årlig, og gjennomgås minst en gang i halvåret [46]. Prøver som detekteres i gråsonen vil få inkonklusivt resultat, og det vil bli bedt om en ny prøve etter noen uker for å se om resultatet har endret seg. I tillegg ville eventuelt en prøve blitt sendt til referanselaboratorium for hepatitter (FHI) slik at prøven også kan analyseres der, samt at en PCR-analyse ville blitt utført. Resultatet fra testene vil ses i sammenheng med pasientens kliniske opplysninger, slik at beslutninger tas på bakgrunn av et helhetlig bilde.

Resultatet fra prøve B25 ligger som sagt et godt stykke under cut-off og blir detektert som negativ i vårt laboratorium, men positiv hos FHI. FHI opplyser selv at de har byttet analysekit i perioden da prøvene ble analysert. Prøven ble analysert med Dia.Pro HDV Ab EIA, et kit de ikke lenger bruker, og ble detektert som svakt positiv hos FHI. Dette kan forklare hvorfor prøven ikke ble detektert som positiv med murex anti-HDV. Det ville derfor vært interessant

å analysere prøven med nåværende metode hos FHI, ETI-AB-DELTAK-2, for å undersøke nåværende samsvar mellom metodene. Det finnes imidlertid ingen gullstandard for anti-HDV-analyser, og man kan derfor i utgangspunktet ikke nødvendigvis betrakte FHI sine prøveresultater som en fasit.

6.4 Instrumentsammenligning av Mario og Luigi

I dette prosjektet er anti-HDV-metoden blitt analysert på to Liaison XL instrumenter (Mario og Luigi) som fungerer som reserveinstrument for hverandre. Metoden skal kunne utføres på både Mario og Luigi, og det ble derfor gjennomført en sammenligning av instrumentene.

For å studere sammenhengen mellom Mario og Luigi er det utført lineær regresjon, resultatet er presentert i figur 13. Den viser at det er en lineær sammenheng mellom instrumentene over hele måleområdet, men at Luigi har en tendens til å måle høyere enn Mario i områder med høy konsentrasjon. Korrelasjonskoeffisienten (r) for den rette linjen er beregnet til 0,9254, og angir styrken på den lineære sammenhengen mellom instrumentene. En korrelasjonskoeffisient på 0,9254 viser dermed at det er relativt god sammenheng mellom de to Liaison XL instrumentene. Den gode korrelasjonen mellom målingene underbygges av stigningstallet (1,0515) og skjæringspunktet (0,756) til den rette linjen. Lineær regresjon fra prøvene med verdier rundt cut-off området (1,0 AU/mL) viser en større lineær sammenheng mellom de to instrumentene (figur 14). Korrelasjonskoeffisienten er beregnet til 0,9894 og ligger nærmere 1.

Det mest vesentlige for metoden er at resultatene samsvarer i cut-off området, da dette vil ha størst betydning for diagnostiseringen. Det at Luigi måler litt høyere verdier enn Mario hos prøver med høy antistoffkonsentrasjon vil ikke gi noe utslag på prøvesvaret, da resultater langt over cut-off likevel vil bli detektert som positive.

De kvalitative resultatene fra positive og negative pasientprøver ble benyttet til å beregne spesifisitet og sensitivitet for anti-HDV-metoden på instrumentene. Produsenten oppgir en diagnostisk sensitivitet og spesifisitet på henholdsvis 100 % og 99,35 %. Beregningene for Mario ga en sensitivitet på 88 % og spesifisitet på 92 %. For Luigi ble samtlige parameter beregnet til 92 %. Årsaken til forskjellen i spesifisitet og sensitivitet mellom produsent og instrumentene benyttet i prosjektet, skyldes trolig forskjell i antall prøver. Produsenten har

benyttet 2169 prøver, mens man i dette prosjektet kun har benyttet 50 prøver. På grunn av et lavere antall prøver vil falskt positive og negative resultat påvirke spesifisiteten og sensitiviteten i større grad. Det hadde vært ønskelig å analysere et større antall positive prøver, men grunnet begrenset tilgang på positive anti-HDV-prøver har dette ikke latt seg gjennomføre.

For å vurdere metodens diagnostiske spesifisitet har DiaSorin testet 1995 prøver fra en negativ anti-HDV populasjon, 1009 av disse kom fra blodgivere. Hos denne gruppen ble det observert sju positive resultater som ga en spesifisitet på 99,31 %. I denne oppgaven ble også blodgivere benyttet som opphav til de negative prøvene, der to av de 25 prøvene ble detektert som positiv. Ved Mikrobiologisk avdeling benyttes kliniske opplysninger i stor grad til å vurdere prøveresultatet, spesielt i tilfeller der prøveresultatet legger seg i gråsonen. I dette tilfellet hvor to av prøvene fra blodgiverne har blitt positive, kan vi med sikkerhet si at de er falskt positive. Dette fordi prøvene kommer fra to blodgivere som regelmessig gir blod og dermed har testet negativt for HBV ved gjentatte anledninger. Det er sannsynlig at årsaken til at disse prøvene har blitt detektert som positive, skyldes en uspesifikk reaktivitet. Altså at deteksjons-antistoffer binder seg til andre lignende epitoper enn det som var tiltenkt, som vil gi en uspesifikk reaksjon i analysen. I realiteten ville man ikke stått ovenfor en slik situasjon da kun pasienten med påvist HBV vil bli screenet for HDV, og som nevnt tidligere vil klinikken i stor grad bli brukt for å sette en sikker diagnose, i tillegg til eventuelle gjentatte tester og et referanselaboratorium (FHI).

7 Konklusjon

Vi har funnet at det vil være fullt mulig å gjennomføre HDV-diagnostikk på Liaison XL instrumentene. Det er samsvarende resultater mellom pasientprøvene analysert på Liaison XL og resultatene fra FHI. De kvalitative resultatene fra SLP-prøvene fra begge Liaison XL instrumentene stemmer overens med kjent verdi fra SLP-leverandør Instand. På bakgrunn av dette konkluderes det med at metoden kan verifiseres på både Mario og Luigi, men at KUA bør kjøres inn på nytt på Mario før metoden tas i bruk på dette instrumentet. Eventuelt kan en kommersiell KUA tas i bruk når det blir tilgjengelig, dersom den vurderes som mer stabil.

8 Referanser

1. Regjeringen. Nasjonal strategi mot hepatitter [Internett]. Helse- og omsorgsdepartementet. [oppdatert 09. okt 2018; hentet 23. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.regjeringen.no/no/dokumenter/nasjonal-strategi-mot-hepatitter/id2618584/

2. Diasorin. Keyfacts on HDV Iinternett]. [hentet 23. mars 2021]. Tilgjengelig fra: http://hdv.diasorin.com/keyfacts.html

3. FHI. Hepatitt D - veileder for helsepersonell [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet [oppdatert 19. april 2019; hentet 10. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/hepatitt-d/

4. FHI. Hepatitt A, B, C, D og E [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet [oppdatert 01. okt 2018; hentet 10. mars 2021]. Tilgjengelig fra: (https://www.fhi.no/nettpub/veileder-for-mikrobiologiske-laboratorieanalyser/agens-a-a/hepatittvirus-a-b-c-d-og-e/)

5. DiaSorin. LIAISON XL MUREX Anti-HDV [Internett]. [hentet 10. mars 2021]. Tilgjengelig fra: http://hdv.diasorin.com/liaison.html

6. NKK. Validering/verifisering av klinisk kjemiske analyser [Internett]. Februar 2002 [hentet 10. mars 2021]. Tilgjengelig fra: http://doc.noklus.no/handler.ashx?r=nkk&id=Val_NKK.pdf

7. Schøyen Rolf. Mikroorganismer og sykdom: Lærebok i mikrobiologi og infeksjonssykdommer for helsepersonell. 9. utg. Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS; 2017. 496 s.

8. Wikipedia. Introduction to viruses [Internett]. [oppdatert 6. mai 2021; hentet 19. mai 2021]. Figur tilgjengelig fra: https://en.wikipedia.org/wiki/Introduction_to_viruses

9. Rollag Halvor, Müller Fredrik, Tønjum Tone. Medisinsk mikrobiologi. 4. utg. Oslo: Gyldendal Norsk Forlag; 2019. 516 s.

10. Wikipedia. Viral replication [Internett]. [oppdatert 30.mars 2021; hentet 14. april 2021]. Figur tilgjengelig fra: https://en.wikipedia.org/wiki/Viral_replication#cite_note-1

11. FHI. Kort om hepatitt - virus som gir leverbetennelse [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet. 16. oktober 2015. [oppdatert 18.oktober 2018; hentet 11. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.fhi.no/sv/smittsomme-sykdommer/hepatitt/hepatitt/

12. NHI. Gulsott, veiviser [Internett]. Trondheim: Norsk Helseinformatikk. [oppdatert 27. april 2018; hentet 11. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://nhi.no/symptomer/kirurgi/gulsott-veiviser/

