

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

**REF** GXHBV-VL-CE-10

Instrukcja użycia testu

**CE** 2797 **IVD**

## **Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich**

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2018-2023 Cepheid.

Cepheid<sup>®</sup>, logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> i Xpert<sup>®</sup> to znaki towarowe firmy Cepheid, zarejestrowane w USA i w innych krajach.

Wszystkie inne znaki towarowe są własnością ich właścicieli.

NABYWCA TEGO PRODUKTU UZYSKUJE NIEZBYWALNE PRAWO DO UŻYWANIA TEGO PRODUKTU ZGODNIE Z NINIEJSZĄ INSTRUKCJĄ UŻYCIA. NABYWCA NIE UZYSKUJE ŻADNYCH INNYCH PRAW W SPOSÓB WYRAŹNY, DOROZUMIANY LUB PRZEZ ESTOPPEL. PONADTO NABYWCA TEGO PRODUKTU NIE UZYSKUJE ŻADNYCH PRAW DO ODSPRZEDAŻY TEGO PRODUKTU.

© 2018-2023 Cepheid.

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

---

Do badań diagnostycznych *in vitro*.

## 1 Nazwa zastrzeżona

Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

## 2 Nazwa powszechna lub zwyczajowa

Xpert HBV VL

## 3 Przeznaczenie

Test Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load (VL) firmy Cepheid to test amplifikacji kwasów nukleinowych *in vitro* przeznaczony do oznaczania ilościowego DNA wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) w ludzkiej surowicy lub osoczu (EDTA) pacjentów przewlekle chorych na HBV przy użyciu automatycznych systemów GeneXpert<sup>®</sup>.

Test jest przeznaczony do stosowania w połączeniu ze stanem klinicznym i innymi markerami laboratoryjnymi jako wskaźnik rokowania choroby oraz do stosowania jako pomoc w ocenie odpowiedzi wirusologicznej na leczenie przeciwwirusowe poprzez wykonywanie pomiarów zmian poziomów DNA wirusa HBV w osoczu lub surowicy.

Test nie jest przeznaczony do wykonywania badań przesiewowych dawców krwi pod kątem zakażenia wirusem HBV ani jako test diagnostyczny do potwierdzania obecności zakażenia wirusem HBV.

## 4 Podsumowanie i objaśnienie

Wirus wirusowego zapalenia wątroby typu B (HBV) to mały, otoczkowy DNA-wirus z rodziny Hepadnaviridae, który odpowiada za ostre i przewlekle wirusowe zapalenie wątroby typu B. Ten wirus zawiera małe okrągłe DNA genomowe, które częściowo składa się z dwóch nici i ma średnicę 42 nm. Wirus HBV zawiera liczne składniki antygenowe, w tym antygen powierzchniowy zapalenia wątroby typu B (HBsAg), antygen rdzeniowy zapalenia wątroby typu B (HBcAg) i antygen e zapalenia wątroby typu B (HBeAg). Wirus HBV jest przenoszony przez kontakt krwi lub płynów ustrojowych zakażonej osoby ze skórą lub błonami śluzowymi, z zakażonej matki na noworodka, przez bliski kontakt w obrębie gospodarstwa domowego, poprzez niepoddaną badaniom przesiewowym transfuzję krwi lub niebezpieczne wstrzyknięcia w środowisku systemu opieki zdrowotnej, przez dożylną przyjmowanie narkotyków oraz kontakty seksualne z osobą zakażoną.

Przewlekle zapalenie wątroby typu B (CHB) może występować jako dodatnie względem antygeny e wirusowego zapalenia wątroby typu B (HBeAg) lub HBeAg-ujemne. Seroprewalencja HBsAg swoista dla wieku w dużym stopniu zależy od regionu geograficznego, z najwyższą prevalencją (>5%) na obszarze Afryki subsaharyjskiej, Azji wschodniej, niektórych regionów Bałkanów, na wyspach Oceanu Spokojnego oraz na nizinie Amazonki w Ameryce Południowej. Prewalencja poniżej 2% występuje w takich regionach, jak środkowa Ameryka Łacińska, Ameryka Północna i Europa Zachodnia. Ogółem blisko połowa globalnej populacji zamieszkuje obszary wysokiej endemiczności.<sup>1</sup> Chorobowość i śmiertelność CHB wiąże się z uporczywością replikacji wirusowej oraz ewolucją do marskości i/lub raka wątrobowokomórkowego.<sup>2</sup> Śmiertelność z powodu wirusowego zapalenia wątroby wzrosła z czasem i będzie dalej rosła, jeżeli pacjenci nie będą diagnozowani i leczeni.<sup>3</sup>

Szczepionka przeciwko HBV jest dostępna dla niemowląt i znacząco zmniejszyła liczbę nowych infekcji przewlekłych, ale poziom wyszczenia to tylko 39%.<sup>3</sup> W 2015 r., 3,5% populacji świata żyło z przewlekłą infekcją HBV, a regiony Afryki i Zachodniego Pacyfiku cechuje największa chorobowość.<sup>3</sup> Tylko 9% osób zakażonych HBV wie o infekcji, a ze zdiagnozowanych osób tylko 8% przyjmuje leczenie.<sup>3</sup> Dla pacjentów kwalifikujących się do leczenia zalecane są analogi

nukleozydów i nukleotydów, takie jak tenofovir i entekawir, gdyż te leki przeciwwirusowe skutecznie tłumią replikację wirusa HBV, zapobiegając progresji do marskości i zmniejszając liczbę zgonów związanych z wątrobą.<sup>1</sup> Leczenie HBV jest kontynuowane przez całe życie.<sup>1</sup>

## 5 Zasada procedury

Xpert® HBV VL to zautomatyzowany test do ilościowego wykrywania wirusa wywołującego wirusowe zapalenie wątroby typu B. Test jest wykonywany na aparatach GeneXpert i GeneXpert Infinity firmy Cepheid.

