

**REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2022/1107 DELLA COMMISSIONE****del 4 luglio 2022****che stabilisce specifiche comuni per alcuni dispositivi medico-diagnostici *in vitro* della classe D conformemente al regolamento (UE) 2017/746 del Parlamento europeo e del Consiglio****(Testo rilevante ai fini del SEE)**

LA COMMISSIONE EUROPEA,

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

visto il regolamento (UE) 2017/746 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 5 aprile 2017, relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro* e che abroga la direttiva 98/79/CE e la decisione 2010/227/UE della Commissione <sup>(1)</sup>, in particolare l'articolo 9, paragrafo 1,

considerando quanto segue:

- (1) Per alcuni dispositivi medico-diagnostici *in vitro* della classe D che rientrano nell'ambito di applicazione del regolamento (UE) 2017/746 non esistono norme armonizzate per quanto riguarda determinati requisiti di cui all'allegato I di tale regolamento e si devono affrontare preoccupazioni per la salute pubblica in quanto il rischio associato all'uso di tali dispositivi è significativo per la salute pubblica e la sicurezza dei pazienti. È pertanto opportuno adottare specifiche comuni per tali dispositivi per quanto riguarda detti requisiti.
- (2) Il regolamento (UE) 2017/746 sostituisce la direttiva 98/79/CE del Parlamento europeo e del Consiglio <sup>(2)</sup>. Le specifiche tecniche comuni stabilite nella decisione 2002/364/CE della Commissione <sup>(3)</sup> per determinati dispositivi disciplinati dalla direttiva 98/79/CE continuano a essere pertinenti. Tali specifiche tecniche comuni sono state pertanto prese in considerazione e, ove necessario, aggiornate per rispecchiare lo stato dell'arte.
- (3) Per consentire ai fabbricanti, agli altri operatori economici, agli organismi notificati e ad altri attori di adeguarsi al presente regolamento e garantire che sia correttamente applicato, è opportuno posticiparne l'applicazione. Nell'interesse della salute pubblica e della sicurezza dei pazienti, è tuttavia opportuno consentire ai fabbricanti di conformarsi su base volontaria alle specifiche comuni stabilite nel presente regolamento prima della sua data di applicazione.
- (4) Al fine di garantire un livello costantemente elevato di sicurezza e prestazioni dei dispositivi, è opportuno prevedere, a titolo di misura transitoria, che i dispositivi conformi alla decisione 2002/364/CE siano considerati conformi ai requisiti relativi a determinate caratteristiche delle prestazioni di cui all'allegato I del regolamento (UE) 2017/746 fino alla data di applicazione del presente regolamento.
- (5) Il gruppo di coordinamento per i dispositivi medici è stato consultato.
- (6) Le misure di cui al presente regolamento sono conformi al parere del comitato per i dispositivi medici,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

*Articolo 1***Specifiche comuni**

Il presente regolamento stabilisce specifiche comuni per alcuni dispositivi medico-diagnostici *in vitro* della classe D per quanto riguarda i requisiti relativi alle caratteristiche delle prestazioni di cui all'allegato I, sezione 9.1, lettere a) e b), sezione 9.3 e sezione 9.4, lettera a), del regolamento (UE) 2017/746.

<sup>(1)</sup> GUL 117 del 5.5.2017, pag. 176.

<sup>(2)</sup> Direttiva 98/79/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 27 ottobre 1998, relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro* (GUL 331 del 7.12.1998, pag. 1).

<sup>(3)</sup> Decisione 2002/364/CE della Commissione, del 7 maggio 2002, relativa alle specifiche tecniche comuni per i dispositivi medico-diagnostici *in vitro* (GUL 131 del 16.5.2002, pag. 17).

L'allegato I stabilisce specifiche comuni per i dispositivi di cui agli allegati da II a XIII, come specificato in tale allegato.

L'allegato II stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare gli antigeni dei gruppi sanguigni nei sistemi ABO, Rh, Kell, Duffy e Kidd.

L'allegato III stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus dell'immunodeficienza umana (HIV).

L'allegato IV stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus della leucemia umana a cellule T (HTLV).

L'allegato V stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus dell'epatite C (HCV).

L'allegato VI stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus dell'epatite B (HBV).

L'allegato VII stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus dell'epatite D (HDV).

L'allegato VIII stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare i marcatori della variante della malattia di Creutzfeldt-Jakob (vCJD).

L'allegato IX stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da citomegalovirus (CMV).

L'allegato X stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus di Epstein-Barr (EBV).

L'allegato XI stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare i marcatori dell'infezione da *Treponema pallidum*.

L'allegato XII stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da *Trypanosoma cruzi*.

L'allegato XIII stabilisce specifiche comuni per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da coronavirus della sindrome respiratoria acuta grave 2 (SARS-CoV-2).

## Articolo 2

### Definizioni

Ai fini del presente regolamento si applicano le definizioni seguenti:

- (1) «vero positivo»: un campione noto come positivo per il marcatore bersaglio e correttamente classificato dal dispositivo;
- (2) «falso negativo»: un campione noto come positivo per il marcatore bersaglio e classificato erroneamente dal dispositivo;
- (3) «falso positivo»: un campione noto come negativo per il marcatore bersaglio e classificato erroneamente dal dispositivo;
- (4) «limite di rilevazione» («LOD»): la quantità minima di marcatore bersaglio che può essere rilevata;
- (5) «tecniche di amplificazione degli acidi nucleici» «NAT»: metodi destinati a rilevare o a quantificare gli acidi nucleici mediante l'amplificazione di una sequenza bersaglio, l'amplificazione di un segnale o l'ibridazione;
- (6) «sistema NAT»: la combinazione di dispositivi utilizzati per l'estrazione, l'amplificazione e la rilevazione degli acidi nucleici;
- (7) «test rapido»: un dispositivo medico-diagnostico *in vitro* qualitativo o semiquantitativo, usato singolarmente o in una piccola serie, che comporta procedure non automatizzate (ad eccezione della lettura dei risultati) ed è stato progettato per fornire un risultato in tempi rapidi;

- (8) «robustezza»: la capacità di una procedura analitica di non essere influenzata da piccole ma volute variazioni dei parametri di metodo, che fornisce un'indicazione dell'affidabilità della procedura analitica stessa durante l'uso normale;
- (9) «reattività crociata»: la capacità di analiti o marcatori non bersaglio di produrre risultati falsi positivi in un test a causa della similarità, ad esempio la capacità di anticorpi non specifici di legarsi ad un antigene di un test anticorpale o la capacità di acidi nucleici non bersaglio di essere reattivi in un test NAT;
- (10) «interferenza»: la capacità di sostanze non correlate di incidere sui risultati di un test;
- (11) «tasso globale di errore del sistema»: la frequenza degli errori quando l'intero processo è eseguito come prescritto dal fabbricante;
- (12) «test di prima linea»: un dispositivo usato per rilevare un marcatore o un analita e al cui uso può far seguito quello di un test di conferma. I dispositivi destinati unicamente a essere usati per monitorare un marcatore o un analita precedentemente determinato non sono considerati test di prima linea;
- (13) «test di conferma»: un dispositivo usato per confermare un risultato reattivo di un test di prima linea;
- (14) «test supplementare»: un dispositivo utilizzato per fornire ulteriori informazioni per l'interpretazione dei risultati ottenuti con un altro test;
- (15) «dispositivo di tipizzazione virale»: un dispositivo di tipizzazione con campioni positivi già noti, non utilizzato per la diagnosi primaria dell'infezione o per lo screening;
- (16) «valore soglia positivo del 95%»: la concentrazione dell'analita in cui il 95% dei test effettuati fornisce risultati positivi dopo diluizioni seriali di un materiale di riferimento internazionale, ove disponibile, quale ad esempio uno standard internazionale dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) o un materiale di riferimento calibrato secondo lo standard internazionale dell'OMS.

### Articolo 3

#### Disposizioni transitorie

1. Dal 25 luglio 2022 al 25 luglio 2024 i dispositivi conformi alle specifiche tecniche comuni di cui alla decisione 2002/364/CE sono considerati conformi ai requisiti relativi alle caratteristiche delle prestazioni di cui all'allegato I, sezione 9.1, lettere a) e b), sezione 9.3 e sezione 9.4, lettera a), del regolamento (UE) 2017/746.

Durante tale periodo i fabbricanti di dispositivi non conformi alle specifiche tecniche comuni di cui alla decisione 2002/364/CE dimostrano debitamente di aver adottato soluzioni che garantiscono un livello di sicurezza e prestazione perlomeno equivalente.

2. Dal 25 luglio 2022 al 25 luglio 2024 i dispositivi conformi alle specifiche comuni di cui al presente regolamento sono considerati conformi ai requisiti relativi alle caratteristiche delle prestazioni di cui all'allegato I, sezione 9.1, lettere a) e b), sezione 9.3 e sezione 9.4, lettera a), del regolamento (UE) 2017/746.

### Articolo 4

#### Entrata in vigore e data di applicazione

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Esso si applica a decorrere dal 25 luglio 2024.

Tuttavia l'articolo 3 si applica a decorrere dal 25 luglio 2022.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 4 luglio 2022

*Per la Commissione*  
*La presidente*  
Ursula VON DER LEYEN

---

## SPECIFICHE COMUNI GENERALI

## Parte I — Requisiti relativi alle caratteristiche delle prestazioni dei dispositivi di cui agli allegati da II a XIII

Caratteristiche delle prestazioni	Requisito
Tutte le caratteristiche delle prestazioni di cui all'allegato I, sezione 9.1, lettere a) e b), sezione 9.3 e sezione 9.4, lettera a), del regolamento (UE) 2017/746	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. La determinazione delle caratteristiche delle prestazioni deve essere effettuata per confronto diretto con un dispositivo corrispondente allo stato dell'arte. Se presente sul mercato al momento della valutazione delle prestazioni, il dispositivo usato per il confronto deve essere un dispositivo recante la marcatura CE.</li> <li>2. I dispositivi usati per determinare lo status dei campioni utilizzati nella determinazione delle caratteristiche delle prestazioni devono essere dispositivi corrispondenti allo stato dell'arte recanti la marcatura CE.</li> <li>3. Se durante la determinazione delle caratteristiche delle prestazioni si ottengono risultati discordanti, tali risultati vanno per quanto possibile chiariti in uno o più dei seguenti modi: <ul style="list-style-type: none"> <li>— valutando il campione discordante con ulteriori dispositivi,</li> <li>— utilizzando altri metodi o altri marcatori,</li> <li>— riesaminando lo stato clinico e la diagnosi del paziente,</li> <li>— sottoponendo a test campioni di follow-up.</li> </ul> </li> <li>4. La determinazione delle caratteristiche delle prestazioni deve essere effettuata su una popolazione equivalente alla popolazione europea.</li> </ol>
Tasso globale di errore del sistema	5. Nel quadro dell'analisi dei rischi prevista, il tasso globale di errore del sistema che porta a risultati falsi negativi deve essere stabilito in base a test ripetuti su campioni a bassa positività.
Sensibilità analitica e specificità analitica, interferenza	6. Per i dispositivi destinati ad essere utilizzati con plasma, il fabbricante deve verificare le prestazioni del dispositivo utilizzando tutti gli anticoagulanti che ha indicato per l'uso con il dispositivo, per almeno 50 campioni di plasma (per i dispositivi destinati a rilevare e/o a quantificare gli agenti infettivi, 25 campioni positivi e 25 campioni negativi).
Specificità analitica e diagnostica, interferenza e reattività crociata	7. Il fabbricante deve selezionare le sostanze potenzialmente interferenti da valutare tenendo conto della composizione dei reagenti e della configurazione del dispositivo.
Omogeneità dei lotti	<ol style="list-style-type: none"> <li>8. Per i dispositivi destinati a rilevare gli antigeni e gli anticorpi, i criteri di controllo dei lotti applicati dal fabbricante devono garantire che ogni lotto identifichi in modo coerente gli antigeni, gli epitopi e gli anticorpi pertinenti e sia adatto ai tipi di campioni dichiarati.</li> <li>9. Il controllo da parte del fabbricante del rilascio dei lotti per test di prima linea deve comprendere almeno 100 campioni negativi per l'analita pertinente <sup>(1)</sup>.</li> </ol>

<sup>(1)</sup> Tale requisito non si applica ai dispositivi di cui all'allegato XIII, tabelle 1 e 2.