13. MetroHealth. Hepatitis [Internett]. 30. juli 2019. [hentet 11. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.metrohealthhmo.com/hepatitis/
14. FHI. Hepatitt A - veileder for helsepersonell [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet. 25. feb 2010 [oppdatert 01. okt 2019; hentet 11. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/hepatitt-a---veileder-for-helsepers/
15. FHI. Hepatitt C - veileder for helsepersonell [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet. 25. feb 2010. [oppdatert 02. april 2019; hentet 17. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/hepatitt-c---veileder-for-helsepers/.
16. FHI. Hepatitt E - veileder for helsepersonell [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet. 25. feb 2010. [oppdatert 05. feb 2019; hentet 18. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/hepatitt-e---veileder-for-helsepers/
17. FHI. Hepatitt B - veileder for helsepersonell [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet. 25. feb 2010 [oppdatert 25. okt 2018; hentet 11. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/hepatitt-b---veileder-for-helsepers/
18. Lamontagne RJ, Bagga S, Bouchard MJ. Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. Hepatoma Res. 2016; 2:163-186. doi: 10.20517/2394-5079.2016.05
19. Block TM, Guo H, Guo J-T. Molecular virology of hepatitis B virus for clinicians. Clin Liver Dis. 2007;11(4):685-706. doi: 10.1016/j.cld.2007.08.002.
20. Wikipedia. Hepatitis B [Internett]. [oppdatert 20. april 2021; hentet 22. april 2021] Figur tilgjengelig fra: https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_B
21. Liang TJ. Hepatitis B: The Virus and Disease. Hepatology. 2009;49(5):13-21. doi: 10.1002/hep.22881.
22. Lucifora J, Arzberger S, Durantel D, Belloni L, Strubin M, Levrero M, et al. Hepatitis B virus X protein is essential to initiate and maintain virus replication after infection. J Hepatol. 2011;55(5):996-1003. doi: 10.1016/j.jhep.2011.02.015.
23. Gonzalez SA. Hepatitis B Virus [Internett]. Pittsburgh: Antimicrobe [hentet 25. mars 2021]. Tilgjengelig fra: http://www.antimicrobe.org/v22.asp#t1
24. NHI. Hepatitt B [Internett]. Trondheim: Norsk Helseinformatikk. [oppdatert 18. okt 2020; hentet 12. mars]. Tilgjengelig fra: https://nhi.no/livsstil/reise/hepatitt-b/?page=2)

25. WHO. Hepatitt B [Internett]. Genève: World Health Organization. 27. juli 2020. [hentet 22. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b
26. Hou J, Liu Z, Gu F. Epidemiology and Prevention of hepatitis B Virus Infection. Korean J Hepatol. 2005;2(1):50-57. doi: 10.7150/ijms.2.50.
27. WHO. Immunization, Vaccines and Biologicals: Hepatitis B [Internett]. [oppdatert 24. jan 2018; hentet 12. mars]. Tilgjengelig fra: https://www.who.int/immunization/diseases/hepatitisB/en/
28. Regjeringen. Retningslinjer for immunisering mot hepatitt A og B som refunderes av folketrygden [Internett]. Helse- og omsorgsdepartementet. 11. Juni. [hentet 19.05.2021]. Tilgjengelig fra: https://www.regjeringen.no/no/dokumenter/i-22011-endrede-retningslinljer-for-immu/id647468/
29. FHI. Hepatitt B vaksine (indikator 24) [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet. 14. sep 2017 [oppdatert 16. feb 2021: hentet 17. mars]. Tilgjengelig fra: https://www.fhi.no/nettpub/ncd/vaksine/hepatitt/
30. Dastgerdi ES, Herbers U, Tacke F. Molecular and clinical aspects of hepatitis D virus infections. World J Virol. 2012;1(3):71-78. doi: 10.5501/wjv. v1.i3.71.
31. Turon-Lagot V, Saviano A, Schuster C, Baumert TF, Verrier ER [Internett]. Targeting the Host for New Therapeutic Perspectives in Hepatitis D. MDPI; 14. jan 2020. [hentet 17. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.researchgate.net/publication/338600212_Targeting_the_Host_for_New_Therapeutic_Perspectives_in_Hepatitis_D
32. FHI. Rapporteringsskjema for laboratoriediagnoser [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet. [hentet 22. mars]. Tilgjengelig fra: http://lab.fhi.no/Default.aspx
33. World Gastroenterology Organisation. Management of Acute Viral Hepatitis [Internett]. Desember 2003. [hentet 14. april]. Figur tilgjengelig fra: https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/management-of-acute-viral-hepatitis/acute-viral-hepatitis-english
34. Huang YH, Wu JC, Sheng WY, Huo TI, Chang FY, Lee SD. Diagnostic value of anti-hepatitis D virus (HDV) antibodies revisited: a study of total and IgM anti-HDV compared with detection of HDV-RNA by polymerase chain reaction. J Gastroenterol Hepatol. 1998;13(1):57-61. doi: 10.1111/j.1440-1746.1998.tb00546.x.
35. Cinquanta L, Fontana DE, Bizzaro N. Chemiluminescent immunoassay technology: what

does it change in autoantibody detection?. Auto Immun Highlight. 2017;8(1):9. doi: 10.1007/s13317-017-0097-2.
36. Lausund S. Kvalitetskontroll [Internett]. 24. sep. 2018. [hentet 22. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Kvalitetskontroll
37. Holm LH, Vik M. Interne kvalitetskontroller - serologiske analyser. Bergen: MIA, 2019, versjon 8.00. DokumentID: D11674.
38. Helse Vest prosjekt 2011. Veileder til metodevalidering. Bergen: MIA, 2020, versjon 8.00. DokumentID: D23505.
39. REK. Eksempler på virksomhet som ikke skal søke REK [Internett]. 2015 [hentet 8. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://helseforskning.etikkom.no/reglerogrutiner/soknadsplikt/sokerikkerek?p_dim=34999
40. NSD. Hvordan gjennomføre et prosjekt uten å behandle personopplysninger? [Internett] [hentet 10. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.nsd.no/personverntjenester/oppslagsverk-for-personvern-i-forskning/hvordan-gjennomfore-et-prosjekt-uten-a-behandle-personopplysninger/
41. Helse Bergen. Mikrobiologisk avdeling, akkreditering [Internett]. u.å [hentet 10.04.2021]. Tilgjengelig fra: https://helse-bergen.no/avdelinger/laboratorieklinikken/mikrobiologisk-avdeling#akkreditering
42. Jenum PA, Dorenberg DH, Hvidsten D, Kommedal Ø. Kvalitetskontroll av infeksjonsserologiske metoder. FHI. ISBN: 978-82-8082-858-3
43. Helbæk, M. (2008). Statistikk for kjemikere. 2. utg. Trondheim: Tapir Akademisk Forlag; 2001. 296 s.
44.. FÜRST. Tolkning av prøvesvar [Internett]. Oslo. [hentet 22. mars 2021]. Tilgjengelig fra: https://www.furst.no/for-legekontoret/tolkning-av-laboratorieverdier/tolkning-av-svar/
45. Rocco C, Bonavolta R, Vallefuoco L, Braschi U, Sorrentino R, Terracciano D et al.. Comparison of anti-hepatitis D virus (HDV) ETI-AB-DELTAK-2 assay and the novel Liaison XL murex anti-HDV assay in the diagnosis of HDV infection. Diagn Microbiol Infect Dis. 2019 Des;95(4):114873. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.114873.
46. Madsen BB, Vik M. Måleusikkerhet ved serologiske og molekylærbiologiske analyser. Bergen: Mikrobiologisk avdeling, MIA, 2020, versjon 7,00. DokumentID: D25235

9 Vedlegg

Vedlegg 1. Pakningsvedlegg DiaSorin Murex anti-HDV

DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871

CE 0459

Endringer: §14, §15.1;
Slettinger: -

LIAISON® XL MUREX Anti-HDV ([REF] 311260)

1. BRUKSOMRÅDE

LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-analysen bruker teknologien kjemiluminescent immunologisk analyse (CLIA) for kvalitativ bestemmelse av antistoff mot hepatitt D-virus (anti-HDV) i prøver av humant serum eller plasma, inkludert prøver tatt post mortem (uten hjerteslag).

Analysen er tiltenkt som et hjelpemiddel i diagnosen av HDV-infeksjon hos personer med eller uten symptomer på hepatitt. Den også tiltenkt som en screeningtest for post mortem donorer av organer, vev eller celler.

Testen må utføres på LIAISON® Analyzer-familien.

2. OPPSUMMERING OG FORKLARING AV TESTEN

Hepatitt deltavirus (HDV), som ble identifisert i 1977, er det minste humane RNA-viruset med et sirkulært RNA-genom på omtrent 1 700 baser. Genomet er enkelttrådet negativt og danner en kovalent lukket sirkel. RNA-et koder et protein kalt deltaantigen, som deretter omsluttes av en kapsling integrert i overflateantigenet på hepatitt B (HBsAg). HDV-infeksjon er signifikant, fordi den, selv om den undertrykker replikasjon av hepatitt B-virus (HBV), kan forårsake alvorlig leversykdom som både kan inkludere fulminant leversvikt og rask progresjon til cirrhose, hepatisk dekompensasjon og økt risiko for leverkreft.

Siden HDV bare kan forårsake infeksjon i nærvær av HBV, ble det antatt at den brede introduksjonen av HBV-vaksine ville føre til redusert forekomst av HDV. I tillegg ble det observert en nedgang i forekomsten av HDV i andre tiår etter den ble oppdaget. Dette førte til redusert oppmerksomhet og testing for HDV, som i sin tur bidro til antakelsen av at viruset var i ferd med å bli utryddet. Dessverre har nye studier vist det motsatte, og i dag er det fortsatt stor forekomst i mange deler av verden.

Globalt anslås det at 15-20 millioner mennesker er HDV-infisert, med en meget varierende forekomst, avhengig av regionen. Den største forekomsten er observert i Middelhavsområdet, Midtøsten, Sentral- og Nord-Asia, Vest- og Sentral-Afrika, Amazonas-området, Stillehavsøyene og Vietnam. Det ble funnet HDV-antistoffer hos opptil 30% av pasientene med kronisk hepatitt B (CHB) i noen land.

Det er blitt identifisert minst åtte genotyper av HDV. Genotype 1 er vanligst over hele verden, genotype 2 er blitt observert i Øst-Asia og genotype 3 forekommer i de nordlige deler av Sør-Amerika. Genotypene 5-8 er blitt identifisert hos afrikanske pasienter, og genotype 4 er funnet på Taiwan og i Japan.

HDV overføres omtrent på samme måte som HBV: perkutan eksponering (sprøytenarkomane), permukosalt, seksuell kontakt og perinatalt (sjelden). Blod er potensielt smittsomt under alle aktive faser med hepatitt D-infeksjon. Smittetoppen opptrer sannsynligvis like før inntreden av akutt sykdom. Det er 5% risiko for fulminant hepatitt i ko-infeksjon. Ellers er prognosene for ko-infeksjon generelt god, mens prognosene for superinfeksjon er variabel.