Aparaty GeneXpert automatyzują i integrują oczyszczanie próbki, amplifikowanie kwasu nukleinowego i wykrywanie sekwencji docelowej w próbkach prostych lub złożonych przy pomocy testów real-time PCR. Systemy składają się z aparatu, komputera oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań i wyświetlanie wyników. System wymaga stosowania jednorazowych kartridży GeneXpert, które zawierają odczynniki do reakcji PCR oraz w których odbywają się reakcje oczyszczania i PCR. Ponieważ kartridże są samowystarczalne, ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami jest zminimalizowane. Pełny opis systemów można znaleźć w odpowiedniej *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*.

Test Xpert® HBV VL zawiera odczynniki służące do wykrywania DNA wirusa HBV w próbkach oraz dwie kontrole wewnętrzne służące do pomiaru ilościowego DNA wirusa HBV. Kontrole wewnętrzne służą również do zapewnienia prawidłowego przetworzenia sekwencji docelowej oraz monitorowania obecności inhibitorów reakcji PCR. Kontrola sondy (PCC) weryfikuje stopień nawodnienia odczynników, napełnienie probówki do PCR w kartridżu, integralność sondy i stabilność barwnika.

Test poddano standaryzacji względem 4. międzynarodowego wzorca Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) dla DNA wirusa HBV dla technologii amplifikacji kwasów nukleinowych (NIBSC, Nucleic Acid Amplification Technologies), (kod NIBSC: 10/266).<sup>4</sup>

## 6 Odczynniki i aparaty

### 6.1 Materiały dostarczone

Zestaw testu HBV VL zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek lub próbek kontroli jakości. Zestaw zawiera następujące elementy:

<b>Kartridże testu HBV VL ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi</b>	<b>10</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kulka 1, kulka 2 i kulka 3 (liofilizowane)</li> <li>• Odczynnik do lizy (tocyjanian guanidyny)</li> <li>• Odczynnik do płukania</li> <li>• Odczynnik do elucji</li> <li>• Odczynnik wiążący</li> <li>• Odczynnik zawierający proteinazę K</li> </ul>	Po 1 na kartridż 1,7 ml na kartridż 0,5 ml na kartridż 1,5 ml na kartridż 1,5 ml na kartridż 0,48 ml na kartridż
<b>Jednorazowe pipety transferowe 1 ml</b>	<b>10 na zestaw</b>
<b>Płyta CD</b>	<b>1 na zestaw</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Plik definicji testu (ADF)</li> <li>• Instrukcja importowania pliku ADF do oprogramowania GeneXpert i Infinity</li> <li>• Instrukcja użycia (ulotka informacyjna)</li> </ul>	

**Uwaga** Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) lub [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) w karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

**Uwaga** Albumina surowicy bydłowej (BSA) zawarta w kulkach stanowiących część tego produktu została uzyskana i wytworzona wyłącznie z osocza wołowego pochodzącego z USA. Zwierząt nie karmiono białkiem pochodzącym od przeżuwaczy ani innym zwierzęcym; zwierzęta przebadano zarówno przed ubojem, jak i po nim. Podczas przetwarzania nie nastąpiło wymieszanie materiału z innymi materiałami pochodzenia zwierzęcego.

## 7 Przechowywanie i obsługa

- Kartridże testu Xpert® Xpert HBV VL można przechowywać w temperaturze 2–35°C do upływu daty ważności podanej na etykiecie.
- Przed użyciem kartridże testu należy doprowadzić do temperatury pokojowej, jeśli były przechowywane w niskiej temperaturze.
- Nie używać kartridży po upływie daty ważności.
- Wieczko kartridża można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.
- Nie używać nieszczelnego kartridża.

## 8 Materiały wymagane, ale nie dostarczone

- System GeneXpert® Dx lub system GeneXpert® Infinity (numer katalogowy zależy od konfiguracji): aparat GeneXpert, komputer z opatentowanym oprogramowaniem GeneXpert w wersji 4.7b lub nowszej (systemy GeneXpert Dx) lub Xpertise w wersji 6.4b lub nowszej (systemy Infinity-80/Inifinit-48s), czytnik kodów kreskowych i odpowiednia instrukcja obsługi systemu GeneXpert
- Drukarka: jeśli wymagana jest drukarka, informacji o zakupie zalecanej drukarki udzieli Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.
- Wybielacz lub podchloryn sodu
- Etanol denaturowany