Caratteristica delle prestazioni	Requisito
Sensibilità analitica e diagnostica	<p>10. I dispositivi che il fabbricante ha destinato all'analisi di liquidi biologici diversi dal siero o dal plasma, come urina, saliva, ecc., devono soddisfare gli stessi requisiti dei dispositivi per siero o plasma. Il fabbricante deve analizzare campioni degli stessi soggetti sia nei dispositivi da approvare sia in un dispositivo corrispondente per siero o plasma. <sup>(1)</sup></p> <p>11. I dispositivi per test autodiagnostici devono soddisfare gli stessi requisiti dei dispositivi corrispondenti per uso professionale.</p> <p>12. I campioni positivi usati nella valutazione delle prestazioni devono essere selezionati in modo da riflettere diversi stadi della malattia, diversi modelli anticorpali, diversi genotipi e sottotipi, mutanti, ecc.</p> <p>13. I pannelli di sieroconversione devono iniziare con uno o più campioni di sangue negativi e prevedere, per quanto possibile, brevi intervalli tra i prelievi. Qualora ciò non sia possibile, i fabbricanti devono fornire una giustificazione nella relazione sulla valutazione delle prestazioni.</p> <p>14. Per i dispositivi destinati dal fabbricante a essere utilizzati con siero e plasma, la valutazione delle prestazioni deve dimostrare l'equivalenza tra siero e plasma. La dimostrazione deve essere effettuata per almeno 25 donazioni positive.</p> <p>15. Per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare antigeni o acidi nucleici, nelle istruzioni per l'uso occorre specificare rispettivamente gli antigeni bersaglio o le regioni di acido nucleico bersaglio.</p> <p>16. Per i dispositivi destinati a rilevare o quantificare gli anticorpi contro un agente infettivo, nelle istruzioni per l'uso occorre specificare gli antigeni bersaglio di tali anticorpi.</p>
Specificità analitica e diagnostica	<p>17. I dispositivi che il fabbricante ha destinato all'analisi di liquidi biologici diversi dal siero o dal plasma, come urina, saliva, ecc., devono soddisfare gli stessi requisiti dei dispositivi per siero o plasma. Nella valutazione delle prestazioni si devono analizzare campioni degli stessi soggetti sia nei dispositivi da approvare sia in un dispositivo corrispondente per siero o plasma <sup>(1)</sup>.</p> <p>18. I dispositivi per test autodiagnostici devono soddisfare gli stessi requisiti dei dispositivi corrispondenti per uso professionale.</p> <p>19. I campioni negativi usati in una valutazione delle prestazioni devono essere definiti in modo da rappresentare la popolazione bersaglio cui è destinato il dispositivo, come donatori di sangue, pazienti ospedalizzati, donne in gravidanza, ecc.</p> <p>20. La specificità deve basarsi su risultati ripetutamente reattivi falsi positivi in campioni negativi per il marcatore bersaglio.</p> <p>21. Per i dispositivi destinati dal fabbricante a essere utilizzati con siero e plasma, la valutazione delle prestazioni deve dimostrare l'equivalenza tra siero e plasma. La dimostrazione deve essere effettuata per almeno 25 donazioni negative.</p>

Specificità analitica e diagnostica, interferenza e reattività crociata	<p>22. Il fabbricante, a seconda dei casi, deve includere campioni quali:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>— campioni che rappresentano infezioni affini,</li> <li>— campioni provenienti da multigravide (donne che hanno avuto più di una gravidanza) o da pazienti positivi per il fattore reumatoide (RF),</li> <li>— campioni contenenti anticorpi umani contro i componenti del sistema di espressione, ad esempio anti-<i>E. coli</i> o anti-lievito.</li> </ul>
Prestazioni ottenute da utilizzatori profani	<p>23. Le parti pertinenti della valutazione delle prestazioni devono essere eseguite (o ripetute) da utilizzatori profani al fine di convalidare il funzionamento del dispositivo e le istruzioni per l'uso. Gli utilizzatori profani selezionati per la valutazione delle prestazioni devono essere rappresentativi dei gruppi di utilizzatori cui sono destinati i dispositivi.</p>
<p>(<sup>1</sup>) Tale requisito non si applica ai dispositivi di cui all'allegato XIII, tabelle 4, 5 e 6.</p>	

**SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE GLI ANTIGENI DEI GRUPPI SANGUIGNI NEI SISTEMI DI GRUPPI SANGUIGNI ABO, RH, KELL, DUFFY E KIDD**

**Ambito di applicazione**

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare gli antigeni dei gruppi sanguigni nei sistemi di gruppi sanguigni ABO, Rh, Kell, Duffy e Kidd.

La tabella 1 si applica alla valutazione delle prestazioni dei dispositivi che rilevano gli antigeni dei gruppi sanguigni nei sistemi di gruppi sanguigni ABO, Rh, Kell, Duffy e Kidd.

La tabella 2 si applica al controllo da parte del fabbricante dell'omogeneità dei lotti per reagenti e prodotti reattivi per la determinazione degli antigeni dei gruppi sanguigni nei sistemi di gruppi sanguigni ABO, Rh, Kell, Duffy e Kidd (reagenti di prova, materiali di controllo).

**Tabella 1. Valutazione delle prestazioni dei dispositivi che rilevano gli antigeni dei gruppi sanguigni nei sistemi di gruppi sanguigni ABO, Rh, Kell, Duffy e Kidd**

Specificità del reagente	Numero di test per metodo dichiarato dal fabbricante	Numero totale di campioni da testare per il lancio di un dispositivo	Numero totale di campioni da testare per una nuova formulazione o per l'uso di reagenti ben caratterizzati	Criteri di qualifica generali	Criteri di qualifica specifici	Criteri di accettazione
Anti-ABO1 (Anti-A), Anti-ABO2 (Anti-B), Anti-ABO3 (Anti-A, B)	≥ 500	≥ 3 000	≥ 1 000	Campioni clinici: 10 % della popolazione studiata Campioni neonatali: > 2 % della popolazione studiata	I campioni ABO devono comprendere > 40 % di campioni positivi per gli antigeni A e B, tra cui possono figurare campioni del gruppo A, del gruppo B e del gruppo AB.	Tutti i reagenti devono avere prestazioni comparabili a quelle di dispositivi corrispondenti allo stato dell'arte recanti la marcatura CE per quanto riguarda la reattività dichiarata del dispositivo. Per i dispositivi recanti la marcatura CE, di cui siano stati modificati o estesi l'uso o l'applicazione, devono essere effettuati ulteriori test in conformità ai requisiti descritti nella colonna 2 (Numero di test per metodo dichiarato dal fabbricante).
Anti-RH1 (Anti-D)	≥ 500	≥ 3 000	≥ 1 000		La valutazione delle prestazioni dei reagenti anti-D deve comprendere test su una serie di campioni di RH1 (D) debole e RH1 (D) parziale, a seconda dell'uso previsto del prodotto. Le cellule D deboli e/o parziali devono rappresentare > 2 % dei campioni RH1 (D) positivi.	
Anti-RH2 (Anti-C), Anti-RH4 (Anti-c), Anti- RH3 (Anti-E)	≥ 100	≥ 1 000	≥ 200			
Anti-RH5 (Anti-e)	≥ 100	≥ 500	≥ 200			

Anti-KEL1 (Anti-K)	≥ 100	≥ 500	≥ 200			
Anti-JK1 (Jk <sup>a</sup> ), Anti-JK2 (Jk <sup>b</sup> )	≥ 100	≥ 500	≥ 200			
Anti-FY1 (Fy <sup>a</sup> ), Anti-FY2 (Fy <sup>b</sup> )	≥ 100	≥ 500	≥ 200			

Nota: I campioni positivi utilizzati per la valutazione delle prestazioni devono essere selezionati in modo da riflettere l'espressione di antigeni varianti e deboli.

**Tabella 2. Controllo da parte del fabbricante dell'omogeneità dei lotti per reagenti e prodotti reattivi per la determinazione degli antigeni dei gruppi sanguigni nei sistemi di gruppi sanguigni ABO, Rh, Kell, Duffy e Kidd**

### 1. Reagenti per test

Reagenti del gruppo sanguigno	Numero minimo di cellule di controllo da testare nell'ambito dei test di specificità				Criteri di accettazione		
	Reazioni positive				Reazioni negative		
	A1	A2B	Ax		B	O	
Anti-ABO1 (Anti-A)	2	2	2 (1)		2	2	
	B	A1B			A1	O	
Anti-ABO2 (Anti-B)	2	2			2	2	
	A1	A2	Ax	B	O		
Anti-ABO3 (Anti-A,B)	2	2	2 (1)	2	4		
	R1r	R2r	D debole		r'r	r"r	rr
Anti-RH1 (Anti-D)	2	2	2 (1)		1	1	1
	R1R2	R1r	r'r		R2R2	r"r	rr
Anti-RH2 (Anti-C)	2	1	1		1	1	1
	R1R2	R1r	r'r		R1R1		
Anti-RH4 (Anti-c)	1	2	1		3		
	R1R2	R2r	r"r		R1R1	r'r	rr

Per ogni lotto di reagenti i risultati devono essere inequivocabilmente positivi o negativi per tutte le tecniche dichiarate dal fabbricante, conformemente ai risultati ottenuti con i dati della valutazione delle prestazioni.

Anti-RH3 (Anti-E)	2	1	1			1	1	1
	R1R2	R2r	r <sup>o</sup> r			R2R2		
Anti-RH5 (Anti-e)	2	1	1			3		
	Kk					kk		
Anti-KEL1 (Anti-K)	4					3		
	Jk(a+b <sup>+</sup> )					Jk(a-b <sup>+</sup> )		
Anti-JK1 (Anti-Jk <sup>a</sup> )	4					3		
	Jk(a+b <sup>+</sup> )					Jk(a+b <sup>-</sup> )		
Anti-JK2 (Anti-Jk <sup>b</sup> )	4					3		
	Fy(a+b <sup>+</sup> )					Fy(a-b <sup>+</sup> )		
Anti-FY1 (Anti-Fy <sup>a</sup> )	4					3		
	Fy(a+b <sup>+</sup> )					Fy(a+b <sup>-</sup> )		
Anti-FY2 (Anti-Fy <sup>b</sup> )	4					3		

Nota: I reagenti policlonali devono essere testati su un pannello di cellule più ampio per confermare la specificità ed escludere la presenza di anticorpi di contaminazione indesiderati.

(<sup>1</sup>) Solo se viene dichiarata la reattività a tali antigeni.

## 2. Materiali di controllo (globuli rossi)

Il fenotipo dei globuli rossi utilizzati per il controllo dei reagenti per la tipizzazione dei gruppi sanguigni sopraelencati deve essere confermato utilizzando uno o più dispositivi riconosciuti.

**SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA VIRUS DELL'IMMUNODEFICIENZA UMANA (HIV)**

**Ambito di applicazione**

1. Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus dell'immunodeficienza umana (HIV).  
 La tabella 1 si applica ai test di prima linea per gli anticorpi dell'HIV-1/2 (anti-HIV-1/2) e ai test di prima linea combinati per gli antigeni/anticorpi dell'HIV-1/2 (HIV-1/2 Ag/Ab) che non sono test rapidi.  
 La tabella 2 si applica ai test di prima linea per anti-HIV-1/2 e per HIV-1/2 Ag/Ab che sono test rapidi.  
 La tabella 3 si applica ai test di conferma per anti-HIV-1/2.  
 La tabella 4 si applica ai test antigenici per HIV-1 e ai test per HIV Ag/Ab.  
 La tabella 5 si applica ai dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per l'acido ribonucleico (RNA) dell'HIV.  
 La tabella 6 si applica ai test autodiagnostici per HIV-1/2.

**Definizioni**

2. Ai fini del presente allegato si applicano le definizioni seguenti:
  - (1) «campione di sieroconversione dell'HIV»:
    - positivo per l'antigene p24 e/o per l'RNA dell'HIV, e
    - riconosciuto dai test anticorpali di prima linea, e
    - risultato positivo o indeterminato nei test di conferma;
  - (2) «campione di sieroconversione precoce dell'HIV»:
    - positivo per l'antigene p24 e/o per l'RNA dell'HIV, e
    - non riconosciuto dai test anticorpali di prima linea, e
    - risultato indeterminato o negativo nei test di conferma.

**Tabella 1. Test di prima linea: anti-HIV-1/2, HIV-1/2 Ag/Ab (requisiti per la rilevazione degli anticorpi)**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 400 HIV-1 ≥ 100 HIV-2 compresi 40 sottotipi non-B compresi 25 campioni positivi di siero fresco «dello stesso giorno» (≤ 1 giorno dopo il prelievo del campione)	Tutti i campioni veri positivi devono essere identificati come positivi

		tutti i sottotipi HIV/1 disponibili devono essere rappresentati da almeno 3 campioni per sottotipo	
	Pannelli di sieroconversione	≥ 30 pannelli devono essere testati almeno 40 campioni di sieroconversione precoce dell'HIV	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte. Tutti i campioni di sieroconversione dell'HIV devono essere identificati come positivi
Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione) <sup>(1)</sup>	≥ 5 000	≥ 99,5%
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale (ad es. RF+, da infezioni virali affini, da donne in gravidanza, da soggetti vaccinati di recente contro qualsiasi agente infettivo)	

<sup>(1)</sup> Le popolazioni di donatori di sangue esaminate devono provenire da almeno due centri trasfusionali e consistere in donazioni di sangue consecutive, non selezionate al fine di escludere donatori alla prima donazione.

**Tabella 2. Test rapidi: anti-HIV-1/2, HIV-1/2 Ag/Ab (requisiti per la rilevazione degli anticorpi)**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 400 HIV-1 ≥ 100 HIV-2 compresi 40 sottotipi non-B  tutti i sottotipi HIV/1 disponibili devono essere rappresentati da almeno 3 campioni per sottotipo	Tutti i campioni veri positivi devono essere identificati come positivi
	Pannelli di sieroconversione	≥ 30 pannelli devono essere testati almeno 40 campioni di sieroconversione precoce dell'HIV	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte. Tutti i campioni di sieroconversione dell'HIV devono essere identificati come positivi
Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione)	≥ 1 000	≥ 99 %

	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 200 campioni da donne in gravidanza ≥ 100 altri campioni a possibile reazione crociata in totale (ad es. RF +, da infezioni affini)	

**Tabella 3. Test di conferma: anti-HIV-1/2**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 200 HIV-1 ≥ 100 HIV-2  Compresi campioni da stadi d'infezione diversi e che riflettono diversi modelli anticorpali	Identificazione come «positivo confermato» o «indeterminato», non come «negativo»
	Pannelli di sier conversione	≥ 15 pannelli di sier conversione/pannelli a basso titolo ≥ 40 campioni di sier conversione precoce dell'HIV	La sensibilità diagnostica durante la sier conversione deve corrispondere allo stato dell'arte. Tutti i campioni di sier conversione dell'HIV devono essere identificati come positivi
Specificità diagnostica	Donatori di sangue	≥ 200	Nessun risultato falso positivo/ nessuna neutralizzazione
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50 in totale (compresi campioni da donne in gravidanza e campioni con risultati indeterminati in altri test di conferma)	

**Tabella 4. Test antigenici: HIV-1, HIV Ag/Ab (requisiti per la rilevazione degli antigeni)**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 50 positivi per l'antigene dell'HIV-1 ≥ 50 supernatanti di coltura cellulare comprendenti diversi sottotipi di HIV-1 e l'HIV-2	Tutti i campioni veri positivi devono essere identificati come positivi (dopo neutralizzazione, se applicabile)
	Pannelli di sier conversione	≥ 20 pannelli di sier conversione/pannelli a basso titolo ≥ 40 campioni di sier conversione precoce dell'HIV	La sensibilità diagnostica durante la sier conversione deve corrispondere allo stato dell'arte. Tutti i campioni di sier conversione dell'HIV devono essere identificati come positivi

Sensibilità analitica	Primo reagente di riferimento internazionale per l'antigene p24 dell'HIV-1, codice NIBSC: 90/636		≤ 2 UI/ml
Specificità diagnostica	Donatori di sangue	≥ 200	≥ 99,5 % dopo neutralizzazione o, se il test di neutralizzazione non è disponibile, dopo chiarimento dello status del campione
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50	

**Tabella 5. Dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per l'RNA dell'HIV**

1. Per i dispositivi di amplificazione di una sequenza bersaglio, il controllo di funzionalità di ogni campione (controllo interno) deve corrispondere allo stato dell'arte. Se possibile, occorre effettuare tale controllo nel corso dell'intero processo: estrazione, amplificazione/ibridazione, rilevazione.
2. La rilevazione del genotipo e/o del sottotipo deve essere dimostrata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni di genotipi caratterizzati.
3. La potenziale reattività crociata di sequenze di acidi nucleici non bersaglio deve essere analizzata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni selezionati.
4. I risultati dei dispositivi NAT quantitativi devono essere conformi a standard internazionali o a materiali di riferimento calibrati, se disponibili, e devono essere espressi nelle unità internazionali usate nell'ambito di applicazione specifico.
5. I dispositivi NAT qualitativi per l'HIV, destinati ad essere utilizzati per rilevare la presenza dell'HIV nel sangue e nei suoi componenti, in cellule, tessuti od organi, o in uno dei loro derivati, al fine di valutare la loro idoneità per trasfusioni, trapianti o somministrazione di cellule, devono essere progettati per rilevare sia l'HIV-1 sia l'HIV-2.
6. I dispositivi NAT qualitativi per l'HIV, diversi dai dispositivi di tipizzazione virale, devono essere progettati in modo da compensare il potenziale insuccesso delle NAT in una regione bersaglio dell'HIV-1 con l'impiego di due regioni bersaglio distinte.