Serologiske markører som er brukt for å fastslå HDV-infeksjon, er HDAg-et og anti-HDV-antistoffet (anti-HDV). Utviklingen av anti-HDV-antistoffer, enten fra undertype IgM eller IgG, er universell hos personer med HDV-infeksjon og er et uttrykk for den infiserte vertens iboende og adaptive reaksjon.

Alle HBsAg-positive pasienter bør testes for anti-HDV-antistoffer. IgG anti-HDV vedvarer i flere år, selv etter at HDV-infeksjonen er klarert. Motsetningsvis går IgM anti-HDV tilbake hos pasienter med selvbegrenset infeksjon, men vedvarer over tid hos pasienter med infeksjon som er i ferd med å bli kronisk. I så fall bør HDV-infeksjonen bli bekreftet gjennom deteksjon av serum HDV-RNA. Mens HDV er avhengig av HBV og det er nødvendig å vurdere HBV-markører og replikasjon for å etablere diagnosen og leversykdommen, ser nivåene av HBsAg ut til å korrelere med HDV-viremi hos kroniske HDV-bærere.

3. PROSEDYREPRINSIPP

Metoden for kvalitativ bestemmelse av spesifikke antistoffer mot hepatitt D-virus (HDV) er en indirekte kjemiluminescens-immunanalyse (CLIA). Det rekombinante antigenet spesifikt for HDV brukes for å belegge magnetiske partikler (fast fase). Under den første inkubasjonen vil HDV-antistoffer tilstede i kalibrator, prøver og kontroller, binde seg til den faste fasen via det rekombinante HDV-antigenet. Under den andre inkubasjonen vil monoklonale antistoffer fra mus mot humant IgG og monoklonale antistoffer fra mus mot humant IgM, begge tilknyttet et isoluminolderivat (isoluminol-antistoffkonjugat), reagere med antistoffer mot HDV allerede bundet til den faste fasen. Etter hver inkubasjon fjernes det ubundne materialet med en vaskesyklus.

Deretter tilsettes startreagenser, og en flash-kjemiluminescensreaksjon blir indusert. Lyssignalet, og dermed mengden isoluminol-antistoffkonjugat, blir målt ved hjelp av en fotomultiplikator som relative lysenheter (RLU) og er indikativ for antistoffer mot HDV som finnes i kalibrator, prøver og kontroller.

4. MATERIALER SOM FØLGER MED KITET

Reagensintegral

Magnetiske partikler (2,5 mL)	SORB	Magnetpartikler belagt med biotinylert rekombonant HDAg (oppnådd i *E. coli*), streptavidin, bovint serumalbumin (BSA), fosfatbuffer, < 0,1% natriumazid.
Kalibrator 1 (0,7 mL)	CAL 1	Bovint serumalbumin (BSA), fosfatbuffer, EDTA, 0,2% ProClin® 300, et inert gult fargestoff.
Kalibrator 2 (0,7 mL)	CAL 2	Fortynnet og inaktivert serum/plasma som inneholder lave nivåer av anti-HDV, bovint serumalbumin (BSA), fosfatbuffer, EDTA, 0,2% ProClin® 300, et inert blått fargestoff.
Prøvefortynner (25 mL)	DIL SPE	Bovint serumalbumin (BSA), kasein, boratbuffer, EDTA, 0,2% ProClin® 300, vaskemidler, konserveringsmidler.
Konjugat (23 mL)	CONJ	Monoklonalt IgG fra mus mot humant IgG og monoklonalt IgG fra mus mot humant IgM bundet til et isoluminolderivat, aspesifikt IgG fra mus, bovint serumalbumin (BSA), fosfatbuffer, 0,2% ProClin® 300, konserveringsmidler, et inert blått fargestoff.
Antall tester		100

Alle reagenser leveres klare til bruk. Rekkefølgen til reagensene vil bli reflektert i utformingen av beholderne i reagensintegralet.

Nødvendige materialer som ikke leveres sammen med kitet

LIAISON® XL Analyzer	**LIAISON® Analyzer**
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016). LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015). LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200). – LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025). –	LIAISON® Module (REF 319130). – LIAISON® Starter Kit (REF 319102) eller LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200). LIAISON® Light Check 12 (REF 319150). LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). LIAISON® Waste Bags (REF 450003). LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990).

Nødvendige tilleggsmaterialer

LIAISON® XL MUREX Anti-HDV kontroller (negative og positive (REF 311261)).

5. ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Alle humane serum- og plasmaenheter som brukes til å produsere kalibrator 2 som er i kitet, er testet for tilstedeværelse av HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 og anti-HIV-2, og er påvist å være ikke-reaktive for anti-HCV, anti-HIV-1/2 og reaktive for HBsAg sammen med HDV-antistoffer. Enhetene som er positive for anti-HDV er inaktivert med kjemisk behandling og varmebehandling, men kan komme fra HDV-smittede pasienter, og skal derfor anses som potensielt smittefarlige.

Siden ingen testmetode kan si med absolutt sikkerhet at patogener er fraværende, bør alle prøver av human opprinnelse ansees som potensielt smittebærende og behandles meget forsiktig.

6. SIKKERHETSREGLER

Unngå å spise, drikke, røyke eller ta på sminke i analyselaboratoriet.

Ikke pipetter med munnen.

Unngå direkte kontakt med potensielt smittebærende materiale ved å bruke laboratorieklær, vernebriller og engangshansker. Vask hendene grundig på slutten av hver analyse.

Unngå sprut og forstøving. Alle dråper av biologiske reagenser må fjernes med en natriumhypokloritt løsning med 0,5% aktivt klor, og brukte materialer må behandles som smittefarlig avfall.

Alle prøver og reagenser som inneholder biologiske materialer som brukes til analysen, må betraktes som potensielt i stand til å overføre smittestoffer. Avfallet må håndteres med forsiktighet og kastes i overensstemmelse med laboratoriets regler og de lovbestemmelser som gjelder i hvert enkelt land. Eventuelt materiell som skal brukes på nytt må steriliseres korrekt i overensstemmelse med lokale lover og direktiver. Kontroller effektiviteten til steriliserings-/dekontamineringssyklusen.

Ikke bruk sett eller komponenter etter utløpsdatoen som er gitt på etiketten.

I samsvar med EF-forordning 1272/2008 (CLP) er reagenser klassifisert og merket som følger:

REAGENSER:	CAL 1, CAL 2, DIL SPE, CONJ
KLASSIFISERING:	Skin sens. 1 H317
SIGNALORD:	Advarsel
SYMBOLER / PIKTOGRAMMER:	 GHS07 Utropstegn
FARESETNINGER:	H317 Kan utløse en allergisk hudreaksjon.
SIKKERHETSSETNINGER:	P261 Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler. P280 Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. P363 Tilsølte klær må vaskes før de brukes på nytt.
INNEHOLDER: (kun substanser forordnet i overensstemmelse med artikkel 18 i EF-forordning 1272/2008).	Reaksjonsmasse for: 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-on [EC-nr. 247-500-7] og 2-metyl-2H -isotiazol-3-on [EC-nr. 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

I samsvar med EF-forordning 1272/2008 (CLP) er SORB merket som EUH210, sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på anmodning. For ekstra informasjon les sikkerhetsdatabladene, som er tilgjengelige på www.diasorin.com

7. KLARGJØRING AV REAGENSER

REAGENSINTEGRAL

Merk følgende viktige forholdsregler for håndtering av reagens:

Resuspensjon av magnetiske partikler

Magnetiske partikler må resuspenderes fullstendig før integralet plasseres på instrumentet. Følg trinnene nedenfor for å sikre fullstendig suspensjon:
Før du fjerner forseglingen, drei det lille hjulet ved magnetpartikkelbrønnen til suspensjonen blir brun. Forsiktig blanding fra side til side kan bidra til å løse opp de magnetiske partiklene (unngå skumdannelse). Kontroller bunnen av flasken med magnetiske partikler visuelt for å kontrollere at alt bunnfall er resuspendert. Tørk godt av flatene på hvert septum for å fjerne væskerester.
Gjenta etter behov til alle magnetiske partikler er fullstendig resuspendert.

En ufullstendig resuspendering av magnetpartikler kan forårsake varierende og unøyaktige analyseresultater.

Skumdannelse i reagenser

For at integralet skal gi optimalt resultat må skumdannelse i reagensene unngås. Følg anbefalingene nedenfor for å unngå at dette inntreffer:

Undersøk reagensene visuelt, spesielt kalibratorene (posisjon to og tre etter flasken med magnetiske partikler), for å sikre at det ikke finnes skum før integralet brukes. Hvis det finnes skum etter resuspensjon av de magnetiske partiklene, plasserer du integralet på instrumentet og lar skummet løses opp. Integralet er klar til bruk når alt skum er borte og integralet har stått på instrumentet og blitt blandet.

Plassere integralet i reagensområdet

LIAISON® Analyzer

- Plasser integralet i reagensområdet på analyseinstrumentet med strekkodeetiketten vendt mot venstre, og la det stå i 30 minutter før bruk. Analyseinstrumentet rører automatisk og resuspenderer de magnetiske partiklene fullstendig.
- Følg bruksanvisningen for analyseinstrumentet for å sette inn prøvene og starte kjøringen.

LIAISON® XL Analyzer

- LIAISON® XL Analyzer er utstyrt med en innebygd magnetanordning som bidrar til å spre mikropartiklene før reagensintegralet plasseres i reagensområdet på analyseinstrumentet. Se analyseinstrumentets bruksanvisning for mer informasjon.
  a. Sett reagensintegralet i riktig posisjon.
  b. La reagensintegralet være på magnetanordningen i minst 30 sekunder (opptil flere minutter). Gjenta etter behov.
- Plasser integralet i reagensområdet på analyseinstrumentet med etiketten vendt mot venstre, og la det stå i 15 minutter før bruk. Analyseinstrumentet rører automatisk og resuspenderer de magnetiske partiklene fullstendig.
- Følg bruksanvisningen for analyseinstrumentet for å sette inn prøvene og starte kjøringen.