## 9 Ostrzeżenia i środki ostrożności

### 9.1 Ogólne

- Do diagnostyki *in vitro*
- Wszystkie preparaty biologiczne, w tym zużyte kartridże, należy traktować jako potencjalnie zakaźne. Ponieważ często niemożliwe jest określenie, który z preparatów biologicznych może być zakaźny, ze wszystkimi należy pracować, zachowując standardowe środki ostrożności. Wytyczne dotyczące obsługi próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention<sup>5</sup> oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.<sup>6</sup>
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia próbek lub odczynników zalecane jest przestrzeganie dobrych praktyk laboratoryjnych, w tym zmienianie rękawiczek między czynnościami obsługi próbek.
- Należy przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i próbkami biologicznymi.
- Nie wolno zastępować odczynników testu Xpert HBV VL innymi odczynnikami.
- Wieczko kartridża testu Xpert HBV VL można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do dodania próbki.
- Nie używać kartridża, który upadł po wyjęciu z opakowania.
- Nie wolno potrząsać kartridżem. Potrząsanie kartridżem lub jego upuszczenie po otwarciu wieczka może prowadzić do uzyskania nieważnych wyników.
- Nie wolno używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona.
- Nie zakrywać etykiety z kodem kreskowym kartridża.
- Aby dodać próbkę do kartridża, należy użyć pipety transferowej lub pipety precyzyjnej. Nie nalewać próbki bezpośrednio z systemu do pobierania do kartridża.
- Każdy jednorazowy kartridż testu Xpert HBV VL służy do wykonania jednego badania. Nie używać ponownie kartridży.
- Każda jednorazowa pipeta służy do przeniesienia jednej próbki. Nie używać ponownie zużytych jednorazowych pipet.
- Stosować czyste fartuchy laboratoryjne i rękawiczki. Zmieniać rękawiczki między przetwarzaniem każdej próbki.
- W przypadku zanieczyszczenia obszaru roboczego lub sprzętu próbkami lub kontrolami, zanieczyszczony obszar należy dokładnie wyczyścić przy pomocy świeżo przygotowanego roztworu 0,5% podchlorynu sodu (lub roztworu wybielacza chlorowego w stosunku 1:10). Następnie przetrzeć powierzchnię 70% roztworem etanolu. Przed kontynuowaniem pracy należy odczekać, aż powierzchnie robocze całkowicie wyschną.
- Preparaty biologiczne, produkty służące do przenoszenia materiału i zużyte kartridże należy traktować jako materiały potencjalnie zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w instytucji procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania zużytych kartridży i niewykorzystanych odczynników. Te materiały mogą stanowić niebezpieczne materiały chemiczne,

których usuwanie musi się odbywać zgodnie ze swoistymi krajowymi lub regionalnymi przepisami dotyczącymi usuwania. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania odpadów, wówczas próbki biologiczne i zużyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, World Health Organization) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.<sup>7</sup>

## 10 Zagrożenia chemiczne<sup>8,9</sup>

### Odczynnik do lizy (tiocyjania guanidyny)

- Hasło ostrzegawcze: OSTRZEŻENIE
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące rodzaj zagrożenia**
  - Działa szkodliwie po połknięciu
  - Powoduje łagodne podrażnienie skóry
  - Działa drażniąco na oczy
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności**
  - **Zapobieganie**
    - Dokładnie umyć po użyciu.
  - **Reagowanie**
    - W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
    - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.
    - W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
    - W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.

## 11 Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek

Krew pełną należy pobrać do próbek K<sub>2</sub>-EDTA, PPT-EDTA lub próbek do pobierania surowicy i odwirować w celu oddzielenia osocza/surowicy i krwinek czerwonych zgodnie z instrukcjami producenta.

- Do wykonania testu Xpert HBV VL wymagane jest co najmniej 0,6 ml osocza lub surowicy. Przy korzystaniu z pipety transferowej dołączonej do zestawu, pipetę należy napełniać surowicą lub osoczem do czwartego oznaczenia (1,0 ml). Ewentualnie w przypadku używania pipety precyzyjnej wymagane jest 0,6 ml osocza lub surowicy. Patrz instrukcje, których opis zawiera Sekcja 12.2, odpowiednio opcja 1 i 2.
- Przed przygotowaniem osocza/surowicy krew pełną można przechowywać w temperaturze 2–35°C przez maksymalnie 24 godziny lub w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 3 dni. Odwirowanie należy wykonać zgodnie z instrukcjami producenta.
- Przed rozpoczęciem badania osocze i surowicę można po odwirowaniu i oddzieleniu przechowywać w temperaturze 2–35°C przez maksymalnie 24 godziny lub w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 7 dni.
- Próbkę osocza i surowicy zachowują stabilność po zamrożeniu (od -80 do -20°C) przez 6 tygodni.
- Próbkę osocza i surowicy zachowują stabilność przez maksymalnie trzy cykle zamrożenia/rozmrózenia.
- Przed przeniesieniem do kartridża próbki osocza i surowicy należy rozmrozić i doprowadzić do temperatury pokojowej.
- Transport próbek krwi pełnej, osocza lub surowicy musi się odbywać zgodnie z lokalnymi, regionalnymi i krajowymi przepisami dotyczącymi transportowania czynników etiologicznych.