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	Standard internazionale dell'OMS per RNA di HIV-1; Standard internazionale dell'OMS per RNA di HIV-2; o materiali di riferimento calibrati	La sensibilità NAT e il LOD NAT devono essere convalidati mediante diluizioni seriali dei materiali di riferimento, test su replicati (minimo 24) con diverse concentrazioni dell'analita, comprese quelle con passaggio da risultati positivi a risultati negativi con il rispettivo dispositivo NAT.	Secondo lo stato dell'arte

		<p>Il LOD deve essere espresso come valore soglia positivo del 95 % (UI/ml) dopo analisi statistica (ad es. Probit) (1).</p> <p>NAT quantitativi: definizione del limite di quantificazione inferiore e superiore, precisione, accuratezza, intervallo di misurazione «lineare», «intervallo dinamico».</p> <p>Riproducibilità a diversi livelli di concentrazione</p>	
Sensibilità al genotipo/sottotipo di HIV	Tutti i genotipi/sottotipi pertinenti, preferibilmente da materiali di riferimento internazionali possibili sostituiti di rari sottotipi di HIV (da quantificare con metodi appropriati): supernatanti di coltura cellulare; trascrizioni in vitro; plasmidi	<p>NAT qualitativi: almeno 10 campioni/genotipo o sottotipo</p> <p>NAT quantitativi: diluizioni seriali per la dimostrazione dell'efficienza di quantificazione</p>	Secondo lo stato dell'arte
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi che riflettono le condizioni abituali degli utilizzatori (ad es. nessuna preselezione dei campioni)	<p>NAT quantitativi: <math>\geq 100</math></p> <p>Parallelamente, devono essere generati risultati comparativi con un altro sistema NAT.</p>	Secondo lo stato dell'arte
	Pannelli di sieroconversione	<p>NAT qualitativi: <math>\geq 10</math> pannelli</p> <p>Parallelamente, devono essere generati risultati comparativi con un altro sistema NAT.</p>	Secondo lo stato dell'arte
Specificità diagnostica	Campioni di donatori di sangue	<p>NAT qualitativi: <math>\geq 500</math></p> <p>NAT quantitativi: <math>\geq 100</math></p>	Secondo lo stato dell'arte
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	$\geq 10$ campioni positivi per retrovirus umani (ad es. HTLV)	Secondo lo stato dell'arte
Carry-over	Ad alta positività per l'RNA dell'HIV; negativi per l'RNA dell'HIV	Durante gli studi di robustezza devono essere effettuate almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli virali dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli virali elevati che si producono in modo naturale.	Secondo lo stato dell'arte
Rilevazione in base allo status degli anticorpi	Positivi per l'RNA dell'HIV; negativi per anti-HIV, positivi per anti-HIV	Campioni pre-sieroconversione (negativi per anti-HIV) e post-sieroconversione (positivi per anti-HIV)	Secondo lo stato dell'arte

Tasso globale di errore del sistema	A bassa positività per l'RNA dell'HIV	Devono essere testati $\geq 100$ campioni a bassa positività per l'RNA dell'HIV. Questi campioni devono contenere una concentrazione di virus pari a tre volte la concentrazione virale corrispondente al valore soglia positivo del 95 %.	$\geq 99$ % positivi
-------------------------------------	---------------------------------------	--	----------------------

(<sup>1</sup>) Riferimento: Farmacopea europea 9.0, 2.6.21 Tecniche di amplificazione degli acidi nucleici, Validazione.

**Tabella 6. Requisiti aggiuntivi applicabili ai test autodiagnostici per HIV-1/2**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni ( <sup>1</sup> )	Numero di utilizzatori profani
Interpretazione dei risultati ( <sup>2</sup> )	Interpretazione dei risultati ( <sup>3</sup> ) da parte di utilizzatori profani secondo la seguente gamma di livelli di reattività: — non reattivi — reattivi — debolmente reattivi ( <sup>4</sup> ) — non validi	$\geq 100$
Sensibilità diagnostica	Utilizzatori profani noti come positivi	$\geq 200$
Specificità diagnostica	Utilizzatori profani che non conoscono il loro status	$\geq 400$
	Utilizzatori profani a rischio elevato di contrarre l'infezione	$\geq 200$

(<sup>1</sup>) Per ciascun liquido biologico dichiarato per l'uso con il dispositivo, ad es. sangue intero, urina, saliva, ecc., la sensibilità e la specificità del dispositivo per test autodiagnostici usato da utilizzatori profani devono essere definite sulla base dello stato di infezione confermato del paziente.

(<sup>2</sup>) Lo studio sull'interpretazione dei risultati deve comprendere la lettura e l'interpretazione dei risultati dei test da parte di almeno 100 utilizzatori profani, ciascuno dei quali sarà sottoposto alla lettura di risultati nella gamma specificata di livelli di reattività dei risultati. Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.

(<sup>3</sup>) I test devono essere effettuati prima dello studio sull'interpretazione dei risultati utilizzando, se possibile, il tipo di campione previsto dal fabbricante. I test possono essere effettuati su campioni costruiti artificialmente sulla base della matrice naturale del rispettivo tipo di campione.

(<sup>4</sup>) Una percentuale più elevata di campioni deve rientrare nella gamma a bassa positività vicino al valore soglia o al LOD del test.

**SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA VIRUS DELLA LEUCEMIA UMANA A CELLULE T (HTLV)**

**Ambito di applicazione**

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus della leucemia umana a cellule T (HTLV).

La tabella 1 si applica ai test di prima linea per gli anticorpi contro l'HTLV I o II (anti-HTLV I/II) che non sono test rapidi.

La tabella 2 si applica ai test di prima linea per anti-HTLV I/II che sono test rapidi.

La tabella 3 si applica ai test di conferma per anti-HTLV I/II.

La tabella 4 si applica ai dispositivi NAT per HTLV I/II.

**Tabella 1. Test di prima linea: anti-HTLV I/II**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 300 HTLV-I ≥ 100 HTLV-II compresi 25 campioni positivi di siero fresco «dello stesso giorno» (≤ 1 giorno dopo il prelievo del campione)	Tutti i campioni veri positivi devono essere identificati come positivi
	Pannelli di sieroconversione	Da definire se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte, se applicabile
Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione) <sup>(1)</sup>	≥ 5 000	≥ 99,5%
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale (ad es. RF +, da infezioni virali affini, da donne in gravidanza)	

<sup>(1)</sup> Le popolazioni di donatori di sangue esaminate devono provenire da almeno due centri trasfusionali e consistere in donazioni di sangue consecutive, non selezionate al fine di escludere donatori alla prima donazione.

**Tabella 2. Test rapidi: anti-HTLV I/II**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 300 HTLV-I ≥ 100 HTLV-II	Tutti i campioni veri positivi devono essere identificati come positivi
	Pannelli di sieroconversione	Da definire se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte, se applicabile
Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione)	≥ 1 000	≥ 99 %
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 200 campioni da donne in gravidanza ≥ 100 altri campioni a possibile reazione crociata in totale (ad es. RF +, da infezioni affini)	

**Tabella 3. Test di conferma: anti-HTLV I/II**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 200 HTLV I ≥ 100 HTLV II	Identificazione come «positivo confermato» o «indeterminato», non come «negativo»
	Pannelli di sieroconversione	Da definire se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte, se applicabile
Specificità diagnostica	Donatori di sangue	≥ 200	Nessun risultato falso positivo
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50 in totale (compresi campioni da donne in gravidanza e campioni con risultati indeterminati in altri test di conferma)	

**Tabella 4. Dispositivi NAT per HTLV I/II**

1. Per i dispositivi di amplificazione di una sequenza bersaglio, il controllo di funzionalità di ogni campione (controllo interno) deve corrispondere allo stato dell'arte. Se possibile, occorre effettuare tale controllo nel corso dell'intero processo: estrazione, amplificazione/ibridazione, rilevazione.
2. La rilevazione del genotipo e/o del sottotipo deve essere dimostrata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni di genotipi caratterizzati.
3. La potenziale reattività crociata di sequenze di acidi nucleici non bersaglio deve essere analizzata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni selezionati.
4. I risultati dei dispositivi NAT quantitativi devono essere conformi a standard internazionali o a materiali di riferimento calibrati, se disponibili, e devono essere espressi nelle unità internazionali usate nell'ambito di applicazione specifico.

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	Preparazioni di riferimento internazionali	La sensibilità NAT e il LOD NAT devono essere convalidati mediante diluizioni seriali dei materiali di riferimento, test su replicati (minimo 24) con diverse concentrazioni dell'analita, comprese quelle con passaggio da risultati positivi a risultati negativi con il rispettivo dispositivo NAT.  Il LOD deve essere espresso come valore soglia positivo del 95 % (UI/ml) dopo analisi statistica (ad es. Probit) <sup>(1)</sup> . NAT quantitativi: definizione del limite di quantificazione inferiore e superiore, precisione, accuratezza, intervallo di misurazione «lineare», «intervallo dinamico». Riproducibilità a diversi livelli di concentrazione	Secondo lo stato dell'arte
Sensibilità ai genotipi di HTLV I e HTLV II	Tutti i genotipi pertinenti, preferibilmente da materiali di riferimento internazionali  possibili sostituti di rari genotipi di HTLV (da quantificare con metodi appropriati): supernatanti di coltura cellulare; trascrizioni <i>in vitro</i> ; plasmidi	NAT qualitativi: almeno 10 campioni/genotipo o sottotipo NAT quantitativi: diluizioni seriali per la dimostrazione dell'efficienza di quantificazione	Secondo lo stato dell'arte
Specificità diagnostica	Campioni di donatori di sangue	NAT qualitativi: $\geq 500$ NAT quantitativi: $\geq 100$	Secondo lo stato dell'arte

Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 10 campioni positivi per retrovirus umani (ad es. HIV-1, HIV-2)	Secondo lo stato dell'arte
Carry-over	Ad alta positività per l'RNA dell'HTLV; negativi per l'RNA dell'HTLV	Durante gli studi di robustezza devono essere effettuate almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli virali dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli virali elevati che si producono in modo naturale.	Secondo lo stato dell'arte
Rilevazione in base allo status degli anticorpi	Positivi per l'RNA dell'HTLV: negativi per anti-HTLV, positivi per anti-HTLV	Campioni pre-sieroconversione (negativi per anti-HTLV) e post-sieroconversione (positivi per anti-HTLV)	Secondo lo stato dell'arte
Tasso globale di errore del sistema	A bassa positività per l'RNA dell'HTLV	Devono essere testati ≥ 100 campioni a bassa positività per l'RNA dell'HTLV. Questi campioni devono contenere una concentrazione di virus pari a tre volte la concentrazione virale corrispondente al valore soglia positivo del 95 %.	≥ 99 % positivi

(<sup>1</sup>) Riferimento: Farmacopea europea 9.0, 2.6.21 Tecniche di amplificazione degli acidi nucleici, Validazione.

## SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA VIRUS DELL'EPATITE C (HCV)

## Ambito di applicazione

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus dell'epatite C (HCV).

La tabella 1 si applica ai test di prima linea per gli anticorpi contro l'HCV (anti-HCV) e ai test combinati per gli antigeni/anticorpi dell'HCV (HCV Ag/Ab) che non sono test rapidi.

La tabella 2 si applica ai test di prima linea per anti-HCV e per HCV Ag/Ab che sono test rapidi.

La tabella 3 si applica ai test di conferma e ai test supplementari per anti-HCV.

La tabella 4 si applica ai test antigenici per HCV e HCV Ag/Ab.

La tabella 5 si applica ai dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per l'RNA dell'HCV.

La tabella 6 si applica ai test autodiagnostici per HCV.

**Tabella 1. Test di prima linea: anti-HCV, HCV Ag/Ab (requisiti per la rilevazione degli anticorpi)**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	<p>≥ 400</p> <p>compresi campioni da stadi d'infezione diversi e che riflettono diversi modelli anticorpali</p> <p>Genotipi 1-4 dell'HCV: &gt; 20 campioni per genotipo (compresi sottotipi non-A di genotipo 4); genotipi 5 e 6 dell'HCV: &gt; 5 campioni ciascuno;</p> <p>compresi 25 campioni positivi di siero fresco «dello stesso giorno» (≤ 1 giorno dopo il prelievo del campione)</p>	Tutti i campioni veri positivi devono essere identificati come positivi
	Pannelli di sieroconversione	<p>≥ 30 pannelli</p> <p>I pannelli di sieroconversione dell'HCV per la valutazione dei test combinati antigeni e anticorpi dell'HCV (HCV Ag/Ab) devono iniziare con uno o più campioni di sangue negativi e comprendere elementi relativi allo stadio precoce dell'infezione da HCV (positivi per l'antigene del core dell'HCV e/o per l'RNA dell'HCV, ma negativi per gli anti-HCV).</p>	<p>La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.</p> <p>I test HCV Ag/Ab devono dimostrare una maggiore sensibilità nel rilevare lo stadio precoce dell'infezione da HCV rispetto ai test relativi unicamente agli anticorpi dell'HCV.</p>

Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione) <sup>(1)</sup>	≥ 5 000	≥ 99,5%
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale (ad es. RF +, da infezioni virali affini, da donne in gravidanza)	

<sup>(1)</sup> Le popolazioni di donatori di sangue esaminate devono provenire da almeno due centri trasfusionali e consistere in donazioni di sangue consecutive, non selezionate al fine di escludere donatori alla prima donazione.