KONTROLLER

Se bruksanvisningene for LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-kontrollsett for instruksjoner om klargjøring og håndtering.

8. LAGRING OG STABILITET AV REAGENSINTEGRALET

– **Forseglet**: Stabil ved 2-8°C frem til utløpsdatoen.
– **Åpnet ombord på instrumentet eller ved 2-8°C**: Stabil i **ti** (**10**) uker.
– Bruk alltid samme type analyseinstrument for en reagensintegral som allerede er åpnet.
– Bruk oppbevaringsstativet som følger med analyseinstrumentet til stående oppbevaring av reagensintegralet.
– Må ikke fryses.
– Lagres vertikalt for å underlette korrekt resuspensjon av magnetiske partikler senere.
– Må holdes unna direkte lys.

9. PRØVETAKING OG -KLARGJØRING

Både humant serum eller plasma kan brukes (inkludert serum innsamlet i serumsrør for separator). Antikoagulantia, som natriumsitrat, K_2-EDTA, litium- og natriumheparin, kaliumoksalat, er testet og kan brukes sammen med denne analysen. Post mortem-prøver tatt innen 24 timer etter døden, er blitt testet og kan også brukes i analysen. Riktig prøvetype må brukes i analysen.

Følg anvisningene fra rørprodusentene nøye når du bruker prøvetakingsbeholdere. Blod bør samles opp aseptisk ved venøs blodprøvetaking, og serum eller plasma separeres fra koagelet, erytrocytter eller gelseparator etter sentrifugering.

Sentrifugeringsbetingelser rangerer fra 1 000 til 3 000 g i 10 minutter. Betingelsene kan variere avhengig av rørprodusentenes anbefalinger. Bruk av alternative sentrifugeringsbetingelser bør evalueres og valideres av laboratoriet.

Før forsendelse av prøver bør koagel, erytrocytter eller gelseparator fjernes fra serum- eller plasmaprøver. Prøver kan sendes på tørris (nedfryst), på våtis (for 2-8°C) eller ved romtemperatur (20-25°C) ved å følge begrensningene for prøveoppbevaring beskrevet nedenfor.

Ukontrollerte transport- og lagringsbetingelser (når det gjelder temperatur og tid som anbefales her) kan forårsake unøyaktige analyseresultater. Under valideringsstudier ble det brukt kommersielt tilgjengelige prøvesamlingsrør ved tidspunktet for testing. Derfor er ikke alle prøvesamlingsrør fra alle produsenter blitt evaluert. Blodsamlingsenheter fra ulike produsenter kan inneholde substanser som i noen tilfeller kan ha innflytelse på testresultatene (Bowen et al., Clinical Biochemistry, 43, 4-25, 2010).

Med henblikk på oppbevaringsbegrensninger, dersom analysen utføres innen syv dager etter prøvetaking, kan prøvene fjernet fra erytrocytter, koagel eller gelseparator oppbevares ved 2-8°C. Hvis ikke, må prøvene alikvoteres og oppbevares dypfryst (–20°C eller lavere). Seks prøver med ulik reaktivitet ble lagret i sju dager ved 2–8°C, og gjennomgikk så seks fryse/-tine-sykluser. Resultatene viste ingen betydelige forskjeller, men gjentatte fryse/tine-sykluser bør unngås. Dersom prøvene lagres i frossen tilstand, må de opptinte prøvene blandes godt før testing.

Seks prøver ble også oppbevart ved romtemperatur (20°-25°C) i opptil 72 timer, og resultatene viste ingen signifikante forskjeller.

Prøver fra avdøde skal oppbevares på samme måte som prøver fra levende donorer.

Prøver fjernet fra erytrocytter, koagel eller gelseparator som inneholder partikler, fibrin, turbiditet, lipemi eller erytrocyttrester, prøver som har blitt oppbevart i romtemperatur (20-25°C), eller har blitt nedfryst og opptint, eller prøver som må testes om igjen, må klareres med ytterligere sentrifugering (foreslått 10 000 g for 10') før testing, for å sørge for mer konsekvente resultater. Prøver med et lipidlag på toppen bør overføres til et sekundært rør idet man påser at kun spesifisert materiale overføres. Grovt hemolyserte eller lipemiske prøver så vel som prøver som inneholder partikler eller som viser klar mikrobiell kontaminasjon, bør ikke testes. Se etter og fjern luftbobler før analyse utføres.

Det nødvendige minimumsvolumet for en enkelt bestemmelse er 170 µL prøve (20 µL prøve + 150 µL dødvolum).

10. KALIBRERING

Test av analysespesifikke kalibratorer gjør det mulig for de påviste verdiene for relativ lysenhet (RLU – relative light unit) å justere riktig grenseverdi. Hver kalibratorløsning gjør at man kan utføre **fire** (**4**) kalibreringer.

Rekalibrering i triplikat er obligatorisk når minst ett av følgende forhold oppstår:
– Et nytt parti startsett blir brukt.
– Forrige kalibrering ble utført for mer enn **seks** (**6**) uker siden.
– Et nytt parti reagensintegraler brukes.
– Analyseinstrumentet er blitt vedlikeholdt.
– Kontrollverdiene ligger utenfor det forventede området.
– LIAISON® Analyzer: Kalibratorverdier er lagret i strekkodene på integraletiketten.
  LIAISON® XL Analyzer: Kalibratorverdier er lagret i den radiofrekvente identifikasjonstransponderen (RFID-brikken).

11. ANALYSEPROSEDYRE

Streng overholdelse av analyseinstrumentets bruksanvisning sikrer god ytelse fra analysen.

LIAISON® Analyzer. Hver testparameter blir identifisert ved hjelp av strekkodene på etiketten på reagensintegralet. Hvis strekkodeetiketten ikke kan leses av analyseinstrumentet, kan integralet ikke brukes. Du må ikke kassere reagensintegralet. Kontakt din lokale tekniske brukerstøtte ved DiaSorin for instruksjoner.

LIAISON® XL Analyzer. Hver testparameter blir identifisert via informasjon som ligger i reagensintegralets RFID-brikke (radiofrekvens-identifikasjonstransponder). Hvis RFID-brikken ikke kan leses av analyseinstrumentet, kan ikke integralet brukes. Du må ikke kassere reagensintegralet. Kontakt din lokale tekniske brukerstøtte ved DiaSorin for instruksjoner.

Analyseinstrumentet utfører følgende:
1. Tilsetter prøvefortynner i kyvettene/reaksjonsmodulen.
2. Tilsetter belagte magnetiske partikler.
3. Kalibratorer, kontroller eller prøver tilsettes.
4. Inkuberer.
5. Vasker med vaske-/systemvæske.
6. Tilsetter konjugater i kyvettene/reaksjonsmodulen.
7. Inkuberer.
8. Vasker med vaske-/systemvæske.
9. Startreagenser tilsettes og utsendt lysmengde måles.

12. KVALITETSKONTROLL

Kjør LIAISON® XL-kontroller enkeltvis for å overvåke analysens utførelse. Kvalitetskontroll må utføres ved å kjøre LIAISON® XL MUREX Control Anti-HDV (REF 311261)

(a) minst en gang hver dag testen er i bruk, før testen kjøres,

(b) når et nytt reagensintegral tas i bruk,

(c) når reagenskitet kalibreres,

(d) når et nytt parti med startreagenser brukes,

(e) eller i overensstemmelse med retningslinjer eller krav ifølge lokale bestemmelser eller autoriserte organisasjoner.

Kontrollverdiene må ligge innenfor de forventede områdene: Når én eller begge kontroller ligger utenfor de forventede områdene, bør kalibrering gjentas og kontrollene testes på nytt. Dersom kontrollverdiene som oppnås etter vellykket kalibrering fremdeles ligger utenfor de forventede områdene, bør testen gjentas ved bruk av en uåpnet kontrollflaske. Dersom kontrollverdiene ligger utenfor de forventede områdene, må pasientens resultater ikke rapporteres.

Resultatene fra andre kontroller bør vurderes med hensyn til kompatibilitet med denne analysen før de blir brukt. Passende verdiområder bør deretter fastsettes for materialene som benyttes til kvalitetskontroll.

13. TOLKNING AV RESULTATENE

Tilstedeværelse eller fravær av HDV-antistoff i prøvene fastslås kvalitativt ved å sammenligne det kjemiluminescente reaksjonssignalet med den spesifikke analysekalibreringen. Analyseinstrumentet beregner automatisk AU/mL (Arbitrary Units (vilkårlige enheter) per milliliter)-verdien, og graderer resultatene. Se analyseinstrumentets brukerhåndbok for mer informasjon.

Kalibratorer og kontroller kan gi avvikende RLU- eller doseresultater på LIAISON® og LIAISON® XL, men pasientresultatene er ekvivalente.

Analyseområde. 0,100 til 30,0 AU/mL-verdi.

Testen er kvalitativ, derfor vurderes ikke forhåndsfortynning av prøver i overområdet i den første testen.

Grenseverdien som skiller mellom tilstedeværelse eller fravær av HDV-antistoff, er 1,00 AU/mL.

Prøver med AU/mL mindre enn 1,00 betraktes som ikke-reaktive for HDV-antistoffer.

Prøver med AU/mL mer enn eller lik 1,00 betraktes som reaktive for HDV-antistoffer.

En reaktiv prøve bør utforskes ytterligere med følsomme, supplementerende HDV-spesifikke tester, som identifikasjon av HDV-RNA, som skal samholdes mot personens kliniske historie og med markører fra en tidligere HBV-infeksjon (HBsAg, anti-HB Core, HBV DNA osv.). Som for alle immunologiske analyser kan imidlertid LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-analysen av og til gi ikke-spesifikke reaksjoner av andre årsaker.

Et ikke-reaktivt testresultat for HDV-antistoffer eliminerer ikke muligheten for eksponering for eller infeksjon med HDV. Ytterligere utforskninger med alternative HDV-spesifikke tester foreslås dersom det foreligger mistanke om infeksjon til tross for de negative funnene.