## 12 Procedura

### 12.1 Przygotowanie próbki

**Uwaga** Rozpocząć badanie w ciągu 4 godzin od momentu dodania próbki do kartridża.

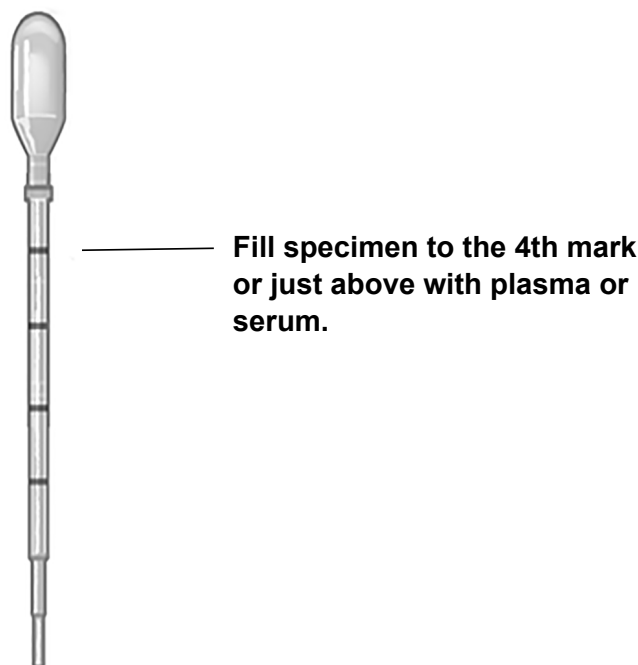
1. Po odwirowaniu próbek krwi pełnej można przy pomocy pipety przenieść osocze bezpośrednio do kartridża testu. Wystarczająca objętość ma krytyczne znaczenie dla uzyskania prawidłowych wyników badania (patrz instrukcje, które zawiera Sekcja 12.2. Przygotowywanie kartridża).

2. Przed użyciem próbek zamrożonych należy je przenieść do temperatury pokojowej (20–35°C) i poczekać do momentu, aż zostaną całkowicie rozmrożone i osiągną temperaturę pokojową.
3. Przed użyciem próbki osocza i surowicy przechowywane w temperaturze 2–8°C należy wyjąć z chłodziarki i doprowadzić do temperatury pokojowej.
4. Próbkę osocza, które były przechowywane w temperaturze 2–8°C lub które zostały zamrożone i rozmrożone, należy przed użyciem worteksować przez 10 sekund. Jeśli próbka jest mętna, wówczas należy ją krótko odwirować, aby stała się klarowna.

## 12.2 Przygotowywanie kartridża

1. Stosować jednorazowe rękawice ochronne.
2. Przed użyciem kartridże testu należy doprowadzić do temperatury pokojowej, jeśli były przechowywane w niskiej temperaturze.
3. Sprawdzić kartridż pod kątem uszkodzeń. W razie zaobserwowania uszkodzenia nie używać kartridża.
4. Oznaczyć kartridż identyfikatorem próbki.
5. Otworzyć wieczko kartridża.
6. Dodać próbkę do kartridża.
  - **Opcja 1:** Przy korzystaniu z pipety transferowej dołączonej do zestawu (patrz Ilustracja 1), pipetę należy napełniać do czwartego oznaczenia (1,0 ml) lub trochę dalej, pobierając surowicę lub osocze z próbki do pobierania. Przenieść zawartość pipety do komory na próbkę kartridża (patrz Ilustracja 2).
  - **Opcja 2:** W przypadku używania pipety precyzyjnej należy przenieść 0,6 ml osocza lub surowicy z próbki do pobierania do komory na próbkę kartridża (patrz Ilustracja 2).

**Uwaga** Nie usuwać cienkiej, plastikowej folii, która zakrywa wewnętrzny pierścień 13 portów kartridża.



**Ilustracja 1. Pipeta transferowa testu Xpert HBV VL**

7. Zamknij wieczko kartridża. Upewnij się, że wieczko zostało mocno zatrzasknięte.



Ilustracja 2. Kartridż testu Xpert HBV VL (widok z góry)

### 12.3 Rozpoczynanie badania

**Ważne** Przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że plik definicji testu Xpert HBV VL został zaimportowany do oprogramowania.

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego modelu aparatu.

**Uwaga** Wykonywane czynności mogą być inne, jeśli administrator systemu zmienił domyślny cykl pracy.

1. Włączyć aparat GeneXpert:
  - W przypadku używania aparatu GeneXpert Dx, najpierw włączyć aparat GeneXpert Dx, a następnie włączyć komputer. Oprogramowanie GeneXpert Dx zostanie uruchomione automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania GeneXpert Dx na pulpicie systemu Windows®.
  - lub
  - W przypadku używania aparatu GeneXpert Infinity, włączyć aparat. Oprogramowanie GeneXpert uruchomi się automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania Xpertise na pulpicie systemu Windows®.
2. Należy zalogować się do oprogramowania aparatu GeneXpert, podając nazwę użytkownika i hasło.
3. W oknie systemu GeneXpert kliknąć **Nowe badanie (Create Test)** (GeneXpert Dx) lub kliknąć **Zlecenia (Orders)** i **Zleć badanie (Order Test)** (Infinity). Zostanie wyświetlone okno **Nowe badanie (Create Test)**.
4. Zeskanować Identyfikator pacjenta (Patient ID) (opcjonalnie). W wypadku wpisywania Identyfikatora pacjenta (Patient ID) należy upewnić się, że Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany po lewej stronie okna Wyświetlanie wyników (View Results).
5. Zeskanować lub wpisać Identyfikator próbki (Sample ID). W wypadku wpisywania Identyfikatora próbki (Sample ID) upewnić się, że Identyfikator próbki (Sample ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator próbki (Sample ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany po lewej stronie okna Wyświetlanie wyników (View Results).
6. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu testu Xpert HBV VL. Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym, oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: Identyfikator serii odczynników (Reagent Lot ID), Numer seryjny kartridża (Cartridge SN) i Data ważności (Expiration Date).