**Tabella 2. Test rapidi: anti-HCV, HCV Ag/Ab (requisiti per la rilevazione degli anticorpi)**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 400 compresi campioni da stadi d'infezione diversi e che riflettono diversi modelli anticorpali Genotipi 1-4 dell'HCV: > 20 campioni per genotipo (compresi sottotipi non-A di genotipo 4); genotipi 5 e 6 dell'HCV: > 5 campioni ciascuno;	Tutti i campioni veri positivi devono essere identificati come positivi
	Pannelli di sieroconversione	≥ 30 pannelli I pannelli di sieroconversione dell'HCV per la valutazione dei test combinati antigeni e anticorpi dell'HCV (HCV Ag/Ab) devono iniziare con uno o più campioni di sangue negativi e comprendere elementi relativi allo stadio precoce dell'infezione da HCV (positivi per l'antigene del core dell'HCV e/o per l'RNA dell'HCV, ma negativi per gli anti-HCV).	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte. I test HCV Ag/Ab devono dimostrare una maggiore sensibilità nel rilevare lo stadio precoce dell'infezione da HCV rispetto ai test relativi unicamente agli anticorpi dell'HCV.
Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione) <sup>1</sup>	≥ 1 000	≥ 99 %
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 200 campioni da donne in gravidanza ≥ 100 altri campioni a possibile reazione crociata in totale (ad es. RF +, da infezioni affini)	

**Tabella 3. Test di conferma e test supplementari: anti-HCV**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	<p>≥ 300</p> <p>compresi campioni da stadi d'infezione diversi e che riflettono diversi modelli anticorpali</p> <p>Genotipi 1-4 dell'HCV: &gt; 20 campioni (compresi sottotipi non-A di genotipo 4); genotipo 5 dell'HCV: &gt; 5 campioni; genotipo 6 dell'HCV: se disponibili</p>	Identificazione come «positivo confermato» o «indeterminato», non come «negativo»
	Pannelli di sieroconversione	≥ 15 pannelli di sieroconversione/pannelli a basso titolo	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.
Specificità diagnostica	Donatori di sangue	≥ 200	Nessun risultato falso positivo/ nessuna neutralizzazione
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50 in totale (compresi campioni da donne in gravidanza e campioni con risultati indeterminati in altri test di conferma)	

**Tabella 4. Test antigenici: antigene dell'HCV, HCV Ag/Ab (requisiti per la rilevazione degli antigeni)**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	<p>≥ 25 campioni positivi per l'antigene del core dell'HCV e/o per l'RNA dell'HCV ma negativi per gli anti-HCV, compresi i genotipi HCV da 1 a 6 (motivare l'eventuale indisponibilità di un genotipo)</p>	Tutti i campioni veri positivi devono essere identificati come positivi
	Pannelli di sieroconversione	<p>≥ 20 pannelli di sieroconversione/pannelli a basso titolo</p> <p>I pannelli di sieroconversione dell'HCV per la valutazione dei test combinati antigeni e anticorpi dell'HCV devono iniziare con uno o più campioni di sangue negativi e comprendere elementi relativi allo stadio precoce dell'infezione da HCV (positivi per l'antigene del core dell'HCV e/o per l'RNA dell'HCV, ma negativi per gli anti-HCV).</p>	<p>La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.</p> <p>I test combinati antigeni e anticorpi dell'HCV devono dimostrare una maggiore sensibilità nel rilevare lo stadio precoce dell'infezione da HCV rispetto ai test relativi unicamente agli anticorpi dell'HCV.</p>

Sensibilità analitica	Standard internazionale dell'OMS per HCV core (PEI 129096/12)	Diluizioni seriali	
Specificità diagnostica	Donatori di sangue	≥ 200	≥ 99,5 % dopo neutralizzazione o, se il test di neutralizzazione non è disponibile, dopo chiarimento dello status del campione
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50	

**Tabella 5. Dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per l'RNA dell'HCV**

1. Per i dispositivi di amplificazione di una sequenza bersaglio, il controllo di funzionalità di ogni campione (controllo interno) deve corrispondere allo stato dell'arte. Se possibile, occorre effettuare tale controllo nel corso dell'intero processo: estrazione, amplificazione/ibridazione, rilevazione.
2. La rilevazione del genotipo e/o del sottotipo deve essere dimostrata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni di genotipi caratterizzati.
3. La potenziale reattività crociata di sequenze di acidi nucleici non bersaglio deve essere analizzata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni selezionati.
4. I risultati dei dispositivi NAT quantitativi devono essere conformi a standard internazionali o a materiali di riferimento calibrati, se disponibili, e devono essere espressi nelle unità internazionali usate nell'ambito di applicazione specifico.

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	Standard internazionale dell'OMS per RNA di HCV (o materiali di riferimento calibrati)	La sensibilità NAT e il LOD NAT devono essere convalidati mediante diluizioni seriali dei materiali di riferimento, test su replicati (minimo 24) con diverse concentrazioni dell'analita, comprese quelle con passaggio da risultati positivi a risultati negativi con il rispettivo dispositivo NAT. Il LOD deve essere espresso come valore soglia positivo del 95 % (UI/ml) dopo analisi statistica (ad es. Probit) (1). NAT quantitativi: definizione del limite di quantificazione inferiore e superiore, precisione, accuratezza, intervallo di misurazione «lineare», «intervallo dinamico». Riproducibilità a diversi livelli di concentrazione	Secondo lo stato dell'arte

Sensibilità ai genotipi dell'HCV	Tutti i genotipi/sottotipi pertinenti, preferibilmente da materiali di riferimento internazionali possibili sostituiti di rari genotipi di HCV (da quantificare con metodi appropriati): trascrizioni in vitro; plasmidi	NAT qualitativi: $\geq 10$ campioni/genotipo o sottotipo NAT quantitativi: diluizioni seriali per la dimostrazione dell'efficienza di quantificazione	Secondo lo stato dell'arte
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi che riflettono le condizioni abituali degli utilizzatori (ad es. nessuna preselezione dei campioni)	NAT quantitativi: $\geq 100$ Parallelamente, devono essere generati risultati comparativi con un altro sistema NAT.	Secondo lo stato dell'arte
	Pannelli di sieroconversione	NAT qualitativi: $\geq 10$ pannelli Parallelamente, devono essere generati risultati comparativi con un altro sistema NAT.	Secondo lo stato dell'arte
Specificità diagnostica	Campioni di donatori di sangue	NAT qualitativi: $\geq 500$ NAT quantitativi: $\geq 100$	Secondo lo stato dell'arte
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	$> 10$ campioni positivi per flavivirus umani (ad es. HGV, YFV)	Secondo lo stato dell'arte
Carry-over	Ad alta positività per l'RNA dell'HCV; negativi per l'RNA dell'HCV	Durante gli studi di robustezza devono essere effettuate almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli virali dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli virali elevati che si producono in modo naturale.	Secondo lo stato dell'arte
Rilevazione in base allo status degli anticorpi	Positivi per l'RNA dell'HCV: negativi per anti-HCV, positivi per anti-HCV	Campioni pre-sieroconversione (negativi per anti-HCV) e post-sieroconversione (positivi per anti-HCV)	Secondo lo stato dell'arte
Tasso globale di errore del sistema	A bassa positività per l'RNA dell'HCV	Devono essere testati $\geq 100$ campioni a bassa positività per l'RNA dell'HCV. Questi campioni devono contenere una concentrazione di virus pari a tre volte la concentrazione virale corrispondente al valore soglia positivo del 95 %.	$\geq 99$ % positivi

(<sup>1</sup>) Riferimento: Farmacopea europea 9.0, 2.6.21 Tecniche di amplificazione degli acidi nucleici, Validazione.

**Tabella 6. Requisiti aggiuntivi applicabili ai test autodiagnostici per HCV**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni <sup>(1)</sup>	Numero di utilizzatori profani
Interpretazione dei risultati <sup>(2)</sup>	Interpretazione dei risultati <sup>(3)</sup> da parte di utilizzatori profani secondo la seguente gamma di livelli di reattività: — non reattivi — reattivi — debolmente reattivi <sup>(4)</sup> — non validi	≥ 100
Sensibilità diagnostica	Utilizzatori profani noti come positivi	≥ 200
Specificità diagnostica	Utilizzatori profani che non conoscono il loro status	≥ 400
	Utilizzatori profani a rischio elevato di contrarre l'infezione	≥ 200

<sup>(1)</sup> Per ciascun liquido biologico dichiarato per l'uso con il dispositivo, ad es. sangue intero, urina, saliva, ecc., la sensibilità e la specificità del dispositivo per test autodiagnostici usato da utilizzatori profani devono essere definite sulla base dello stato di infezione confermato del paziente.

<sup>(2)</sup> Lo studio sull'interpretazione dei risultati deve comprendere la lettura e l'interpretazione dei risultati dei test da parte di almeno 100 utilizzatori profani, ciascuno dei quali sarà sottoposto alla lettura di risultati nella gamma specificata di livelli di reattività dei risultati. Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.

<sup>(3)</sup> I test devono essere effettuati prima dello studio sull'interpretazione dei risultati utilizzando, se possibile, il tipo di campione previsto dal fabbricante. I test possono essere effettuati su campioni costruiti artificialmente sulla base della matrice naturale del rispettivo tipo di campione.

<sup>(4)</sup> Una percentuale più elevata di campioni deve rientrare nella gamma a debole positività vicino al valore soglia o al LOD del test.

## SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA VIRUS DELL'EPATITE B (HBV)

## Ambito di applicazione

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus dell'epatite B (HBV).

La tabella 1 si applica ai test di prima linea per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e per gli anticorpi contro l'antigene del core dell'epatite B (anti-HBc) che non sono test rapidi.

La tabella 2 si applica ai test di prima linea per HBsAg e anti-HBc che sono test rapidi.

La tabella 3 si applica ai test di conferma per HBsAg.

La tabella 4 si applica ai test per i marcatori del virus dell'epatite B: anticorpi di superficie dell'epatite B (anti-HBs), anticorpi IgM contro l'antigene del core dell'epatite B (IgM anti-HBc), anticorpi contro l'antigene «e» dell'epatite B (anti-HBe) e antigene «e» dell'epatite B (HBeAg).

La tabella 5 si applica ai dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per l'acido desossiribonucleico (DNA) dell'HBV.

La tabella 6 si applica ai test autodiagnostici per HBV.

Tabella 1. Test di prima linea: HBsAg, anti-HBc

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	<p>≥ 400</p> <p>Anti-HBc: compresa la valutazione di diversi marcatori dell'HBV</p> <p>HBsAg: compresi diversi genotipi/sottotipi/mutanti dell'HBV</p> <p>Anti-HBc o HBsAg: compresi 25 campioni positivi di siero fresco «dello stesso giorno» (≤ 1 giorno dopo il prelievo del campione)</p>	Le prestazioni complessive devono essere almeno equivalenti a quelle del dispositivo di raffronto
	Pannelli di sieroconversione	<p>Test HBsAg: ≥ 30 pannelli</p> <p>Test anti-HBc: da definire se disponibili</p>	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte (ciò vale per anti-HBc se applicabile)
Sensibilità analitica	3° standard internazionale dell'OMS per HBsAg (sottotipi ayw1/adw2, genotipo B4 dell'HBV, codice NIBSC: 12/226)		Per i test HBsAg: < 0,130 UI/ml

Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione) <sup>(1)</sup>	≥ 5 000	≥ 99,5%
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale (ad es. RF +, da infezioni virali affini, da donne in gravidanza)	

<sup>(1)</sup> Le popolazioni di donatori di sangue esaminate devono provenire da almeno due centri trasfusionali e consistere in donazioni di sangue consecutive, non selezionate al fine di escludere donatori alla prima donazione.

**Tabella 2. Test rapidi: HBsAg, anti-HBc**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 400 compresa la valutazione di diversi marcatori dell'HBV compresi diversi genotipi/sottotipi/mutanti dell'HBV	Le prestazioni complessive devono essere almeno equivalenti a quelle del dispositivo di raffronto
	Pannelli di sieroconversione	Test HBsAg: ≥ 30 pannelli Test anti-HBc: da definire se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte (ciò vale per anti-HBc se applicabile)
Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione)	≥ 1 000	Test HBsAg: ≥ 99 % Test anti-HBc: ≥ 99 %
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 200 campioni da donne in gravidanza ≥ 100 altri campioni a possibile reazione crociata in totale (ad es. RF +, da infezioni affini)	

**Tabella 3. Test di conferma: HBsAg**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 300 Compresi campioni da stadi d'infezione diversi Compresi 20 campioni «ad alta positività» (> 26 UI/ml); 20 campioni vicini al valore soglia	Identificazione corretta come positivo (o indeterminato), non come negativo
	Pannelli di sieroconversione	≥ 15 pannelli di sieroconversione/pannelli a basso titolo	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.
Sensibilità analitica	3° standard internazionale dell'OMS per HBsAg, sottotipi ayw1/adw2, genotipo B4 dell'HBV, codice NIBSC: 12/226		
Specificità diagnostica	Campioni negativi	≥ 10 falsi positivi se disponibili dalla valutazione delle prestazioni del test di prima linea	Nessun risultato falso positivo/ nessuna neutralizzazione
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50	

**Tabella 4. Test per i marcatori dell'HBV: anti-HBs, IgM anti-HBc, anti-HBe, HBeAg**

Caratteristica delle prestazioni		Anti-HBs	IgM anti-HBc	Anti-HBe	HBeAg	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 100 soggetti vaccinati ≥ 100 soggetti infettati per via naturale	≥ 200 Compresi campioni da stadi d'infezione diversi (acuti/cronici, ecc.)	≥ 200 Compresi campioni da stadi d'infezione diversi (acuti/cronici, ecc.)	≥ 200 Compresi campioni da stadi d'infezione diversi (acuti/cronici, ecc.)	≥ 98 % (per IgM anti-HBc: applicabile solo a campioni da stadi acuti d'infezione)
	Pannelli di sieroconversione	10 pannelli di sieroconversione anti-HB o serie di follow-up	Se disponibili	Se disponibili	Se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte (ciò vale per IgM anti-HBc, anti-HBe, HBeAg se applicabile)

Sensibilità analitica	Standard	2° standard internazionale dell'OMS per l'immunoglobulina umana contro l'antigene di superficie dell'epatite B (anti-HBs), codice NIBSC: 07/164		1° standard internazionale dell'OMS per gli anticorpi contro l'antigene «e» del virus dell'epatite B (anti-HBe), codice PEI 129095/12	1° standard internazionale dell'OMS per l'antigene «e» del virus dell'epatite B (HBeAg), codice PEI 129097/12 HBe	Anti-HBs: < 10 mUI/ml
Specificità diagnostica	Campioni negativi	≥ 500 Compresi campioni clinici ≥ 50 campioni potenzialmente interferenti	≥ 200 donazioni di sangue ≥ 200 campioni clinici ≥ 50 campioni potenzialmente interferenti	≥ 200 donazioni di sangue ≥ 200 campioni clinici ≥ 50 campioni potenzialmente interferenti	≥ 200 donazioni di sangue ≥ 200 campioni clinici ≥ 50 campioni potenzialmente interferenti	≥ 98 %

**Tabella 5. Dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per il DNA dell'HBV**

1. Per i dispositivi di amplificazione di una sequenza bersaglio, il controllo di funzionalità di ogni campione (controllo interno) deve corrispondere allo stato dell'arte. Se possibile, occorre effettuare tale controllo nel corso dell'intero processo: estrazione, amplificazione/ibridazione, rilevazione.
2. La rilevazione del genotipo e/o del sottotipo deve essere dimostrata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni di genotipi caratterizzati.
3. La potenziale reattività crociata di sequenze di acidi nucleici non bersaglio deve essere analizzata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni selezionati.
4. I risultati dei dispositivi NAT quantitativi devono essere conformi a standard internazionali o a materiali di riferimento calibrati, se disponibili, e devono essere espressi nelle unità internazionali usate nell'ambito di applicazione specifico.