Hvis LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-resultater ikke stemmer overens med kliniske holdepunkter, anbefales ytterligere testing for å bekrefte resultatet.

14. PROSEDYRENS BEGRENSNINGER

- **Advarsel - Denne testen egner seg kun for å undersøke individuelle prøver, ikke for fortynnede prøver, kombinerte prøver eller varme-inaktiverte prøver**.
- Karakteristikker ved analyse-utførelse har ikke blitt etablert for noen LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-test brukt sammen med tester fra andre produsenter til bestemmelse av spesifikke, serologiske HDV-markører. Under slike forhold er brukerne ansvarlig for selv å etablere karakteristikker for ytelse.
- God laboratorieteknikk og streng overholdelse av instruksjonene er nødvendig for å oppnå pålitelige resultater.
- Bakteriell kontaminasjon eller varmeinaktivering av prøvene kan påvirke testresultatene.
- Falskt reaktive resultater kan ikke utelukkes med noe testkit. Prosentandelen av disse er forbundet med prøveintegritet, testkitets spesifisitet og forekomsten av anti-HDV-antistoffer i den undersøkte populasjonen.
  Likevel bør ikke infeksjonssykdommer diagnostiseres på bakgrunn av ett enkeltstående testresultat, men bør bedømmes i sammenheng med kliniske funn og andre diagnostiske prosedyrer og med bruk av sunn medisinsk dømmekraft.
- Prøver fra pasienter som mottar preparater av monoklonale antistoffer fra mus for behandling eller diagnostisering, kan inneholde humane antistoffer mot mus (HAMA). Slike prøver kan virke forstyrrende i en immunologisk analyse basert på monoklonale antistoffer, og resultatene bør evalueres nøye (for detaljer, les §15.1).
- Prøver fra pasienter som får terapeutiske doser med biotin (vitamin H, B_7 eller B_8) kan påvirke immunologiske analyser basert på biotinylerte reagenser. Ingen forstyrrelser ble observert ved testing av biotinserumkonsentrasjoner opptil 3500 ng/mL med LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-analysen.
- Før kadaverprøver testes, skal prosedyrene for riktig prøvetaking og sentrifugering anvendes. Etter døden oppstår det hemolyse og andre endringer (inkludert proteolyse og fortynning) i blodet, som kan føre til falskt negative eller falskt positive resultater under testing. Hos pasienter som fikk blodoverføring umiddelbart før døden inntraff, kan en høy prosent av hemodilusjon virke inn på testens resultater på grunn av analytt.
- Resultater oppnådd med LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-analysen kan ikke brukes om hverandre med verdier oppnådd med analysemetoder fra andre produsenter.
- Integraler kan ikke veksles mellom ulike typer analyseinstrumenter (LIAISON® og LIAISON® XL). Når et integral er innført i en bestemt type analyseinstrument, må det bli liggende på analyseinstrumentet til det er uttømt. På grunn av sporbarhetsproblemer som følge av ovennevnte er det kanskje ikke mulig å konkludere pasientoppfølging mellom ulike typer analyseinstrumenter. Disse må utføres på én bestemt type analyseinstrument (enten LIAISON® eller LIAISON® XL).

15. SPESIFIKKE YTELSESEGENSKAPER

15.1. Analytisk spesifisitet

Analytisk spesifisitet kan defineres som evnen analysen har til nøyaktig å påvise den spesifikke analytten selv med potensielt forstyrrende faktorer i testmatrisen (f.eks. antikoagulanter, hemolyse, effekter av prøvebehandlingen) eller kryssreaktive antistoffer.

Interferens. Kontrollerte studier av potensielt interfererende substanser eller forhold viste at analysens ytelse verken ble påvirket av antikoagulanter (natriumsitrat, K2 EDTA, litium- og natriumheparin, kaliumoksalat) eller av følgende forbindelser.

Testede forbindelser	Testede konsentrasjoner
Ukonjugert bilirubin	20 mg/dL
Konjugert bilirubin	20 mg/dL
Hemoglobin	1000 mg/dL
Triglyserider	3000 mg/dL
Hypergammaglobulin (Immunglobulin G)	60 g/L
Totalt protein (høy)	120 g/L
Totalt protein (lav)	<60 g/L
Biotin (vitamin H)	3500 ng/mL

Kryssreaksjoner. Kryssreaktivitetsstudien for LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-analysen ble utformet for å evaluere mulig interferens fra antistoffer på andre organismer som kan forårsake infeksjonssykdommer (Saccharomyces, *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia trachomatis*, hCMV, EBV, HAV, HBV, HCV, HIV, HSV, HTLV-I/II, *Neisseria gonorrhea*, meslinger, kusma, *Mycoplasma Pneumoniae*, Parvovirus B19, Rubellavirus, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, *Trypanosoma cruzi*, VZV), fra sykdommer som involverer leveren (leverkreft, fettlever) samt fra andre tilstander som kan involvere immunsystemaktivitet (antinukleære autoantistoffer, autoimmun hepatitt, revmatoid faktor, humane anti-musantistoffer, monoklonale gammopatier, influensavaksine, myelomatose, anti-*E.coli*-antistoffer, mottakere av flere blodoverføringer, hemodialysepasienter, svangerskap). Prøver for disse studiene ble forhåndsutvalgt med en annen, kommersielt tilgjengelig anti-HDV-analyse. Hvis prøvene viste seg å være negative for HDV-antistoffer, ble de brukt til å studere mulig kryssreaktivitet. Tilstedeværelse av potensielle kryssreagenter i prøvene ble påvist med CE-merkede analyser. Spesifisitet observert i potensielt kryssreaktive prøver er sammenlignbar med den til åpne populasjoner.

Forhold	Antall forventede negative prøver	LIAISON® XL MUREX Anti-HDV positive resultater
Anti-Saccharomyces-antistoffer	5	0
Borrelia burgdorferi-antistoffer	6	0
Chlamydia trachomatis-antistoffer	4	0
hCMV-antistoffer	17	0
EBV (VCA)-antistoffer	5	0
HAV-antistoffer	5	0
HBV-antistoffer	7	0
HCV-antistoffer	5	0
HIV-I-antistoffer	5	0
HIV I-O-antistoffer	2	0
HIV-II-antistoffer	6	0
HSV-antistoffer	16	0
HTLV-I/II-antistoffer	4	0
Neisseria gonorrhea-antistoffer	4	0
Meslingevirus-antistoffer	4	0
Kusmavirus-antistoffer	4	0
Mycoplasma pneumoniae-antistoffer	3	0
Parvovirus B19-antistoffer	4	0
Rubellavirus-antistoffer	16	0
Toxoplasma gondii-antistoffer	10	0
Treponema pallidum-antistoffer	6	0
Trypanosoma cruzi-antistoffer	5	0
VZV-antistoffer	12	0
Antinukleære autoantistoffer (ANA)	4	0
Humane antistoffer mot mus (HAMA)	15	0
Reumatoidfaktor (anti-Fc immunoglobulin)	21	0
Autoimmun hepatitt	8	0
Leversteatose	4	0
Leverkreft (Hepatocellular carcinoma)	5	0
Monoklonal gammopati IgM	5	0
Monoklonal gammopati IgG	4	0
Vaksinert mot influensa	5	0
Myelomatose	5	0
Mottaker av flere transfusjoner	10	1
Anti-*E.coli*-antistoffer	5	0
Hemodialysepasienter	11	0
Totalt	**257**	**1**

15.2. Presisjon med LIAISON® Analyzer

Ulike prøver som inneholdt ulike konsentrasjoner av den spesifikke analytten, ble testet for å bestemme repeterbarhet og reproduserbarhet for analysen (dvs. variabilitet innen og mellom analyser). **Resultatene viser til gruppene av prøver som ble undersøkt og er ikke garanterte spesifikasjoner, fordi forskjeller kan være tilstede mellom laboratorier og steder.**

Repeterbarhet. Tjue replikater på fire prøver ble utført i samme kjøring for å evaluere intern repeterbarhet. Den oppnådde prosentmessige variasjonskoeffisienten (CV%) overskred ikke 10%.

Repeterbarhet	A	B	C	D
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,00	1,40	2,82	2,04
Standardavvik (AU/mL)	0,052	0,039	0,109	0,115
Variasjonskoeffisient (%)	**5,2%**	**2,8%**	**3,9%**	**5,6%**
Min. verdi (AU/mL)	0,88	1,30	2,52	1,69
Maks. verdi (AU/mL)	1,06	1,46	2,93	2,11

Reproduserbarhet. Tjue replikater på fire prøver ble utført på forskjellige dager (en eller to kjøringer per dag) med tre forskjellige partier med integraler for å evaluere reproduserbarhet. Testene ble utført på to steder, internt (sted 1) og i et uavhengig laboratorium (sted 2), med ett instrument på hvert sted. Den oppnådde prosentmessige variasjonskoeffisienten (CV%) overskred ikke 15%.