**Uwaga** Jeśli nie można zeskanować kodu kreskowego na kartridżu testu Xpert HBV VL, wówczas należy powtórzyć badanie z użyciem nowego kartridża.

7. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)** (GeneXpert Dx) lub **Prześlij (Submit)** (Infinity). Wpisać hasło w wyświetlonym oknie dialogowym.
8. W przypadku systemu GeneXpert Infinity umieścić kartridż na taśmie transportowej. Kartridż zostanie załadowany automatycznie, rozpocznie się badanie, a zużyty kartridż zostanie umieszczony w pojemniku na odpady.
- lub



W przypadku aparatu GeneXpert Dx:

- Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną lampką i załadować kartridż.
- Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona lampka przestanie migać. Po zakończeniu badania lampka przestanie świecić.
- Poczekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu i wyjąć kartridż.
- Wyrzucić zużyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

## 13 Wyświetlanie i drukowanie wyników

W niniejszym punkcie opisano podstawowe kroki umożliwiające wyświetlanie i drukowanie wyników. Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego aparatu.

- Kliknąć ikonę **Wyświetl wyniki (View Results)**, aby wyświetlić wyniki.
- Po zakończeniu badania kliknąć przycisk **Raport (Report)** w oknie **Wyświetlanie wyników (View Results)**, aby wyświetlić i/lub utworzyć plik PDF z raportem.

## 14 Kontrola jakości

Każdy test zawiera kontrolę adekwatności objętości próbki (SVA), wewnętrzny wzorzec ilościowy wysoki i niski (IQS-H i IQS-L), parametry właściwe dla serii (LSP) oraz kontrolę sondy (PCC).

- Kontrola adekwatności objętości próbki (SVA)** — pozwala się upewnić, że próbka została prawidłowo dodana do kartridża. Kontrola SVA weryfikuje, czy prawidłowa objętość próbki została dodana do komory na próbkę. Kontrola SVA zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji. Jeżeli kontrola SVA zakończy się niepowodzeniem, na ekranie pojawi się komunikat **Błąd 2096 (Error 2096)**, jeżeli do kartridża nie dodano próbki lub **BŁĄD 2097 (ERROR 2097)**, jeżeli do kartridża dodano niewystarczającą ilość próbki. System uniemożliwi użytkownikowi wznowienie badania.
- Wewnętrzny wzorzec ilościowy, górnej i dolnej granicy (IQS-H i IQS-L, Internal Quantitative Standard High i Low)** — IQS-H i IQS-L to dwa uliniowane plazmidy o sekwencji niepowiązanej z HBV, które znajdują się w każdym kartridżu i przechodzą przez cały proces testowania. Są to wzorce używane do wyliczenia stężenia DNA wirusa HBV w próbce. Ponadto wzorce IQS-H i IQS-L wykrywają hamowanie reakcji RT-PCR związane z próbką, tym samym stanowiąc kontrole przetwarzania próbki. Wyniki IQS-H i IQS-L są odpowiednie, jeśli spełniają zwalidowane kryteria akceptacji.
- Parametry właściwe dla serii (LSP) do pomiaru ilościowego** — każda seria zestawów zawiera wbudowane parametry LSP wygenerowane na podstawie panelu kalibracji wirusa HBV identyfikowalnego z 4. międzynarodowym wzorcem WHO dla wirusa HBV (kod NIBSC: 10/266)<sup>4</sup> oraz wzorcami IQS-H i IQS-L. Parametry LSP są charakterystyczne dla każdej serii odczynników i umożliwiają zapewnienie prawidłowego pomiaru ilościowego.
- Kontrola sondy (PCC)** — przed rozpoczęciem reakcji PCR system GeneXpert mierzy sygnał fluorescencji z sond w celu monitorowania nawadniania kulek, napełnienia komory reakcyjnej, integralności sondy i stabilności barwnika. Kontrola PCC jest uznawana za zakończoną sukcesem, jeśli sygnały fluorescencji spełniają zweryfikowane kryteria akceptacji.
- Kontrole zewnętrzne** — przestrzegając dobrych praktyk laboratoryjnych, kontroli zewnętrznych, niedostarczonych z zestawem, można używać zgodnie ze stosownymi wymaganiami lokalnych, regionalnych i krajowych organizacji akredytacyjnych, jeżeli dotyczy.