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	Standard internazionale dell'OMS per DNA di HBV (o materiali di riferimento calibrati)	La sensibilità NAT e il LOD NAT devono essere convalidati mediante diluizioni seriali dei materiali di riferimento, test su replicati (minimo 24) con diverse concentrazioni dell'analita, comprese quelle con passaggio da risultati positivi a risultati negativi con il rispettivo dispositivo NAT. Il LOD deve essere espresso come valore soglia positivo del 95 % (UI/ml) dopo analisi statistica (ad es. Probit) (1).  NAT quantitativi: definizione del limite di quantificazione inferiore e superiore, precisione, accuratezza, intervallo di misurazione «lineare», «intervallo dinamico». Riproducibilità a diversi livelli di concentrazione	Secondo lo stato dell'arte

Sensibilità ai genotipi dell'HBV	Panel di riferimento internazionale dell'OMS per DNA di HBV (genotipi HBV) tutti i genotipi/sottotipi pertinenti, preferibilmente da materiali di riferimento internazionali possibili sostituti di rari genotipi di HBV (da quantificare con metodi appropriati): plasmidi; DNA sintetico	NAT qualitativi: almeno 10 campioni/genotipo o sottotipo NAT quantitativi: diluizioni seriali per la dimostrazione dell'efficienza di quantificazione	Secondo lo stato dell'arte
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi che riflettono le condizioni abituali degli utilizzatori (nessuna preselezione dei campioni)	NAT quantitativi: $\geq 100$ Parallelamente, devono essere generati risultati comparativi con un altro sistema NAT.	Secondo lo stato dell'arte
	Pannelli di sieroconversione	NAT qualitativi: $\geq 10$ pannelli Parallelamente, devono essere generati risultati comparativi con un altro sistema NAT.	Secondo lo stato dell'arte
Specificità diagnostica	Campioni di donatori di sangue	NAT qualitativi: $\geq 500$ NAT quantitativi: $\geq 100$	Secondo lo stato dell'arte
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata		Secondo lo stato dell'arte
Carry-over	Ad alta positività per il DNA dell'HBV; negativi per il DNA dell'HBV	Durante gli studi di robustezza devono essere effettuate almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli virali dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli virali elevati che si producono in modo naturale.	Secondo lo stato dell'arte
Rilevazione in base allo status degli anticorpi	Positivi per il DNA dell'HBV; negativi per anti-HBV, positivi per anti-HBV	Campioni pre-sieroconversione (negativi per anti-HBV) e post-sieroconversione (positivi per anti-HBV)	Secondo lo stato dell'arte
Tasso globale di errore del sistema	A bassa positività per il DNA dell'HBV	Devono essere testati $\geq 100$ campioni a bassa positività per il DNA dell'HBV. Questi campioni devono contenere una concentrazione di virus pari a tre volte la concentrazione virale corrispondente al valore soglia positivo del 95 %.	$\geq 99$ % positivi

(<sup>1</sup>) Riferimento: Farmacopea europea 9.0, 2.6.21 Tecniche di amplificazione degli acidi nucleici, Validazione.

**Tabella 6. Requisiti aggiuntivi applicabili ai test autodiagnostici per HBV**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni <sup>(1)</sup>	Numero di utilizzatori profani
Interpretazione dei risultati <sup>(2)</sup>	Interpretazione dei risultati <sup>(3)</sup> da parte di utilizzatori profani secondo la seguente gamma di livelli di reattività: — non reattivi — reattivi — debolmente reattivi <sup>(4)</sup> — non validi	≥ 100
Sensibilità diagnostica	Utilizzatori profani noti come positivi	≥ 200
Specificità diagnostica	Utilizzatori profani che non conoscono il loro status	≥ 400
	Utilizzatori profani a rischio elevato di contrarre l'infezione	≥ 200

<sup>(1)</sup> Per ciascun liquido biologico dichiarato per l'uso con il dispositivo, ad es. sangue intero, urina, saliva, ecc., la sensibilità e la specificità del dispositivo per test autodiagnostici usato da utilizzatori profani devono essere definite sulla base dello stato di infezione confermato del paziente.

<sup>(2)</sup> Lo studio sull'interpretazione dei risultati deve comprendere la lettura e l'interpretazione dei risultati dei test da parte di almeno 100 utilizzatori profani, ciascuno dei quali sarà sottoposto alla lettura di risultati nella gamma specificata di livelli di reattività dei risultati. Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.

<sup>(3)</sup> I test devono essere effettuati prima dello studio sull'interpretazione dei risultati utilizzando, se possibile, il tipo di campione previsto dal fabbricante. I test possono essere effettuati su campioni costruiti artificialmente sulla base della matrice naturale del rispettivo tipo di campione.

<sup>(4)</sup> Una percentuale più elevata di campioni deve rientrare nella gamma a bassa positività vicino al valore soglia o al LOD del test.

## SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA VIRUS DELL'EPATITE D (HDV)

## Ambito di applicazione

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus dell'epatite D (HDV).

La tabella 1 si applica ai dispositivi destinati a rilevare (con conferma) o a quantificare i seguenti marcatori del virus dell'epatite D: anticorpi contro il virus dell'epatite D (anti-HDV), anticorpi IgM contro il virus dell'epatite D (IgM anti-HDV), antigene Delta.

La tabella 2 si applica ai dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per l'RNA dell'HDV.

**Tabella 1. Test per i marcatori dell'HDV: anti-HDV, IgM anti-HDV, antigene Delta**

Caratteristica delle prestazioni		Anti-HDV	IgM anti-HDV	Antigene Delta	Criteria di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 100 Indicazione dei marcatori della coinfezione da HBV	≥ 50 Indicazione dei marcatori della coinfezione da HBV	≥ 10 Indicazione dei marcatori della coinfezione da HBV	≥ 98 %
Specificità diagnostica	Campioni negativi	≥ 200 Compresi campioni clinici ≥ 50 campioni potenzialmente interferenti	≥ 200 Compresi campioni clinici ≥ 50 campioni potenzialmente interferenti	≥ 200 Compresi campioni clinici ≥ 50 campioni potenzialmente interferenti	≥ 98 %

**Tabella 2. Dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per l'RNA dell'HDV**

1. Per i dispositivi di amplificazione di una sequenza bersaglio, il controllo di funzionalità di ogni campione (controllo interno) deve corrispondere allo stato dell'arte. Se possibile, occorre effettuare tale controllo nel corso dell'intero processo: estrazione, amplificazione/ibridazione, rilevazione.
2. La rilevazione del genotipo e/o del sottotipo deve essere dimostrata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni di genotipi caratterizzati.
3. La potenziale reattività crociata di sequenze di acidi nucleici non bersaglio deve essere analizzata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni selezionati.
4. I risultati dei dispositivi NAT quantitativi devono essere conformi a standard internazionali o a materiali di riferimento calibrati, se disponibili, e devono essere espressi nelle unità internazionali usate nell'ambito di applicazione specifico.

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	1° standard internazionale dell'OMS per RNA di HDV (codice PEI 7657/12)	La sensibilità NAT e il LOD NAT devono essere convalidati mediante diluizioni seriali dei materiali di riferimento, test su replicati (minimo 24) con diverse concentrazioni dell'analita, comprese quelle con passaggio da risultati positivi a risultati negativi con il rispettivo dispositivo NAT. Il LOD deve essere espresso come valore soglia positivo del 95 % (UI/ml) dopo analisi statistica (ad es. Probit) <sup>(1)</sup> .  NAT quantitativi: definizione del limite di quantificazione inferiore e superiore, precisione, accuratezza, intervallo di misurazione «lineare», «intervallo dinamico». Riproducibilità a diversi livelli di concentrazione	Secondo lo stato dell'arte
Sensibilità ai genotipi dell'HDV	Tutti i genotipi/sottotipi pertinenti, preferibilmente da materiali di riferimento internazionali possibili sostituiti di rari genotipi di HDV (da quantificare con metodi appropriati): plasmidi; RNA sintetico	NAT quantitativi: diluizioni seriali per la dimostrazione dell'efficienza di quantificazione	Secondo lo stato dell'arte
Specificità diagnostica	Campioni di donatori di sangue	NAT qualitativi: $\geq 100$ NAT quantitativi: $\geq 100$	Secondo lo stato dell'arte
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata		Secondo lo stato dell'arte
Carry-over	Ad alta positività per l'RNA dell'HDV; negativi per l'RNA dell'HDV	Durante gli studi di robustezza devono essere effettuate almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli virali dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli virali elevati che si producono in modo naturale.	Secondo lo stato dell'arte
Tasso globale di errore del sistema	A bassa positività per l'RNA dell'HDV	Devono essere testati $\geq 100$ campioni a bassa positività per l'RNA dell'HDV. Questi campioni devono contenere una concentrazione di virus pari a tre volte la concentrazione virale corrispondente al valore soglia positivo del 95 %.	$\geq 99$ % positivi

<sup>(1)</sup> Riferimento: Farmacopea europea 9.0, 2.6.21 Tecniche di amplificazione degli acidi nucleici, Validazione.

## SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE I MARCATORI DELLA VARIANTE DELLA MALATTIA DI CREUTZFELDT-JACOB (vCJD)

## Ambito di applicazione

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare i marcatori della variante della malattia di Creutzfeldt-Jakob (vCJD).

La tabella 1 si applica ai dispositivi destinati a rilevare i marcatori della vCJD.

Tabella 1. Dispositivi per il rilevamento dei marcatori della vCJD

Caratteristica delle prestazioni	Materiale	Numero di campioni	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	Porzioni di cervello affette da vCJD nel plasma umano (numero di riferimento dell'OMS: NHBYO/0003)	≥ 24 replicati di ciascuna di tre diluizioni del materiale, numero di riferimento dell'OMS: NHBYO/0003 ( $1 \times 10^4$ , $1 \times 10^5$ , $1 \times 10^6$ )	23 dei 24 replicati individuati a $1 \times 10^4$
	Porzioni di milza affette da vCJD nel plasma umano (10 % omogenato di milza — numero di riferimento NIBSC: NHSYO/0009)	≥ 24 replicati di ciascuna di tre diluizioni del materiale, numero di riferimento NIBSC: NHSYO/0009 ( $1 \times 10^1$ , $1 \times 10^2$ , $1 \times 10^3$ )	23 dei 24 replicati individuati a $1 \times 10^1$
Sensibilità diagnostica	Campione da modelli animali appropriati	Tanti campioni quanti sono ragionevolmente possibili e disponibili e ≥ 10 campioni	90%
	Campioni da esseri umani affetti da vCJD clinica conclamata	Tanti campioni quanti sono ragionevolmente possibili e disponibili e ≥ 10 campioni	90%
		Solo nel caso in cui 10 campioni non siano disponibili: — il numero di campioni sottoposti a test deve essere compreso tra 6 e 9 — tutti i campioni disponibili devono essere sottoposti a test	Un risultato falso negativo al massimo
Specificità analitica	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100	
Specificità diagnostica	Campioni di plasma umano normale provenienti da un'area a bassa esposizione all'encefalopatia spongiforme bovina (BSE)	≥ 5 000	≥ 99,5 %

## SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS (CMV)

## Ambito di applicazione

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da citomegalovirus (CMV).

La tabella 1 si applica ai test di prima linea per gli anticorpi totali contro il CMV (anti-CMV totali) e gli anticorpi IgG contro il CMV (IgG anti-CMV).

La tabella 2 si applica ai dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per il DNA del CMV.

Tabella 1. Test di prima linea: anti-CMV totali e IgG anti-CMV

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 400 compresi campioni di infezioni da CMV recenti e pregresse, campioni con titoli positivi bassi ed elevati	≥ 99 % di sensibilità per infezioni pregresse confermabili <sup>(1)</sup> ; la sensibilità complessiva, anche per le infezioni recenti <sup>(2)</sup> , deve essere almeno equivalente a quella del dispositivo di raffronto
	Pannelli di sieroconversione	Da testare se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.
Sensibilità analitica	Standard	Standard internazionale dell'OMS per IgG anti-CMV (codice PEI 136616/17) In caso di determinazioni del titolo e di dichiarazioni quantitative	
Specificità diagnostica	Campioni negativi	≥ 400 <sup>(3)</sup> campioni negativi al CMV da donatori non selezionati rispetto a un altro test per il CMV.	≥ 99 %
	Pazienti ospedalizzati <sup>(4)</sup>	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata <sup>(5)</sup>	≥ 100 in totale (ad es. RF +, virus affini o altri agenti infettivi, donne in gravidanza, ecc.)	

<sup>(1)</sup> Compresi test su altri parametri del CMV (ad es. CMV-IgM, avidità, immunoblot) o campioni precedenti/di follow-up per valutare lo status reale del campione.