Reproduserbarhet - Sted 1	A	B	C	D
PARTI Nr. 01				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,06	1,40	2,90	2,20
Standardavvik (AU/mL)	0,04	0,10	0,13	0,08
Variasjonskoeffisient (%)	**4,2%**	**5,0%**	**4,5%**	**3,8%**
Min. verdi (AU/mL)	0,994	1,30	2,6	2,00
Maks. verdi (AU/mL)	1,15	1,50	3,1	2,30
PARTI Nr. 02				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,00	1,40	2,90	1,90
Standardavvik (AU/mL)	0,06	0,10	0,19	0,12
Variasjonskoeffisient (%)	**5,9%**	**7,4%**	**6,7%**	**6,5%**
Min. verdi (AU/mL)	0,856	1,10	2,30	1,70
Maks. verdi (AU/mL)	1,10	1,50	3,10	2,20
PARTI Nr. 03				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,00	1,40	2,90	2,20
Standardavvik (AU/mL)	0,08	0,12	0,23	0,09
Variasjonskoeffisient (%)	**7,9%**	**8,4%**	**7,9%**	**4,2%**
Min. verdi (AU/mL)	0,860	1,20	2,50	2,00
Maks. verdi (AU/mL)	1,14	1,60	3,30	2,40
Variasjonskoeffisient mellom partier (%)	6,6%	7,0%	6,5%	5,1%

Reproduserbarhet - Sted 2	A	B	C	D
PARTI Nr. 01				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,09	1,44	3,00	2,29
Standardavvik (AU/mL)	0,07	0,11	0,32	0,17
Variasjonskoeffisient (%)	**6,7%**	**7,7%**	**10,6%**	**7,3%**
Min. verdi (AU/mL)	0,920	1,12	1,86	1,82
Maks. verdi (AU/mL)	1,21	1,63	3,42	2,53
PARTI Nr. 02				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,16	1,66	3,30	2,40
Standardavvik (AU/mL)	0,04	0,09	0,18	0,21
Variasjonskoeffisient (%)	**3,8%**	**5,3%**	**5,5%**	**8,9%**
Min. verdi (AU/mL)	1,09	1,54	2,73	2,40
Maks. verdi (AU/mL)	1,25	1,92	3,69	2,72
PARTI Nr. 03				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,12	1,59	3,36	2,46
Standardavvik (AU/mL)	0,09	0,15	0,24	0,25
Variasjonskoeffisient (%)	**8,3%**	**9,7%**	**7,1%**	**10,3%**
Min. verdi (AU/mL)	0,810	1,14	2,69	2,05
Maks. verdi (AU/mL)	1,24	1,79	3,71	2,89
Variasjonskoeffisient mellom partier (%)	6,9%	9,6%	9,2%	9,3%

15.3. Presisjon med LIAISON® XL Analyzer

Ulike prøver som inneholdt ulike konsentrasjoner av den spesifikke analytten, ble testet for å bestemme repeterbarhet og reproduserbarhet for analysen (dvs. variabilitet innen og mellom analyser). **Resultatene viser til gruppene av prøver som ble undersøkt og er ikke garanterte spesifikasjoner, fordi forskjeller kan være tilstede mellom laboratorier og steder**.

Repeterbarhet. Tjue replikater på fire prøver ble utført i samme kjøring for å evaluere intern repeterbarhet. Den oppnådde prosentmessige variasjonskoeffisienten (CV%) overskred ikke 10%.

Repeterbarhet	A	B	C	D
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,15	1,72	3,39	2,37
Standardavvik (AU/mL)	0,026	0,026	0,043	0,003
Variasjonskoeffisient (%)	**2,2%**	**1,5%**	**1,3%**	**1,4%**
Min. verdi (AU/mL)	1,12	1,68	3,28	2,29
Maks. verdi (AU/mL)	1,21	1,77	3,45	2,42

Reproduserbarhet. Tjue replikater på fire prøver ble utført på forskjellige dager (en eller to kjøringer per dag) med tre forskjellige partier med integral for å evaluere reproduserbarhet. Testene ble utført på to steder, internt (sted 1) og i et uavhengig laboratorium (sted 2), med ett instrument på hvert sted. Den oppnådde prosentmessige variasjonskoeffisienten (CV%) overskred ikke 15%.

Reproduserbarhet - Sted 1	A	B	C	D
PARTI Nr. 01				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,12	1,50	2,90	2,40
Standardavvik (AU/mL)	0,103	0,194	0,418	0,161
Variasjonskoeffisient (%)	**9,2%**	**13,0%**	**14,4%**	**6,7%**
Min. verdi (AU/mL)	0,839	1,10	2,10	2,10
Maks. verdi (AU/mL)	1,25	1,70	3,50	2,60
PARTI Nr. 02				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,10	1,70	3,30	2,40
Standardavvik (AU/mL)	0,118	0,152	0,412	0,324
Variasjonskoeffisient (%)	**10,8%**	**8,9%**	**12,5%**	**13,5%**
Min. verdi (AU/mL)	0,833	1,40	2,30	1,60
Maks. verdi (AU/mL)	1,27	1,80	3,70	2,70
PARTI Nr. 03				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,17	1,74	3,46	2,42
Standardavvik (AU/mL)	0,137	0,141	0,493	0,338
Variasjonskoeffisient (%)	**11,8%**	**8,1%**	**14,3%**	**13,9%**
Min. verdi (AU/mL)	0,890	1,48	2,55	1,67
Maks. verdi (AU/mL)	1,35	1,94	4,15	2,95
Variasjonskoeffisient mellom partier (%)	10,8%	12,3%	15,2%	11,8%

Reproduserbarhet - Sted 2	A	B	C	D
PARTI Nr. 01				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,12	1,60	3,25	2,61
Standardavvik (AU/mL)	0,111	0,153	0,25	0,240
Variasjonskoeffisient (%)	**9,9%**	**9,5%**	**7,8%**	**9,2%**
Min. verdi (AU/mL)	0,900	1,39	2,81	2,22
Maks. verdi (AU/mL)	1,35	1,88	3,98	3,22
PARTI Nr. 02				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	0,97	1,36	2,83	2,14
Standardavvik (AU/mL)	0,091	0,170	0,239	0,244
Variasjonskoeffisient (%)	**9,4%**	**12,5%**	**8,4%**	**11,4%**
Min. verdi (AU/mL)	0,830	1,01	2,46	1,71
Maks. verdi (AU/mL)	1,11	1,76	3,26	2,57
PARTI Nr. 03				
Antall bestemmelser	20	20	20	20
Gjennomsnitt (AU/mL)	1,20	1,77	3,53	2,70
Standardavvik (AU/mL)	0,098	0,195	0,470	0,207
Variasjonskoeffisient (%)	**8,2%**	**11,0%**	**13,3%**	**7,7%**
Min. verdi (AU/mL)	1,03	1,46	2,24	2,38
Maks. verdi (AU/mL)	1,39	2,17	4,43	3,17
Variasjonskoeffisient mellom partier (%)	12,6%	15,3%	13,7%	13,5%

15.4. Saturasjonseffekt ved høye doser

Når prøver som inneholder ekstremt høye konsentrasjoner av antistoffer blir testet, vil saturasjonseffekten kunne få det til å se ut som om det er lavere konsentrasjoner enn det som er reelt. En optimalisert totrinns metode ekskluderer imidlertid kraftig underestimerte resultater, fordi de analytiske signalene forblir konstant høye (saturasjonskurve).

15.5. Ytelsesegenskaper ved testing av kadaverprøver

Ytelsesegenskaper ved testing av kadaverprøver ble fastlagt under testing, ifølge PEI-valideringsprotokoll*, post mortem-prøver tatt innen 24 timer etter død sammenlignet med prøver fra levende donorer. 20 post mortem-prøver ble testet som ikke-anriket og anriket på 2 nivåer: lav positiv og medium/høy positiv. Den samme prosedyren ble utført med samme antall normalt humant serum fra levende donorer, testet parallelt som referanse for å sammenligne med resultater fra post mortem-prøver. De oppnådde resultatene ble analysert ved å beregne forskjellen i prosent ved hvert reaktivitetsnivå mellom gjennomsnittet av resultatet fra levende donorer og gjennomsnittet av resultatene fra post mortem-pasienter. I denne studien ble den oppnådde prosentforskjellen lik eller lavere enn 4,4% for hvert av de testede reaktivitetsnivåene (se tabell nedenfor). Det ble utført paret t-testanalyse mellom prøver fra post mortem- og levende donorer, anriket ved lave og medium/høye positive nivåer, som viste ubetydelig forskjell mellom de to gruppene (p-verdi < 0,05).

Repeterbarhet ble vurdert ved hjelp av én post mortem-prøve og én prøve fra levende donor, anriket opptil et lavt reaktivitetsnivå med et humant serum som er reaktivt for antistoffer mot hepatitt D-virus (HDV). Hver prøve ble vurdert i seks replikater i den samme kjøringen. Den oppnådde prosentmessige variasjonskoeffisienten (CV%) overskred ikke 15%. Som rapportert i tabellen nedenfor, ble 1,3% for kadaverprøven og 1,1% for den levende donoren påvist i studien. **Resultatene viser til gruppen av prøver som ble undersøkt, og er ikke garanterte spesifikasjoner, fordi forskjeller kan være til stede mellom laboratorier og steder.**

	Prøve	Gjennomsnitt av testresultater (AU/mL)	Gjenoppretting (%) post mortem-/ levende donorer	t-test p-verdi	CV% 6 replikater
Ren	Post mortem ikke-anriket	< 0,100	ikke relevant	ikke relevant	ikke relevant
	Levende donor ikke-anriket	< 0,100			
Lav positiv	Post mortem anriket	1,73	-4,4%	0,077	1,3%
	Levende donor anriket	1,81			1,1%
Medium/høy positiv	Post mortem anriket	2,94	-4,2%	0,121	ikke relevant
	Levende donor anriket	3,07			

* Paul Ehrlich Institute - Proposal for the Validation of Anti-HIV-1/2 or HIV Ag/Ab Combination Assays, Anti-HCV-Assays, HBsAg and Anti-HBc Assays for Use with Cadaveric Samples - 08/05/2014

16. DIAGNOSTISK SPESIFISITET OG SENSITIVITET

Diagnostisk spesifisitet ble vurdert ved å teste 1995 prøver fra en negativ anti-HDV-populasjon (blodgivere, positive HBsAg-bærere, gravide kvinner, pasienter smittet av ikke-HDV-infeksjonssykdommer, personer med autoimmune sykdommer eller andre sykdommer relatert til forstyrrelser i immunsystemet, personer fra en HDV-diagnostisk rutine). 13 positive resultater ble observert i den studerte populasjonen: diagnostisk spesifisitet 99,35% (95% konfidensintervall: 98,89 - 99,66%).