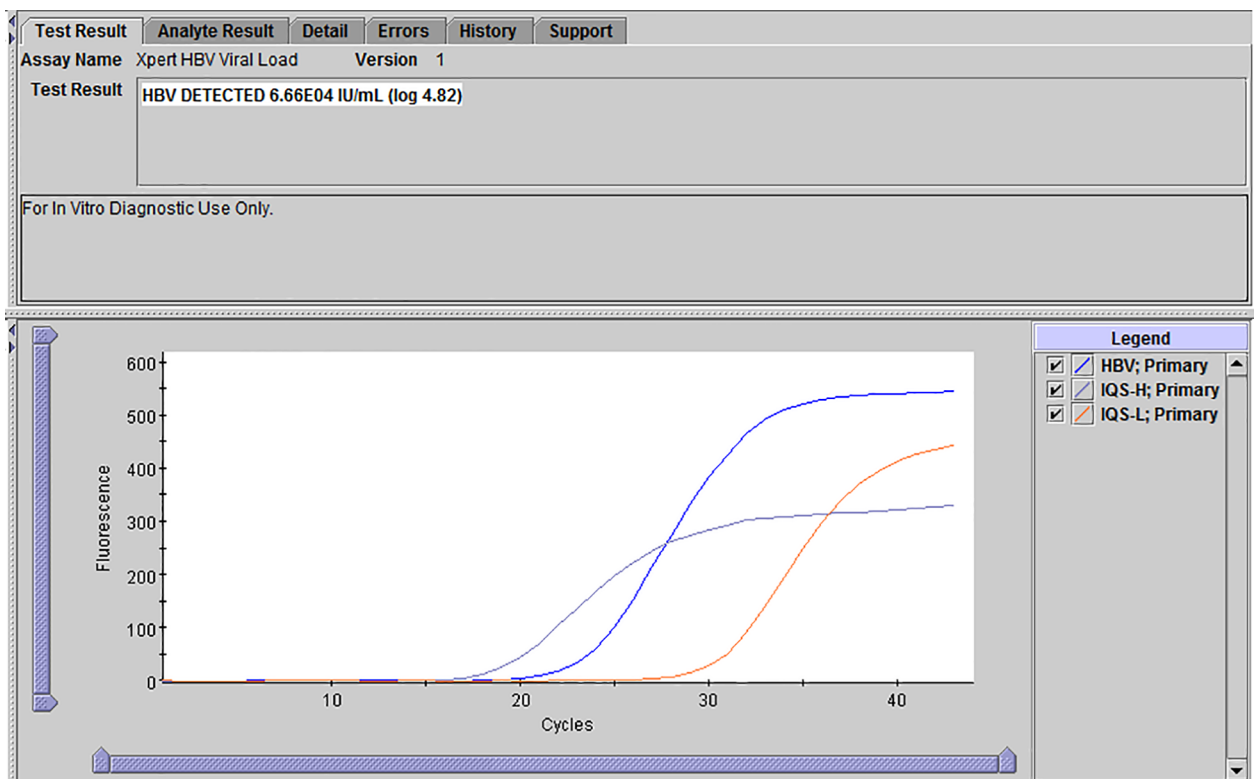
## 15 Interpretacja wyników

Wyniki są interpretowane automatycznie przez aparat GeneXpert na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji i wbudowanych algorytmów obliczeniowych, a następnie wyświetlane w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) (patrz punkty od Ilustracja 3 do Ilustracja 8). Możliwe wyniki przedstawia Tabela 1.

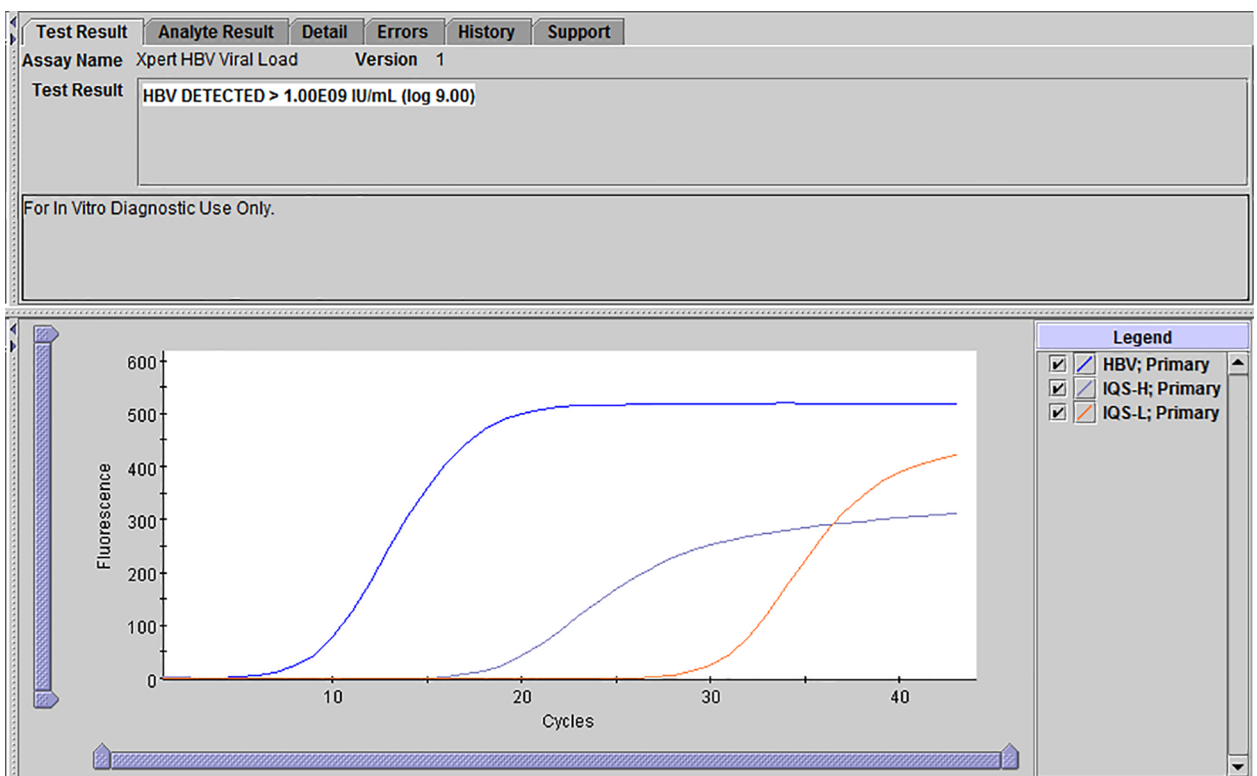
Tabela 1. Wyniki testu Xpert HBV VL i ich interpretacja