<sup>(2)</sup> Test supplementari per confermare un'infezione da CMV recente (infezione primaria o reinfezione): ad es. CMV-IgM, avidità delle IgG, analisi immunoblot.

<sup>(3)</sup> Corrispondente a un numero iniziale di 1000 donatori a una prevalenza presunta del CMV del 60 %.

<sup>(4)</sup> Compresi riceventi prima del trapianto.

<sup>(5)</sup> Compresi virus beta-herpes affini (HHV-6, HHV-7).

**Tabella 2. Dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per il DNA del CMV**

1. Per i dispositivi di amplificazione di una sequenza bersaglio, il controllo di funzionalità di ogni campione (controllo interno) deve corrispondere allo stato dell'arte. Se possibile, occorre effettuare tale controllo nel corso dell'intero processo: estrazione, amplificazione/ibridazione, rilevazione.
2. La rilevazione del genotipo e/o del sottotipo deve essere dimostrata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni di genotipi caratterizzati.
3. La potenziale reattività crociata di sequenze di acidi nucleici non bersaglio deve essere analizzata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni selezionati.
4. I risultati dei dispositivi NAT quantitativi devono essere conformi a standard internazionali o a materiali di riferimento calibrati, se disponibili, e devono essere espressi nelle unità internazionali usate nell'ambito di applicazione specifico.

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	1° standard internazionale dell'OMS per DNA di CMV umano (09/162; 5 000 000 UI/fiala) (o materiali di riferimento calibrati)	La sensibilità NAT e il LOD NAT devono essere convalidati mediante diluizioni seriali dei materiali di riferimento, test su replicati (minimo 24) con diverse concentrazioni dell'analita, comprese quelle con passaggio da risultati positivi a risultati negativi con il rispettivo dispositivo NAT. Il LOD deve essere espresso come valore soglia positivo del 95 % (UI/ml) dopo analisi statistica (ad es. Probit <sup>(1)</sup> ).  NAT quantitativi: definizione del limite di quantificazione inferiore e superiore, precisione, accuratezza, intervallo di misurazione «lineare», «intervallo dinamico». Riproducibilità a diversi livelli di concentrazione	Secondo lo stato dell'arte
Sensibilità diagnostica Sensibilità al ceppo di CMV	Campioni di pazienti determinati come positivi per il DNA del CMV dal dispositivo di raffronto Diluizioni seriali di colture cellulari positive per il CMV possono servire come potenziali sostituti	NAT qualitativi: ≥ 100 NAT quantitativi: ≥ 100 diluizioni seriali per la dimostrazione dell'efficienza di quantificazione	Secondo lo stato dell'arte
Specificità diagnostica	Campioni di donatori di sangue	NAT qualitativi: ≥ 500 NAT quantitativi: ≥ 100	Secondo lo stato dell'arte

Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	<p>≥ 20 campioni in totale</p> <p>Compresi campioni umani positivi per gli herpesvirus umani affini, ad es. EBV, HHV6, VZV</p> <p>Colture cellulari positive per gli herpesvirus possono servire come potenziali sostituti</p>	Secondo lo stato dell'arte
Carry-over	Ad alta positività per il DNA del CMV; negativi per il DNA del CMV	Durante gli studi di robustezza devono essere effettuate almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli virali dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli virali elevati che si producono in modo naturale.	Secondo lo stato dell'arte
Tasso globale di errore del sistema	A bassa positività per il DNA del CMV	Devono essere testati ≥ 100 campioni a bassa positività per il DNA del CMV. Questi campioni devono contenere una concentrazione di virus pari a tre volte la concentrazione virale corrispondente al valore soglia positivo del 95 %.	≥ 99 % positivi

(<sup>1</sup>) Riferimento: Farmacopea europea 9.0, 2.6.21 Tecniche di amplificazione degli acidi nucleici, Validazione.

**SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA VIRUS DI EPSTEIN-BARR (EBV)**

**Ambito di applicazione**

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da virus di Epstein-Barr (EBV).

La tabella 1 si applica ai test di prima linea per gli anticorpi IgG contro l'antigene capsidico virale dell'EBV (IgG anti-EBV VCA).

La tabella 2 si applica ai dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per il DNA dell'EBV.

**Tabella 1. Test di prima linea: IgG anti-EBV VCA**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 400 compresi campioni di infezioni da EBV recenti e pregresse, campioni con titoli positivi bassi ed elevati	≥ 99 % per infezioni pregresse confermabili <sup>(1)</sup> ; la sensibilità complessiva, anche per le infezioni recenti <sup>(2)</sup> , deve essere almeno equivalente a quella del dispositivo di raffronto
	Pannelli di sieroconversione	Da testare se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.
Sensibilità analitica	Standard	Reagenti di riferimento internazionali, se disponibili	
Specificità diagnostica	Campioni negativi	≥ 200 <sup>(3)</sup> campioni negativi per l'EBV da donatori non selezionati rispetto a un altro dispositivo per l'EBV	≥ 99 %
	Pazienti ospedalizzati <sup>(4)</sup>	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale (ad es. RF +, virus affini o altri agenti infettivi, donne in gravidanza, ecc.)	

<sup>(1)</sup> Compresi test su altri marcatori e parametri dell'EBV (ad es. VCA-IgM, EBNA-1 IgG, immunoblot) o campioni precedenti/di follow-up per valutare lo status reale del campione.

<sup>(2)</sup> Test supplementari per confermare un'infezione da EBV recente: ad es. VCA-IgM, avidità delle IgG, analisi immunoblot.

<sup>(3)</sup> A una prevalenza presunta dell'EBV dell'80 % corrispondente a un numero iniziale di 1000 donatori.

<sup>(4)</sup> Compresi riceventi prima del trapianto.

**Tabella 2. Dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per il DNA dell'EBV**

1. Per i dispositivi di amplificazione di una sequenza bersaglio, il controllo di funzionalità di ogni campione (controllo interno) deve corrispondere allo stato dell'arte. Se possibile, occorre effettuare tale controllo nel corso dell'intero processo: estrazione, amplificazione/ibridazione, rilevazione.
2. La rilevazione del genotipo e/o del sottotipo deve essere dimostrata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni di genotipi caratterizzati.
3. La potenziale reattività crociata di sequenze di acidi nucleici non bersaglio deve essere analizzata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni selezionati.
4. I risultati dei dispositivi NAT quantitativi devono essere conformi a standard internazionali o a materiali di riferimento calibrati, se disponibili, e devono essere espressi nelle unità internazionali usate nell'ambito di applicazione specifico.

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	1° standard internazionale dell'OMS per DNA di EBV umano (09/260; 5 000 000 UI/fiala) (o materiali di riferimento calibrati)	La sensibilità NAT e il LOD NAT devono essere convalidati mediante diluizioni seriali dei materiali di riferimento, test su replicati (minimo 24) con diverse concentrazioni dell'analita, comprese quelle con passaggio da risultati positivi a risultati negativi con il rispettivo dispositivo NAT. Il LOD deve essere espresso come valore soglia positivo del 95 % (UI/ml) dopo analisi statistica (ad es. Probit) <sup>(1)</sup> .  NAT quantitativi: definizione del limite di quantificazione inferiore e superiore, precisione, accuratezza, intervallo di misurazione «lineare», «intervallo dinamico». Riproducibilità a diversi livelli di concentrazione	Secondo lo stato dell'arte
Sensibilità diagnostica Sensibilità al ceppo di EBV	Campioni di pazienti determinati come positivi per il DNA dell'EBV dal dispositivo di raffronto Diluizioni seriali di colture cellulari positive per l'EBV possono servire come potenziali sostituti	NAT qualitativi: $\geq 100$ NAT quantitativi: $\geq 100$ diluizioni seriali per la dimostrazione dell'efficienza di quantificazione	
Specificità diagnostica	Campioni negativi	NAT qualitativi: $\geq 500$ NAT quantitativi: $\geq 100$	Secondo lo stato dell'arte
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	$\geq 20$ campioni in totale Compresi campioni umani positivi per gli herpesvirus umani affini, ad es. CMV, HHV6, VZV Colture cellulari positive per gli herpesvirus possono servire come potenziali sostituti	Secondo lo stato dell'arte

Carry-over	Ad alta positività per il DNA dell'EBV; negativi per il DNA dell'EBV	Durante gli studi di robustezza devono essere effettuate almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli virali dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli virali elevati che si producono in modo naturale.	Secondo lo stato dell'arte
Tasso globale di errore del sistema	A bassa positività per il DNA dell'EBV	Devono essere testati $\geq 100$ campioni a bassa positività per il DNA dell'EBV. Questi campioni devono contenere una concentrazione di virus pari a tre volte la concentrazione virale corrispondente al valore soglia positivo del 95 %.	$\geq 99$ % positivi

(<sup>1</sup>) Riferimento: Farmacopea europea 9.0, 2.6.21 Tecniche di amplificazione degli acidi nucleici, Validazione.

SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA *TREPONEMA PALLIDUM*

## Ambito di applicazione

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare i marcatori del *Treponema pallidum* (*T. pallidum*).

La tabella 1 si applica ai test di prima linea per gli anticorpi contro il *T. pallidum* (anti-*T.pallidum*).

La tabella 2 si applica ai test di conferma e ai test supplementari per anti-*T.pallidum*.

Tabella 1. Test di prima linea: anti-*T.pallidum*

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 200 campioni positivi in totale, a diversi stadi d'infezione, se disponibili, compresi campioni ad alta e bassa positività, individuati come positivi da almeno due test sierologici differenti (di cui un saggio immunoenzimatico) per diversi anticorpi del <i>T.pallidum</i>	≥ 99,5 % di sensibilità complessiva
	Pannelli di sieroconversione	Almeno 1 pannello di sieroconversione, ≥ 1 se possibile, compresi singoli campioni da stadi precoci dell'infezione	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.
Sensibilità analitica	Standard	Standard internazionali dell'OMS codice NIBSC 05/132, se disponibili	
Specificità diagnostica	Donatori di sangue non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione) <sup>(1)</sup>	≥ 5 000	≥ 99,5 %
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale compresi i seguenti campioni: positivi per <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> confermati con immunoblot per IgG; positivi per anti-HIV; RF+; altri agenti microbici/infettivi correlati; pazienti con lupus eritematoso sistemico (LES); positivi per gli anticorpi anti-fosfolipidi; donne in gravidanza, ecc.	

<sup>(1)</sup> Le popolazioni di donatori di sangue esaminate devono provenire da almeno due centri trasfusionali e consistere in donazioni di sangue consecutive, non selezionate al fine di escludere donatori alla prima donazione.

**Tabella 2. Test di conferma e test supplementari: anti-*T.pallidum***

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 300 campioni positivi a diversi stadi d'infezione (sifilide primaria precoce, sifilide secondaria e sifilide tardiva), compresi campioni ad alta positività, 50 campioni a bassa positività, individuati da almeno due test sierologici differenti (di cui un saggio immunoenzimatico) per diversi anticorpi del <i>T.pallidum</i>	99 % di identificazione come «positivo confermato» o «indeterminato»
	Pannelli di sieroconversione	Almeno 1 pannello di sieroconversione, ≥ 1 se possibile, compresi singoli campioni da stadi precoci dell'infezione	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.
Sensibilità analitica	Standard	Standard internazionali dell'OMS Codice NIBSC 05/132	
Specificità diagnostica	Donatori di sangue	≥ 200	≥ 99 %;
	Campioni clinici	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50 in totale, compresi campioni da donne in gravidanza e campioni con risultati indeterminati in altri test di conferma	

SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA *TRYPANOSOMA CRUZI*

## Ambito di applicazione

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*).

La tabella 1 si applica ai test di prima linea per gli anticorpi contro il *T. cruzi* (anti-*T. cruzi*).

La tabella 2 si applica ai test di conferma e ai test supplementari per anti-*T. cruzi*.

La tabella 3 si applica ai dispositivi NAT qualitativi e quantitativi per il DNA del *T. cruzi*.

Tabella 1. Test di prima linea: anti-*T. cruzi*

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 400 campioni positivi, compresi campioni ad alta positività confermati da almeno due test sierologici differenti per diversi anticorpi del <i>T. cruzi</i> . Di questi 400, ≥ 25 campioni positivi per il parassita, confermati per rilevazione diretta.	99,5 % di sensibilità complessiva
	Pannelli di sieroconversione	Da definire se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte.
Sensibilità analitica	Standard	Standard internazionali dell'OMS Codice NIBSC: 09/186 Codice NIBSC: 09/188	
Specificità diagnostica	Donatori non selezionati (compresi i donatori alla prima donazione) <sup>(1)</sup>	≥ 5 000	≥ 99,5 %
	Pazienti ospedalizzati	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale compresi i seguenti campioni: positivi per anti- <i>Toxoplasma gondii</i> ; almeno 5 campioni positivi per anti- <i>Leishmania</i> ; RF+; agenti microbici correlati o altri agenti infettivi; pazienti con LES; pazienti positivi per gli anticorpi anti-fosfolipidi; donne in gravidanza, ecc.	

<sup>(1)</sup> Le popolazioni di donatori di sangue esaminate devono provenire da almeno due centri trasfusionali e consistere in donazioni di sangue consecutive, non selezionate al fine di escludere donatori alla prima donazione.

**Tabella 2. Test di conferma e test supplementari: anti-*T. cruzi***

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 300 campioni positivi, compresi campioni ad alta positività confermati da almeno due test sierologici differenti per diversi anticorpi del <i>T. cruzi</i> . Di questi 300, ≥ 25 campioni positivi per il parassita, confermati per rilevazione diretta.	≥ 99 % di identificazione come «positivo confermato» o «indeterminato»
	Pannelli di sieroconversione	Se disponibili	La sensibilità diagnostica durante la sieroconversione deve corrispondere allo stato dell'arte, se applicabile
Sensibilità analitica	Standard	Standard internazionali dell'OMS Codice NIBSC: 09/186 Codice NIBSC: 09/188	
Specificità diagnostica	Campioni negativi	≥ 200	≥ 99 %
	Campioni clinici	≥ 200	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50 in totale, compresi campioni da donne in gravidanza e campioni con risultati indeterminati in altri test di conferma	

**Tabella 3: Dispositivi NAT per il DNA del *T. cruzi***

1. Per i dispositivi di amplificazione di una sequenza bersaglio, il controllo di funzionalità di ogni campione (controllo interno) deve corrispondere allo stato dell'arte. Se possibile, occorre effettuare tale controllo nel corso dell'intero processo: estrazione, amplificazione/ibridazione, rilevazione.
2. La rilevazione del genotipo e/o del sottotipo deve essere dimostrata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni di genotipi caratterizzati.
3. La potenziale reattività crociata di sequenze di acidi nucleici non bersaglio deve essere analizzata con un'adeguata convalida del disegno del primer o della sonda e convalidata mediante test effettuati su campioni selezionati.
4. I risultati dei dispositivi NAT quantitativi devono essere conformi a standard internazionali o a materiali di riferimento calibrati, se disponibili, e devono essere espressi nelle unità internazionali usate nell'ambito di applicazione specifico.