Populasjoner	Antall tilfeller	LIAISON® XL MUREX Anti-HDV reaktive prøver	Diagnostisk spesifisitet %	Diagnostisk spesifisitet 95% KI
Blodgivere	1009	7	99,31 (1002/1009)	98,58 - 99,72%
HBsAg-positive	427	2	99,53 (425/427)	98,32 - 99,94%
HDV-diagnostisk rutine	190	1	99,47 (189/190)	97,10 - 99,98%
Potensielt kryssreaktive	257	1	99,61 (256/257)	97,85 - 99,99%
Gravide kvinner	112	2	98,21 (110/112)	93,70 - 99,78%
Totalt	1995	13	99,35 (1982/1995)	98,89 - 99,66%

Diagnostisk sensitivitet ble vurdert ved å teste 174 prøver fra en populasjon som var forventet å være anti-HDV-positiv, innsamlet i ulike laboratorier i et europeisk land. Ingen negative resultater ble observert i den studerte populasjonen: diagnostisk sensitivitet 100% (95% konfidensintervall: 97,90 - 100%).

Populasjoner	Antall tilfeller	LIAISON® XL MUREX Anti-HDV reaktive prøver	Diagnostisk sensitivitet %	Diagnostisk sensitivitet 95% KI
HBsAg-positive	7	7	100 (7/7)	59,04 - 100%
Valgte Anti-HDV-pos	100	100	100 (100/100)	96,38 - 100%
HDV-diagnostisk rutine	67	67	100 (67/67)	94,64 - 100%
Totalt	174	174	100 (174/174)	97,90 - 100%

Diagnostisk spesifisitet og sensitivitet ble estimert i samsvar med den oppdaterte versjonen av Common Technical Specification (CTS), publisert 27. november 2009 (art. 5, §3 i IVD-direktivet 98/79/EC). Resultatene viser til gruppene av prøver som ble undersøkt og er ikke garanterte spesifikasjoner, fordi forskjeller kan være til stede mellom laboratorier og steder.

LIAISON® XL MUREX Control Anti-HDV (REF 311261)

1. BRUKSOMRÅDE

LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-kontrollene (negative og positive) skal brukes ved LIAISON® kjemiluminescent immunologisk analyse (CLIA) for kontroll av påliteligheten til analysekjøringer. Ytelsesegenskapene til LIAISON® XL MUREX Anti-HDV-kontrollene har ikke blitt etablert for noen andre analyser eller instrumentplattformer enn LIAISON® Analyzer-serien.

LIAISON® Analyzer. Analysesertifikatet gir spesifikk informasjon om kontrollpartiet som bør legges inn manuelt før kontrollflaskene settes på instrumentet. Se analyseinstrumentets brukerhåndbok for mer informasjon.

LIAISON® XL Analyzer. Strekkodene på analysesertifikatet gir spesifikk informasjon om kontrollpartiet og må leses med den håndholdte strekkodeleseren for LIAISON® XL Analyzer før kontrollflaskene settes på instrumentet. Se analyseinstrumentets bruksanvisning for mer informasjon.

2. MATERIALER SOM FØLGER MED KITET

Negativ kontroll (2 x 1,0 mL)	CONTROL -	Humant serum/plasma som er ikke-reaktivt for HDV-antistoffer, 0,2% ProClin® 300, konserveringsmidler.
Positiv kontroll (2 x 1,0 mL)	CONTROL +	Inaktivert humant serum/plasma som er reaktivt for HDV-antistoffer, 0,2% ProClin® 300, konserveringsmidler.

Alle reagenser leveres klare til bruk. Verdiområdet for hver kontroll blir angitt på analysesertifikatet og indikerer grensene som er fastsatt av DiaSorin for de kontrollverdiene som kan oppnås for pålitelige analysekjøringer. Hvert laboratorium er selv ansvarlig for å ta i bruk andre grenser for å møte egne individuelle krav.

3. ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- For *in vitro* diagnostisk bruk.
- Kontrollene er ikke spesifikke for hvert enkelt partisett og kan trygt byttes innbyrdes, selv mellom sett fra ulike reagensintegralpartier.
- Alle humane serum- og plasmaenheter som brukes til å produsere kalibrator 2 som er i kitet, er testet for tilstedeværelse av HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 og anti-HIV-2, og er påvist å være ikke-reaktive for anti-HCV, anti-HIV-1/2 og reaktive for HBsAg sammen med HDV-antistoffer. Enhetene som er positive for anti-HDV er inaktivert med kjemisk behandling og varmebehandling, men kan komme fra HDV-smittede pasienter, og skal derfor anses som potensielt smittefarlige.
  Siden ingen testmetode kan si med absolutt sikkerhet at patogener er fraværende, bør alle prøver av human opprinnelse ansees som potensielt smittebærende og behandles meget forsiktig.
- Ta normale forholdsregler som kreves for håndtering av alle laboratoriereagenser.
- Alt avfallsmateriale må avfallsbehandles i samsvar med lokale retningslinjer.

4. SIKKERHETSREGLER

Unngå å spise, drikke, røyke eller ta på sminke i analyselaboratoriet. Ikke pipetter med munnen.

Unngå direkte kontakt med potensielt smittebærende materiale ved å bruke laboratorieklær, vernebriller og engangshansker. Vask hendene grundig på slutten av hver analyse.

Unngå sprut og forstøving. Alle dråper av biologiske reagenser må fjernes med en natriumhypokloritt løsning med 0,5% aktivt klor, og brukte materialer må behandles som smittefarlig avfall.

Alle prøver og reagenser som inneholder biologiske materialer som brukes til analysen, må betraktes som potensielt i stand til å overføre smittestoffer. Avfallet må håndteres med forsiktighet og kastes i overensstemmelse med laboratoriets regler og de lovbestemmelser som gjelder i hvert enkelt land. Eventuelt materiell som skal brukes på nytt må steriliseres korrekt i overensstemmelse med lokale lover og direktiver. Kontroller effektiviteten til steriliserings-/dekontamineringssyklusen.

Ikke bruk sett eller komponenter etter utløpsdatoen som er gitt på etiketten.

I samsvar med EF-forordning 1272/2008 (CLP) er reagenser klassifisert og merket som følger:

REAGENSER:	CONTROL -, CONTROL +
KLASSIFISERING:	Skin sens. 1 H317
SIGNALORD:	Advarsel
SYMBOLER / PIKTOGRAMMER:	 GHS07 Utropstegn
FARESETNINGER:	H317 Kan utløse en allergisk hudreaksjon.
SIKKERHETSSETNINGER:	P261 Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler. P280 Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. P363 Tilsølte klær må vaskes før de brukes på nytt.
INNEHOLDER: (kun substanser forordnet i overensstemmelse med artikkel 18 i EF-forordning 1272/2008).	Reaksjonsmasse for: 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-on [EF-nr. 247-500-7] og 2-metyl-2H-isotiazol-3-on [EF-nr. 220-239-6] (3:1). (ProClin® 300).

For ekstra informasjon, les sikkerhetsdatabladene, tilgjengelige på www.diasorin.com

5. LAGRING OG STABILITET

Ved mottak må kontrollene lagres ved 2-8°C i loddrett posisjon, for å unngå at løsningen fester seg til flaskehetten. Må ikke fryses. Når kontrollene lagres i forseglet tilstand og i en loddrett posisjon, er de stabile ved 2-8°C frem til utløpsdatoen. Etter åpning er kontrollene stabile i **åtte** (**8**) uker, dersom de lagres riktig ved 2-8°C mellom hver anvendelse. Unngå bakteriell kontaminering av kontrollene. Kontrollene skal ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på etikettene på flaskene.

6. KLARGJØRING AV REAGENSER

- Plasser kontrollflaskene i stativene av type C i analyseinstrumentet. Hver kontrollflaske rekker til minst 20 tester.
- Påkrevd minimumsvolum er 420 µL (20 µL kontroll + 400 µL dødvolum).
- Ved bruk må kontrollene oppnå romtemperatur (20-25°C) før flaskene åpnes, og de må være på instrumentet kun så lenge som nødvendig for kvalitetskontrolltesting.
- Etter bruk må ampullene lukkes ordentlig og så lagres i loddrett posisjon ved 2-8°C.
- Under håndtering må det tas forholdsregler for å unngå bakteriell kontaminering av kontrollene.

7. HÅNDTERING

For informasjon om riktig håndtering, se brukerhåndboken for det relevante analyseinstrumentet.

8. MÅLVERDIER

Områdene for anti-HDV-verdier i kontrollene er trykket på analysesertifikatet. De fastsettes etter å ha tatt i betraktning variasjoner i kjøringen for å garantere nøyaktigheten av de analytiske resultatene og for å oppnå indikasjoner om stabilitet eller forringelse av reagensene. Hvis kontrollverdiene gjentatte ganger ligger utenfor de forventede områdene, har testen sannsynligvis blitt utført feilaktig.