Wynik	Interpretacja
<b>WYKRYTO HBV (HBV DETECTED) IU/ml (log X,XX)</b> Patrz Ilustracja 3.	Wykryto DNA wirusa HBV na poziomie XX IU/ml (log X,XX). <ul style="list-style-type: none"> <li>Miano DNA wirusa HBV zawiera się w zakresie oznaczeń ilościowych testu (10–1,00E09 IU/ml).</li> <li>IQS-H i IQS- L: POWODZENIE (PASS).</li> <li>Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<b>WYKRYTO HBV (HBV DETECTED) &gt; 1,00E00 IU/ml</b> Patrz Ilustracja 4.	DNA wirusa HBV zostało wykryte w ilości powyżej zakresu pomiaru ilościowego testu. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H i IQS- L: POWODZENIE (PASS).</li> <li>Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<b>WYKRYTO HBV (HBV DETECTED) &lt;10 IU/ml</b> Patrz Ilustracja 5.	DNA wirusa HBV zostało wykryte w ilości poniżej zakresu pomiaru ilościowego testu. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H i IQS- L: POWODZENIE (PASS).</li> <li>Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<b>NIE WYKRYTO WIRUSA HBV (HBV NOT DETECTED)</b> Patrz Ilustracja 6.	Nie wykryto DNA wirusa HBV. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H i IQS- L: POWODZENIE (PASS).</li> <li>Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<b>WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)</b> Patrz Ilustracja 7.	Nie można określić obecności ani nieobecności DNA wirusa HBV. Powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Sekcja 16.2. Procedura powtórzenia badania. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H i/lub IQS-L: NIEPOWODZENIE (FAIL): wartości cyklu progowego (Ct) nie mieszczą się w prawidłowym zakresie.</li> <li>Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<b>BŁĄD (ERROR)</b> Patrz Ilustracja 8.	Nie można określić obecności ani nieobecności DNA wirusa HBV. Powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Sekcja 16.2. Procedura powtórzenia badania. <ul style="list-style-type: none"> <li>Kontrola sondy– NIEPOWODZENIE (FAIL)*: wszystkie lub jeden wynik kontroli sondy był nieprawidłowy.</li> </ul> * Jeśli kontrola sondy zakończyła się powodzeniem, błąd został spowodowany wartością graniczną ciśnienia maksymalnego będącą poza ważnym zakresem lub awarią elementu systemu.
<b>BRAK WYNIKU (NO RESULT)</b>	Nie można określić obecności ani nieobecności DNA bakterii MRSA. Powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Sekcja 16.2. Procedura powtórzenia badania. Komunikat <b>BRAK WYNIKU (NO RESULT)</b> oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku.