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità analitica	Preparazione di riferimento caratterizzata messa a punto internamente (se non sono disponibili materiali di riferimento internazionali)	La sensibilità NAT e il LOD NAT devono essere convalidati mediante diluizioni seriali dei materiali di riferimento, test su replicati (minimo 24) con diverse concentrazioni dell'analita, comprese quelle con passaggio da risultati positivi a risultati negativi con il rispettivo dispositivo NAT. Il LOD deve essere espresso come valore soglia positivo del 95 % (UI/ml) dopo analisi statistica (ad es. Probit) <sup>(1)</sup> .	Secondo lo stato dell'arte
Sensibilità diagnostica: ceppi/isolati di <i>T.cruzi</i> diversi	Campioni di pazienti da diverse regioni, determinati come positivi per il DNA del <i>T.cruzi</i> dal dispositivo di raffronto; varianti di sequenze	≥ 100 Diluizioni seriali di colture cellulari (isolati) positive per il <i>T.cruzi</i> o materiali positivi per il <i>T.cruzi</i> da modelli animali possono servire come potenziali sostituti	Secondo lo stato dell'arte
Specificità diagnostica	Campioni negativi	≥ 100	Secondo lo stato dell'arte
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 10 campioni umani positivi per altri parassiti, ad es. specie di <i>Plasmodium</i> , <i>Trypanosoma brucei</i> . Colture cellulari positive possono servire come potenziali sostituti	Secondo lo stato dell'arte
Carry-over		Durante gli studi di robustezza devono essere effettuate almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli di <i>T.cruzi</i> dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli elevati di <i>T.cruzi</i> che si producono in modo naturale.	Secondo lo stato dell'arte
Tasso globale di errore del sistema		Devono essere testati ≥ 100 campioni a bassa positività per il DNA del <i>T.cruzi</i> . Questi campioni devono contenere una concentrazione di <i>T.cruzi</i> pari a tre volte la concentrazione di <i>T.cruzi</i> corrispondente al valore soglia positivo del 95 %.	≥ 99 % positivi

<sup>(1)</sup> Le popolazioni di donatori di sangue esaminate devono provenire da almeno due centri trasfusionali e consistere in donazioni di sangue consecutive, non selezionate al fine di escludere donatori alla prima donazione.

**SPECIFICHE COMUNI PER I DISPOSITIVI DESTINATI A RILEVARE O QUANTIFICARE I MARCATORI DELL'INFEZIONE DA CORONAVIRUS DELLA SINDROME RESPIRATORIA ACUTA GRAVE 2**

**Ambito di applicazione**

Il presente allegato si applica ai dispositivi destinati a rilevare o quantificare i marcatori dell'infezione da coronavirus della sindrome respiratoria acuta grave 2 (SARS-CoV-2).

La tabella 1 si applica ai seguenti test di prima linea (compresi i test rapidi) per gli anticorpi contro il SARS-CoV-2 (anti-SARS-CoV-2): anticorpi totali, solo IgG, IgG combinate con IgM e/o IgA.

La tabella 2 si applica ai test di prima linea (compresi i test rapidi) per la rilevazione delle IgM e/o IgA anti-SARS-CoV-2.

La tabella 3 si applica ai test di conferma e ai test supplementari per anti-SARS-CoV-2.

La tabella 4 si applica ai test antigenici per SARS-CoV-2, compresi i test antigenici rapidi.

La tabella 5 si applica ai test NAT per l'RNA del SARS-CoV-2.

La tabella 6 si applica ai test autodiagnostici antigenici per il SARS-CoV-2 che sono già stati sottoposti a una valutazione delle prestazioni per uso professionale.

La tabella 7 si applica ai test autodiagnostici anticorpali per il SARS-CoV-2 che sono già stati sottoposti a una valutazione delle prestazioni per uso professionale.

**Tabella 1. Test di prima linea (compresi i test rapidi) per anti-SARS-CoV-2: anticorpi totali, solo IgG, IgG combinate <sup>(1)</sup> con IgM e/o IgA**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	<p>≥ 400 compresi campioni di infezione precoce e post-sieroconversione <sup>(2)</sup> (primi 21 giorni dall'insorgenza dei sintomi e dopo 21 giorni dall'insorgenza dei sintomi); compresi campioni da soggetti asintomatici o subclinici e leggermente sintomatici (trattamento ambulatoriale); compresi campioni con titoli bassi ed elevati; compresi, se del caso, campioni da soggetti vaccinati <sup>(3)</sup>; considerazione delle varianti genetiche</p>	<p>≥ 90% di sensibilità <sup>(4)</sup> per i campioni raccolti &gt; 21 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi <sup>(5)</sup>; la sensibilità complessiva, anche per gli stadi precoci dell'infezione, deve essere almeno equivalente a quella del dispositivo di raffronto <sup>(6)</sup></p>
	Pannelli di sieroconversione	Se disponibili	Sensibilità alla sieroconversione comparabile a quella di altri dispositivi recanti la marcatura CE

Sensibilità analitica	Preparazioni di riferimento	Standard internazionale (IS) dell'OMS per anti-SARS-CoV-2 (codice NIBSC 20/136) Panel di riferimento (RP) internazionale dell'OMS per gli anticorpi anti-SARS-CoV-2 (codici NIBSC 20/140, 20/142, 20/144, 20/148, 20/150)	IS: per determinazioni dei titoli/risultati quantitativi (7); RP: tutti i test anticorpali
Specificità diagnostica	Campioni negativi (8)	≥ 400 campioni da soggetti non infetti e non vaccinati (9)	> 99 % di specificità (10)
		≥ 200 pazienti ospedalizzati (senza infezione da SARS-CoV-2)	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale compresi RF+, da donne in gravidanza, campioni con anticorpi contro i coronavirus umani endemici 229E, OC43, NL63, HKU1 e altri agenti patogeni di malattie respiratorie quali l'influenza da virus A o B, l'infezione da RSV ecc.	

(1) Dichiarazione delle prestazioni per il risultato complessivo combinato; per i dispositivi con dichiarazioni distinte per IgM e/o IgA, cfr. tabella 2.

(2) Deve essere indicato l'intervallo di tempo tra la raccolta dei campioni e l'insorgenza dei sintomi (o il momento dell'infezione, se disponibile).

(3) Il fabbricante deve fornire una giustificazione dell'idoneità e della tempistica per quanto riguarda la valutazione della sensibilità degli anticorpi pertinenti in soggetti vaccinati.

(4) Sulla base del risultato NAT confermato positivo per il SARS-CoV-2.

(5) Le dichiarazioni relative alla sensibilità devono essere specificate in relazione all'intervallo di tempo tra la raccolta dei campioni dopo l'insorgenza dei sintomi o la diagnosi iniziale mediante PCR e il test.

(6) Recante la marcatura CE a norma del regolamento (UE) 2017/746 come classe D, se disponibile.

(7) Ciò vale per i test quantitativi se sono anche test di prima linea.

(8) I campioni negativi devono provenire da soggetti che non hanno precedenti di infezione da SARS-CoV-2 (se disponibili, campioni pre-pandemia).

(9) Se del caso, possono essere inclusi soggetti vaccinati contro un antigene diverso da quello utilizzato nel dispositivo.

(10) I risultati falsi positivi devono essere chiariti effettuando altri test sierologici per il SARS-CoV-2, se necessario con differente progettazione del test e rivestimento dell'antigene differente rispetto al test iniziale, e/o effettuando test di conferma.

**Tabella 2. Test di prima linea (compresi i test rapidi) per anti-SARS-CoV-2: rilevazione di IgM e/o IgA**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 200 (1) Campioni (2) principalmente da stadi precoci dell'infezione (primi 21 giorni dall'insorgenza dei sintomi) rispetto a campioni post-sieroconversione (> 21 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi); compresi campioni da soggetti asintomatici, subclinici e leggermente sintomatici (trattamento ambulatoriale); compresi, se del caso, soggetti vaccinati di recente (3); considerazione delle varianti genetiche	≥ 80 % di sensibilità (4) per i campioni raccolti nei primi 21 giorni dall'insorgenza dei sintomi (5); la sensibilità complessiva deve essere almeno equivalente a quella del dispositivo di raffronto (6) dello stesso tipo (ad es. IgM e/o IgA)

Pannelli di sieroconversione	Se disponibili	Sensibilità alla sieroconversione comparabile a quella di altri dispositivi recanti la marcatura CE	
Sensibilità analitica	Standard	N/A	N/A
Specificità diagnostica	Campioni negativi <sup>(7)</sup>	≥ 200 campioni da soggetti non infetti e non vaccinati <sup>(8)</sup>	≥ 98 % di specificità <sup>(9)</sup>
		≥ 100 da pazienti ospedalizzati (senza infezione da SARS-CoV-2)	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 100 in totale compresi RF+, da donne in gravidanza, campioni con anticorpi contro i coronavirus umani endemici 229E, OC43, NL63, HKU1 e altri agenti patogeni di malattie respiratorie quali l'influenza da virus A o B, l'infezione da RSV ecc.	

<sup>(1)</sup> Nel caso di dispositivi che rilevano sia IgM che IgA, 200 per marcatore IgM e IgA.

<sup>(2)</sup> Deve essere indicato l'intervallo di tempo tra la raccolta dei campioni e l'insorgenza dei sintomi (o il momento dell'infezione, se disponibile).

<sup>(3)</sup> Il fabbricante deve fornire una giustificazione dell'idoneità e della tempistica per quanto riguarda la valutazione della sensibilità delle IgM e delle IgA in soggetti vaccinati.

<sup>(4)</sup> Diagnosi sulla base del risultato NAT confermato positivo per il SARS-CoV-2.

<sup>(5)</sup> Le dichiarazioni relative alla sensibilità devono essere specificate in relazione all'intervallo di tempo tra la raccolta dei campioni dopo l'insorgenza dei sintomi o la diagnosi iniziale mediante PCR e il test.

<sup>(6)</sup> Recante la marcatura CE a norma del regolamento (UE) 2017/746 come classe D, se disponibile.

<sup>(7)</sup> I campioni negativi devono provenire da soggetti che non hanno precedenti di infezione da SARS-CoV-2 (se disponibili, campioni pre-pandemia).

<sup>(8)</sup> Se del caso, possono essere inclusi soggetti vaccinati contro un antigene diverso da quello utilizzato nel dispositivo.

<sup>(9)</sup> I risultati falsi positivi devono essere chiariti effettuando altri test sierologici per il SARS-CoV-2, se necessario con differente progettazione del test e rivestimento dell'antigene differente rispetto al test iniziale, e/o effettuando test di conferma. Per chiarire i risultati falsi positivi possono inoltre essere effettuati test per rilevare la presenza di altri tipi di anticorpi anti-SARS-CoV-2 (IgA, IgG, anticorpi totali).

**Tabella 3. Test di conferma o test supplementari <sup>(1)</sup> per anti-SARS-CoV-2**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥200 compresi campioni pre-sieroconversione e post-sieroconversione (primi 21 giorni dall'insorgenza dei sintomi e dopo 21 giorni dall'insorgenza dei sintomi)	Determinazione corretta come «positivo» (o «indeterminato»)
	Pannelli di sieroconversione/ pannelli a basso titolo	Se disponibili	

Sensibilità analitica	Standard	N/A	N/A
Specificità diagnostica	Campioni negativi <sup>(?)</sup>	≥ 200 da popolazione non infetta / non vaccinata	Nessun risultato falso positivo; Determinazione corretta come «negativo» (o «indeterminato»)
		≥ 200 da pazienti ospedalizzati (senza infezione da SARS-CoV-2)	
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50 in totale compresi campioni con anticorpi contro i coronavirus umani endemici 229E, OC43, NL63, HKU1 e altri agenti patogeni di malattie respiratorie quali l'influenza da virus A o B, l'infezione da RSV ecc.; compresi campioni con risultati indeterminati o falsi positivi in altri test per anti-SARS-CoV-2	

<sup>(1)</sup> Ad es. immunoblot con antigeni diversi da quelli utilizzati nel test anticorpale iniziale.

<sup>(?)</sup> I campioni negativi devono provenire da soggetti che non hanno precedenti di infezione da SARS-CoV-2 (se disponibili, campioni pre-pandemia).