Supplementær tabell 1. Samlet rådata for positive og negative HDV-prøver

Prøve ID	Liaison XL 1 Mario		Liaison XL 2 Luigi		Folkehelse instituttet		
	aHDV (AU/mL)	kvalitativt	aHDV (AU/mL)	kvalitativt	Kit	S/CO (konkurransetest)	kvalitativt
B1	10,6	POS	10,9	POS	-	-	POS
B2	10,7	POS	10,5	POS	-	-	POS
B3	10,7	POS	10,8	POS	-	-	POS
B4	10,4	POS	10,8	POS	-	-	POS
B5	10,5	POS	10,7	POS	-	-	POS
B6	8,74	POS	14,8	POS	DiaSorin ETI-DELTAK-2	0,033 / 0,954	POS
B7	8,72	POS	15,3	POS	DiaSorin ETI-DELTAK-2	0,012 / 1,210	POS
B8	1,1	POS	1,05	POS	DiaSorin ETI-DELTAK-2	0,453 / 1,066	POS
B9	5,22	POS	7,56	POS	DiaSorin ETI-DELTAK-2	0,262 / 0,940	POS
B10	8,62	POS	14,9	POS	DiaSorin ETI-DELTAK-2	0,017 / 0,831	POS
B11	9,24	POS	14,8	POS	DiaSorin ETI-DELTAK-2	0,026 / 0,769	POS
B12	9,02	POS	15,1	POS	DiaSorin ETI-DELTAK-2	0,013 / 0,769	POS
B13	14,8	POS	15,4	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,021 / 0,502	POS
B14	0,998	NEG	1,12	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,456 / 0,535	POS
B15	11,5	POS	11,7	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,018 / 0,535	POS
B16	0,890	NEG	0,951	NEG	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,162 / 0,353	POS
B17	9,82	POS	10,2	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,147 / 0,353	POS
B18	14,5	POS	14,5	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,009 / 0,440	POS
B19	14,2	POS	14,1	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,032 / 0,440	POS
B20	10,8	POS	11,4	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,140 / 0,437	POS
B21	15,1	POS	14,6	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,004 / 0,437	POS
B22	15,3	POS	15,2	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	-0,07310705	POS
B23	6,28	POS	6,72	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,033 / 0,383	POS
B24	8,74	POS	8,81	POS	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,126 / 0,383	POS
B25	0,347	NEG	0,371	NEG	Dia.Pro HDV Ab EIA	0,267 / 0,397	POS
A1	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A2	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A3	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A4	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A5	0,155	NEG	0,128	NEG			
A6	0,569	NEG	0,466	NEG			
A7	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A8	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A9	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A10	0,102	NEG	0,114	NEG			
A11	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A12	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A13	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A14	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A15	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A16	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A17	0,606	NEG	0,642	NEG			
A18	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A19	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A20	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A21	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A22	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A23	< 0,100	NEG	<0,100	NEG			
A24	1,44	POS	1,36	POS			
A25	1,32	POS	1,37	POS			

Supplementær tabell 2. Positive og negative HDV-prøver analysert på Mario

Dato	Prøve ID	Resultat (AU/mL)	Kommentar	Retest 1 (AU/mL)	Retest 2 (AU/mL)	Gjennomsnitt retest	Utført av
12.03.2021	A1	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A2	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A3	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A4	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A5	0,155	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A6	0,569	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A7	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A8	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A9	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A10	0,102	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A11	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A12	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A13	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A14	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A15	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A16	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A17	0,606	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A18	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A19	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A20	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A21	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A22	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A23	< 0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A24	1,44	Blodgiver, forventet negativ. Skal retestes x2	1,46	0,507	1,14	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A25	1,32	Blodgiver, forventet negativ. Skal retestes x2	1,24	1,21	1,26	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B1	10,6	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B2	10,7	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B3	10,7	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B4	10,4	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B5	10,5	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B6	8,74	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B7	8,72	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B8	1,1	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B9	5,22	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B10	8,62	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B11	9,24	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B12	9,02	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B13	14,8	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B14	0,998	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B15	11,5	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B16	0,890	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B17	9,82	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B18	14,5	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B19	14,2	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B20	10,8	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B21	15,1	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B22	15,3	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B23	6,28	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B24	8,74	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B25	0,347	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk

Supplementær tabell 3. Positive og negative HDV-prøver analysert på Luigi

Dato	Prøve ID	Resultat (AU/mL)	Kommentar	Retest 1 (AU/mL)	Retest 2 (AU/mL)	Gjennomsnitt retest	Utført av
12.03.2021	A1	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A2	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A3	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A4	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A5	0,128	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A6	0,466	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A7	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A8	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A9	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A10	0,114	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A11	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A12	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A13	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A14	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A15	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A16	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A17	0,642	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A18	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A19	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A20	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A21	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A22	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A23	<0,100	Ok, forventet negativ				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A24	1,36	Blodgiver, forventet negativ. Skal retestes x2	0,955	1,00	1,11	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	A25	1,37	Blodgiver, forventet negativ. Skal retestes x2	1,12	1,40	1,30	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B1	10,9	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B2	10,5	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B3	10,8	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B4	10,8	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	B5	10,7	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B6	14,8	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B7	15,3	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B8	1,05	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B9	7,56	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B10	14,9	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B11	14,8	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B12	15,1	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B13	15,4	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B14	1,12	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B15	11,7	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B16	0,951	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B17	10,2	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B18	14,5	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B19	14,1	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B20	11,4	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B21	14,6	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B22	15,2	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B23	6,72	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B24	8,81	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk
17.03.2021	B25	0,371	Forventet positiv				mamyrs/marres/julmyk

Supplementær tabell 4. SLP-prøver analysert på Mario

Dato	Prøve ID	Resultat	Fasit verdi	Kommentar	Utført av
12.03.2021	43	4,41	POS	OK	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	44	7,28	POS	OK	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	41	< 0,100	NEG	OK	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	42	3,44	POS	OK	mamyrs/marres/julmyk

Supplementær tabell 5. SLP-prøver analysert på Luigi

Dato	Prøve ID	Resultat	Fasit verdi	Kommentar	Utført av
12.03.2021	43	6,02	POS	OK	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	44	8,78	POS	OK	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	41	< 0,100	NEG	OK	mamyrs/marres/julmyk
12.03.2021	42	3,92	POS	OK	mamyrs/marres/julmyk

Supplementær tabell 6. Kit-avhengig kontroll analysert på Mario og Luigi

Dato	Reagenslot	Kit-lot	Instrument	Lot pos ktr	Pos ktr (AU/mL)	Lot neg ktr	Neg ktr (AU/mL)	Utført av	Kommentar
08.03.2021	257007	258006	Mario	7042030	2,10	7041030	<0,100	mamyrs/marres/julmyk	Ok
12.03.2021	257007	258006	Mario	7042030	1,99	7041030	<0,100	mamyrs/marres/julmyk	ok
12.03.2021	257007	258006	Luigi	7042030	2,08	7041030	<0,100	mamyrs/marres/julmyk	ok
17.03.2021	257007	258006	Mario	7042030	1,97	7041030	<0,100	mamyrs/marres/julmyk	ok
17.03.2021	257009	258006	Mario	7042030	2,00	7041030	<0,100	mamyrs/marres/julmyk	ok
17.03.2021	257009	258006	Luigi	7042030	2,17	7041030	<0,100	mamyrs/marres/julmyk	ok
19.03.2021	257009	258006	Mario	7042030	1,63	7041030	<0,100	mamyrs/marres/julmyk	ok
23.03.2021	257009	258006	Mario	7042030	2,54	7041030	0,111	mamyrs/marres/julmyk	ok
24.03.2021	257009	258006	Mario	7042030	2,09	7041030	<0,100	mamyrs/marres	ok
25.03.2021	257009	258006	Luigi	7042030	1,91	7041030	0,102	mamyrs/marres	ok
26.03.2021	257009	258006	Luigi	7042030	1,77	7041030	0,107	mamyrs/marres/julmyk	ok, nytt reagens (samme LOT)
26.03.2021	257009	258006	Mario	7042030	2,77	7041030	0,148	mamyrs/marres/julmyk	ok, nytt reagens (samme LOT)
26.03.2021	257009	258006	Luigi	7042030	2,26	7041030	<0,100	mamyrs/marres/julmyk	ok, nytt reagens (samme LOT)
08.04.2021	257009	258006	Luigi	7042030	1,82	7041030	0,109	marres	ok. Reagens kalibrert 08.04.21 før oppstart
09.04.2021	257009	258006	Mario	7042030	1,94	7041030	<0,100	mamyrs	ok. Reagens kalibrert 09.04.21 før oppstart
14.042021	257009	258006	Luigi	7042030	1,73	7041030	<0,100	mamyrs	ok
14.042021	257009	258006	Mario	7042030	1,50	7041030	<0,100	mamyrs	ok

Supplementær tabell 7. Kit-uavhengig kontroll analysert på Mario

Dato	Lot reagens	Instrument	Pos ktr (AU/mL)	Forkastet	Utført av	Kommentar
24.03.2021	257009	Mario	0,831		mamyrs/marres	
24.03.2021	257009	Mario	2,61		mamyrs/marres	
24.03.2021	257009	Mario	1,03		mamyrs/marres	
24.03.2021	257009	Mario	1,21		mamyrs/marres	
25.03.2021	257009	Mario	2,64		mamyrs/marres	
26.03.2021	257009	Mario	3,05		mamyrs/marres/julmyk	
26.03.2021	257009	Mario	3,15		mamyrs/marres/julmyk	
26.03.2021	257009	Mario	1,58		mamyrs/marres/julmyk	
26.03.2021	257009	Mario	2,57		mamyrs/marres/julmyk	
26.03.2021	257009	Mario	2,88		mamyrs/marres/julmyk	
09.04.2021	257009	Mario	2,11		mamyrs	
09.04.2021	257009	Mario	1,79		mamyrs	
09.04.2021	257009	Mario	0,873		mamyrs	
09.04.2021	257009	Mario	1,99		mamyrs	
09.04.2021	257009	Mario	0,945		mamyrs	

Supplementær tabell 8. Kit-uavhengig kontroll analysert på Luigi

Dato	Lot reagens	Instrument	Pos ktr (AU/mL)	Forkastet	Utført av	Kommentar
25.03.2021	257009	Luigi	2,20		mamyrs/marres	
25.03.2021	257009	Luigi	2,23		mamyrs/marres	
25.03.2021	257009	Luigi	1,89		mamyrs/marres	
25.03.2021	257009	Luigi	2,18		mamyrs/marres	
25.03.2021	257009	Luigi	2,36		mamyrs/marres	
26.03.2021	257009	Luigi	2,15		mamyrs/marres/julmyk	
26.03.2021	257009	Luigi	2,19		mamyrs/marres/julmyk	
26.03.2021	257009	Luigi	2,29		mamyrs/marres/julmyk	
26.03.2021	257009	Luigi	2,41		mamyrs/marres/julmyk	
26.03.2021	257009	Luigi	2,46		mamyrs/marres/julmyk	
08.04.2021	257009	Luigi	2,09		marres	
08.04.2021	257009	Luigi	1,94		marres	
08.04.2021	257009	Luigi	1,95		marres	
08.04.2021	257009	Luigi	1,90		marres	
08.04.2021	257009	Luigi	2,11		marres	