**Tabella 4. Test antigenici (compresi i test rapidi): SARS-CoV-2**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Numero di campioni, caratteristiche, uso	Criteri di accettazione
Sensibilità diagnostica	Campioni positivi	≥ 100 <sup>(1)</sup> campioni NAT positivi <sup>(?)</sup> da infezioni precoci nei primi 7 giorni dall'insorgenza dei sintomi <sup>(?)</sup> ; i campioni devono essere rappresentativi di cariche virali che si producono in modo naturale <sup>(4)</sup> ; considerazione delle varianti genetiche <sup>(?)</sup> ; considerazione delle variazioni nella raccolta e/o nella manipolazione dei campioni <sup>(6)</sup>	> 80 % di rilevazione (test rapidi); > 85 % di rilevazione (test di laboratorio <sup>(7)</sup> ); rispetto al NAT per SARS-CoV-2 <sup>(8)</sup> , <sup>(9)</sup>
Sensibilità analitica	Standard	Non appena disponibili	Definizione di un LOD <sup>(10)</sup>
Specificità diagnostica	Campioni negativi	≥ 300 da soggetti non infetti	> 98 % di specificità (test rapidi) > 99 % di specificità (test di laboratorio <sup>(7)</sup> );
		≥ 100 da pazienti ospedalizzati	Se esistono potenziali limitazioni in termini di specificità, queste devono essere individuate
Reattività crociata	Campioni a possibile reazione crociata	≥ 50 in totale compresi campioni positivi per i coronavirus umani endemici 229E, OC43, NL63, HKU1; influenza da virus A o B, infezione da RSV e altri agenti patogeni di malattie respiratorie, che possono essere oggetto di diagnosi differenziale; compresi i batteri <sup>(11)</sup> presenti nell'area di raccolta del campione	

- (<sup>1</sup>) Se il dispositivo è destinato ad essere utilizzato per più di un tipo di campione, sono richiesti 100 campioni per ciascun tipo. Se ciò non è possibile in circostanze eccezionali (ad es. se il metodo di raccolta dei campioni è molto invasivo), il fabbricante deve fornire una giustificazione e prove dell'equivalenza della matrice.
- (<sup>2</sup>) Per i test antigenici e i test NAT la raccolta dei campioni deve essere accoppiata, ad es. due campioni simultanei da ogni soggetto o, idealmente, test antigenico e test NAT dello stesso campione (ad es. a partire dall'eluato di un tampone); il buffer/mezzo di trasporto virale deve essere compatibile con i test antigenici; qualsiasi variazione nel volume del buffer/mezzo per la raccolta del campione tra il dispositivo antigenico e il dispositivo NAT deve essere chiaramente comunicata.
- (<sup>3</sup>) O dal momento dell'infezione, se noto, tenendo conto del tempo di incubazione.
- (<sup>4</sup>) Vale a dire, senza preselezione; le cariche virali e la loro distribuzione devono essere indicate, ad es. caratterizzate dai valori Ct della RT-PCR; oppure trasformate in carica virale per ml di campione, se applicabile.
- (<sup>5</sup>) In funzione della progettazione del dispositivo e della natura della variante genetica. Ai fini della valutazione, ogni variante genetica pertinente deve essere rappresentata da almeno 3 campioni.
- (<sup>6</sup>) Nella valutazione si deve tenere conto degli elementi per la raccolta e l'estrazione dei campioni, quali tamponi, buffer di estrazione, ecc. Se nel dispositivo non è incluso il necessario per la raccolta/preparazione del campione del produttore, le prestazioni del dispositivo devono essere esaminate per una gamma appropriata di dispositivi per la raccolta di campioni. Se il campione non viene analizzato immediatamente, ad es. dopo un determinato periodo di tempo di trasporto, occorre esaminare la stabilità dell'antigene.
- (<sup>7</sup>) Diversi dai test rapidi, vale a dire dispositivi formali di laboratorio quali, ad esempio, saggi immunoenzimatici, test automatizzati, ecc.
- (<sup>8</sup>) La sensibilità rispettivamente di  $\geq 80\%$  e  $\geq 85\%$  si applica a tutti i tipi di campione dichiarati. Tutti i tipi di campioni dichiarati devono essere confrontati con risultati NAT combinati ottenuti da campioni nasofaringei.
- (<sup>9</sup>) Deve essere dimostrata la relazione tra la sensibilità del test antigenico e quella del NAT; la sensibilità può essere dimostrata in relazione a diversi intervalli di carica virale e alla soglia di infettività. Devono essere descritti il metodo NAT e il metodo di estrazione utilizzati.
- (<sup>10</sup>) Tranne qualora sia disponibile uno standard internazionale, la sensibilità analitica può essere verificata mediante diluizioni seriali di preparazioni virali messe a punto internamente, in comparazione con altri test antigenici e NAT; se il virus utilizzato è inattivato, occorre esaminare l'effetto dell'inattivazione e del congelamento/scongelamento sull'antigene.
- (<sup>11</sup>) Ad es. stafilococchi e streptococchi che esprimono la proteina A o G.

**Tabella 5. Dispositivi NAT per l'RNA del SARS-CoV-2**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni	Qualitativi per l'RNA del SARS-CoV-2	Quantitativi per l'RNA del SARS-CoV-2
<b>Sensibilità</b>			
Sensibilità analitica: LOD	1° standard internazionale dell'OMS per RNA di SARS-CoV-2 (codice NIBSC 20/146; 7,70 log <sub>10</sub> UI/mL) Standard secondari calibrati secondo lo standard internazionale dell'OMS	Secondo gli orientamenti di validazione NAT della Farmacopea europea: varie diluizioni seriali fino alla concentrazione limite; analisi statistica (ad es. analisi Probit) sulla base di almeno 24 replicati; calcolo del valore soglia del 95 %	Secondo gli orientamenti di validazione NAT della Farmacopea europea: varie diluizioni seriali di preparazioni di riferimento calibrate fino alla concentrazione limite; analisi statistica (ad es. analisi Probit) sulla base di almeno 24 replicati; calcolo del valore soglia del 95 % come LOD
Limite di quantificazione; caratteristiche di quantificazione	1° standard internazionale dell'OMS per RNA di SARS-CoV-2 (codice NIBSC 20/146; 7,70 log <sub>10</sub> UI/mL) Standard secondari calibrati secondo lo standard internazionale dell'OMS		Diluizioni (semi-log <sub>10</sub> o inferiore) di preparazioni di riferimento calibrate; determinazione del limite di quantificazione inferiore e superiore, LOD, precisione, accuratezza, intervallo di misurazione «lineare», «intervallo dinamico». Può essere utilizzato un acido nucleico bersaglio sintetico come standard secondario per ottenere livelli di concentrazione più elevati. Deve essere dimostrata la riproducibilità a diversi livelli di concentrazione

Sensibilità diagnostica: ceppi distinti di RNA del SARS-CoV-2	Campioni di pazienti da regioni e cluster di infezione differenti, determinati come positivi per l'RNA del SARS-CoV-2 dal dispositivo di raffronto; varianti di sequenze Diluizioni seriali di colture cellulari (isolati) positive per il SARS-CoV-2 possono servire come potenziali sostituti	≥ 100 <sup>(1)</sup>	
Efficienza di quantificazione	Campioni di pazienti positivi per l'RNA del SARS-CoV-2, da regioni e cluster di infezione differenti; varianti di sequenze con valori quantitativi ottenuti dal dispositivo di raffronto Diluizioni seriali di colture cellulari positive per l'RNA del SARS-CoV-2 possono servire come potenziali sostituti		≥ 100
Inclusività	Analisi <i>in silico</i> <sup>(2)</sup> ; almeno due regioni genetiche bersaglio indipendenti in una stessa corsa (progettazione a doppio bersaglio)	Evidenza di un'adeguata progettazione del dispositivo: allineamento delle sequenze di primer/sonde alle sequenze di SARS-CoV-2 pubblicate	Evidenza di un'adeguata progettazione del dispositivo: allineamento delle sequenze di primer/sonde alle sequenze di SARS-CoV-2 pubblicate

### Specificità

Specificità diagnostica	Campioni umani negativi per l'RNA del SARS-CoV-2	≥ 500	≥ 100
Analisi <i>in silico</i> <sup>(2)</sup>		Evidenza di un'adeguata progettazione del dispositivo (allineamento delle sequenze); verifica periodica delle sequenze di primer/sonde rispetto alle voci delle banche dati di sequenze	Evidenza di un'adeguata progettazione del dispositivo (allineamento delle sequenze); verifica periodica delle sequenze di primer/sonde rispetto alle voci delle banche dati di sequenze
Reattività crociata	Campioni positivi (varie concentrazioni) per i coronavirus umani affini 229E, HKU1, OC43, NL63, coronavirus MERS; SARS-CoV-1 se disponibili; virus dell'influenza A e B; RSV; <i>Legionella pneumophila</i> ; colture cellulari positive possono servire come potenziali sostituti	≥ 20 in totale	≥ 20 in totale

### Robustezza

Carry-over		Almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività e campioni negativi. I titoli virali dei campioni ad alta positività devono essere rappresentativi dei titoli virali elevati che si producono in modo naturale.	Almeno cinque corse alternando campioni ad alta positività (prodotti in modo naturale) e campioni negativi
------------	--	--	--

Inibizione		Controllo interno preferibilmente per l'intera procedura NAT	Controllo interno preferibilmente per l'intera procedura NAT
Tasso globale di errore del sistema che conduce a risultati falsi negativi: 99 % di test positivi		≥ 100 campioni arricchiti con virus a una concentrazione pari a tre volte il valore soglia positivo del 95 % (3 x LOD)	≥ 100 campioni arricchiti con virus a una concentrazione pari a tre volte il valore soglia positivo del 95 % (3 x LOD)

(<sup>1</sup>) Se il dispositivo è destinato ad essere utilizzato per più di un tipo di campione, sono richiesti 100 campioni per ciascun tipo. Se ciò non è possibile in circostanze eccezionali (ad es. se il metodo di raccolta dei campioni è molto invasivo), il fabbricante deve fornire una giustificazione e prove dell'equivalenza della matrice.

(<sup>2</sup>) Nel rapporto di follow-up delle prestazioni post-commercializzazione il fabbricante deve fornire le prove di verifiche periodiche e proattive di sorveglianza rispetto alle voci aggiornate delle banche dati.

**Tabella 6: Requisiti aggiuntivi applicabili ai test autodiagnostici antigenici per il SARS-CoV-2 (<sup>1</sup>)**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni ( <sup>2</sup> )	Numero di utilizzatori profani
Interpretazione dei risultati ( <sup>3</sup> )	Interpretazione dei risultati ( <sup>4</sup> ) da parte di utilizzatori profani secondo la seguente gamma di livelli di reattività: — non reattivi — reattivi — debolmente reattivi ( <sup>5</sup> ) — non validi	≥ 100
Sensibilità diagnostica ( <sup>6</sup> )	Utilizzatori profani noti come positivi per l'antigene ( <sup>7</sup> ): ( <sup>8</sup> )	≥ 30
Specificità diagnostica ( <sup>9</sup> )	Utilizzatori profani che non conoscono il loro status ( <sup>5</sup> )	≥ 60

(<sup>1</sup>) Si presuppone che le prestazioni di base del test autodiagnostico siano già state dimostrate in precedenza grazie alla valutazione di un test professionale di progettazione identica a quella del test autodiagnostico da valutare. Se per i campioni per test autodiagnostici in questione non esiste una variante di test professionale corrispondente, il confronto deve essere effettuato con il tipo di campione standard (ad es. tamponi nasofaringei per i test antigenici, siero o plasma per i test anticorpali) del test professionale corrispondente.

(<sup>2</sup>) Per ciascun tipo di campione per test autodiagnostico dichiarato con il dispositivo (ad es. campione nasale, espettorato, saliva, sangue intero, ecc.).

(<sup>3</sup>) Lo studio sull'interpretazione dei risultati deve comprendere la lettura e l'interpretazione dei risultati dei test da parte di almeno 100 utilizzatori profani, ciascuno dei quali sarà sottoposto alla lettura di risultati nella gamma specificata di livelli di reattività dei risultati. Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.

(<sup>4</sup>) I test devono essere effettuati prima dello studio sull'interpretazione dei risultati utilizzando, se possibile, il tipo di campione previsto dal fabbricante. I test possono essere effettuati su campioni costruiti artificialmente sulla base della matrice naturale del rispettivo tipo di campione.

(<sup>5</sup>) Una percentuale più elevata di campioni deve rientrare nella gamma a bassa positività vicino al valore soglia o al LOD del test.

(<sup>6</sup>) Rispetto a RT-PCR. Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.

(<sup>7</sup>) Soggetti che non sono a conoscenza del risultato diagnostico professionale prima del test autodiagnostico e che eseguono l'intera procedura di test dalla raccolta al trattamento preliminare dei campioni (tamponi, buffer di estrazione, ecc.) fino alla lettura.

(<sup>8</sup>) Soggetti sino a circa 7 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi.

(<sup>9</sup>) Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.

**Tabella 7: Requisiti aggiuntivi applicabili ai test autodiagnostici per gli anticorpi contro il SARS-CoV-2 <sup>(1)</sup>**

Caratteristica delle prestazioni	Campioni <sup>(2)</sup>	Numero di utilizzatori profani
Interpretazione dei risultati <sup>(3)</sup>	Interpretazione dei risultati <sup>(4)</sup> da parte di utilizzatori profani secondo la seguente gamma di livelli di reattività: — non reattivi — reattivi — debolmente reattivi <sup>(5)</sup> — non validi	≥ 100
Sensibilità diagnostica <sup>(6)</sup>	Utilizzatori profani noti come positivi per gli anticorpi <sup>(7)</sup>	≥ 100
Specificità diagnostica <sup>(8)</sup>	Utilizzatori profani che non conoscono il loro status <sup>(5)</sup>	≥ 100

<sup>(1)</sup> Si presuppone che le prestazioni di base del test autodiagnostico siano già state dimostrate in precedenza grazie alla valutazione di un test professionale di progettazione identica a quella del test autodiagnostico da valutare. Se per i campioni per test autodiagnostici in questione non esiste una variante di test professionale corrispondente, il confronto deve essere effettuato con il tipo di campione standard (ad es. tamponi nasofaringei per i test antigenici, siero o plasma per i test anticorpali) del test professionale corrispondente.

<sup>(2)</sup> Per ciascun tipo di campione per test autodiagnostico dichiarato con il dispositivo (ad es. campione nasale, espettorato, saliva, sangue intero, ecc.).

<sup>(3)</sup> Lo studio sull'interpretazione dei risultati deve comprendere la lettura e l'interpretazione dei risultati dei test da parte di almeno 100 utilizzatori profani, ciascuno dei quali sarà sottoposto alla lettura di risultati nella gamma specificata di livelli di reattività dei risultati. Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.

<sup>(4)</sup> I test devono essere effettuati prima dello studio sull'interpretazione dei risultati utilizzando, se possibile, il tipo di campione previsto dal fabbricante. I test possono essere effettuati su campioni costruiti artificialmente sulla base della matrice naturale del rispettivo tipo di campione.

<sup>(5)</sup> Una percentuale più elevata di campioni deve rientrare nella gamma a bassa positività vicino al valore soglia o al LOD del test.

<sup>(6)</sup> Con precedenti di infezione iniziale da SARS-CoV-2 confermata da RT-PCR; in confronto con un precedente risultato confermato per gli anticorpi; Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.

<sup>(7)</sup> Soggetti che non sono a conoscenza del risultato diagnostico professionale prima del test autodiagnostico e che eseguono l'intera procedura di test dalla raccolta al trattamento preliminare dei campioni (tamponi, buffer di estrazione, ecc.) fino alla lettura.

<sup>(8)</sup> Il fabbricante deve determinare la concordanza tra la lettura effettuata da un utilizzatore profano e quella effettuata da un utilizzatore professionale.