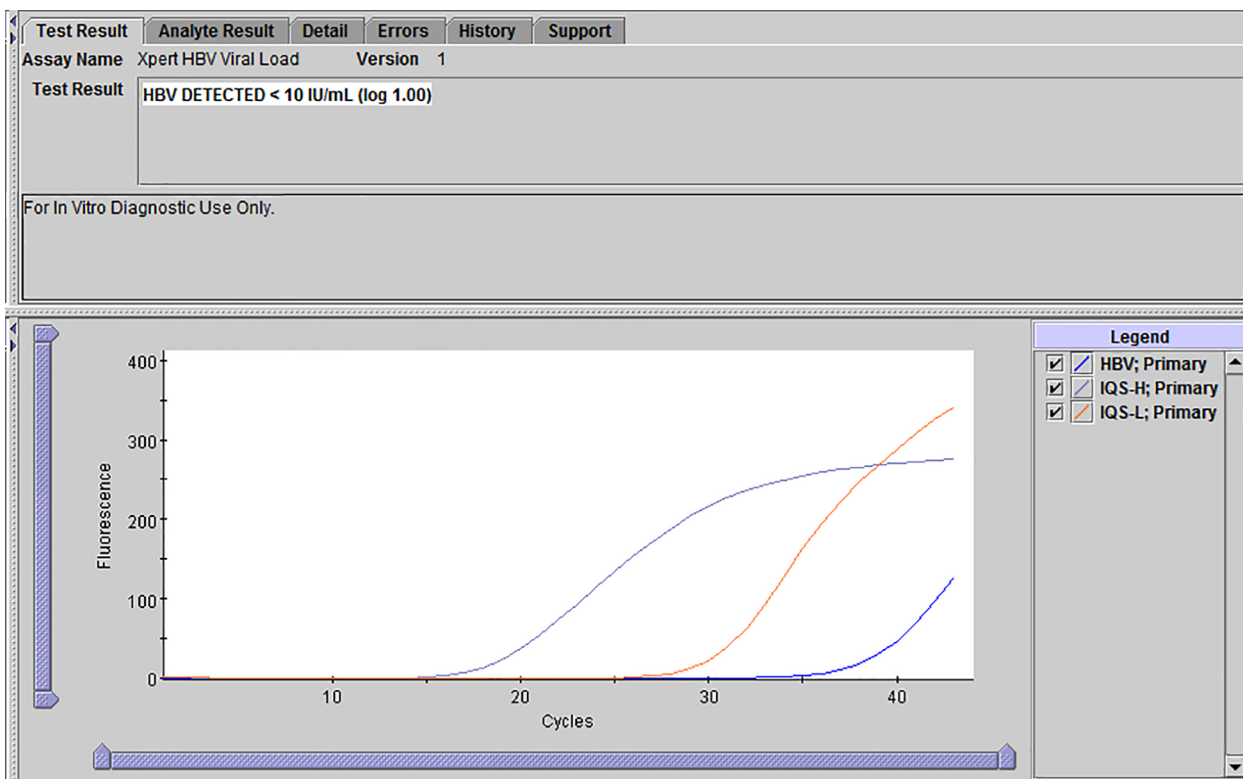
**Uwaga** Zrzuty ekranu testu stanowią jedynie przykład. Numer wersji może się różnić od wartości przedstawionej na zrzutach ekranu w niniejszej instrukcji użycia.



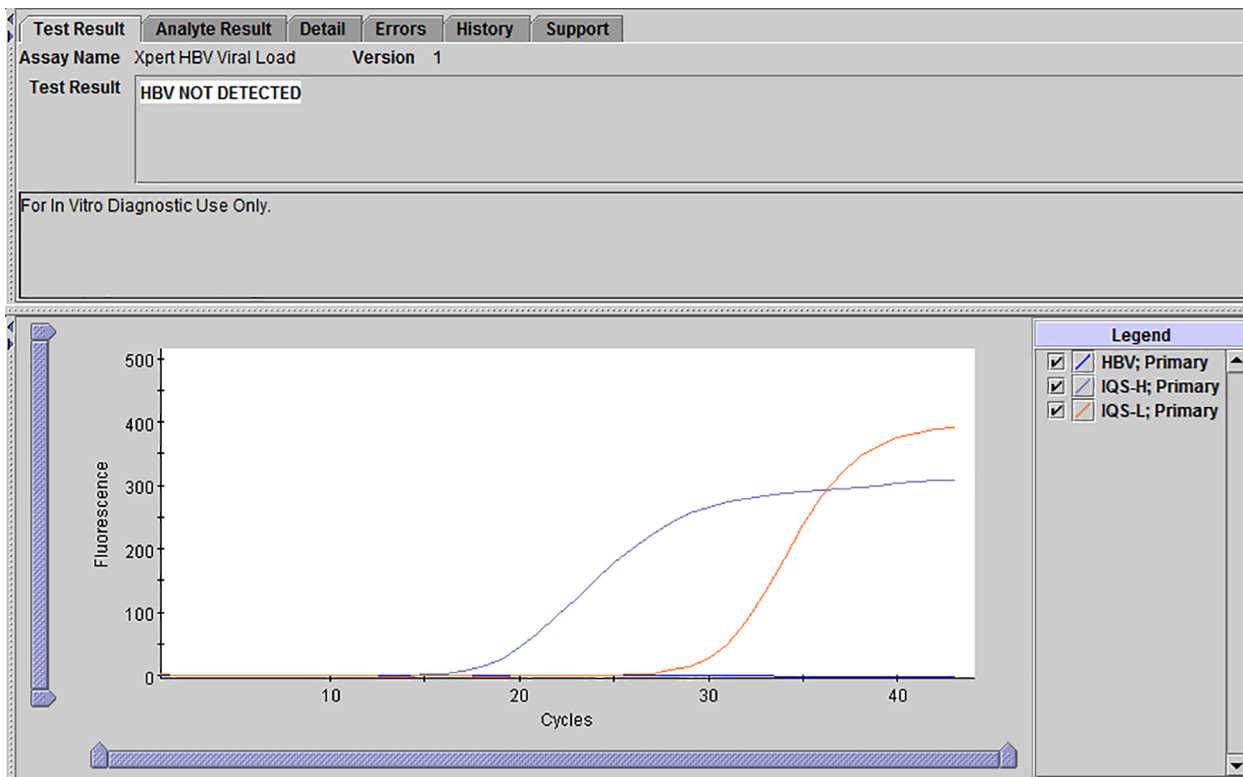
Ilustracja 3. Wynik: Wykryto i wykonano pomiar ilościowy wirusa HBV



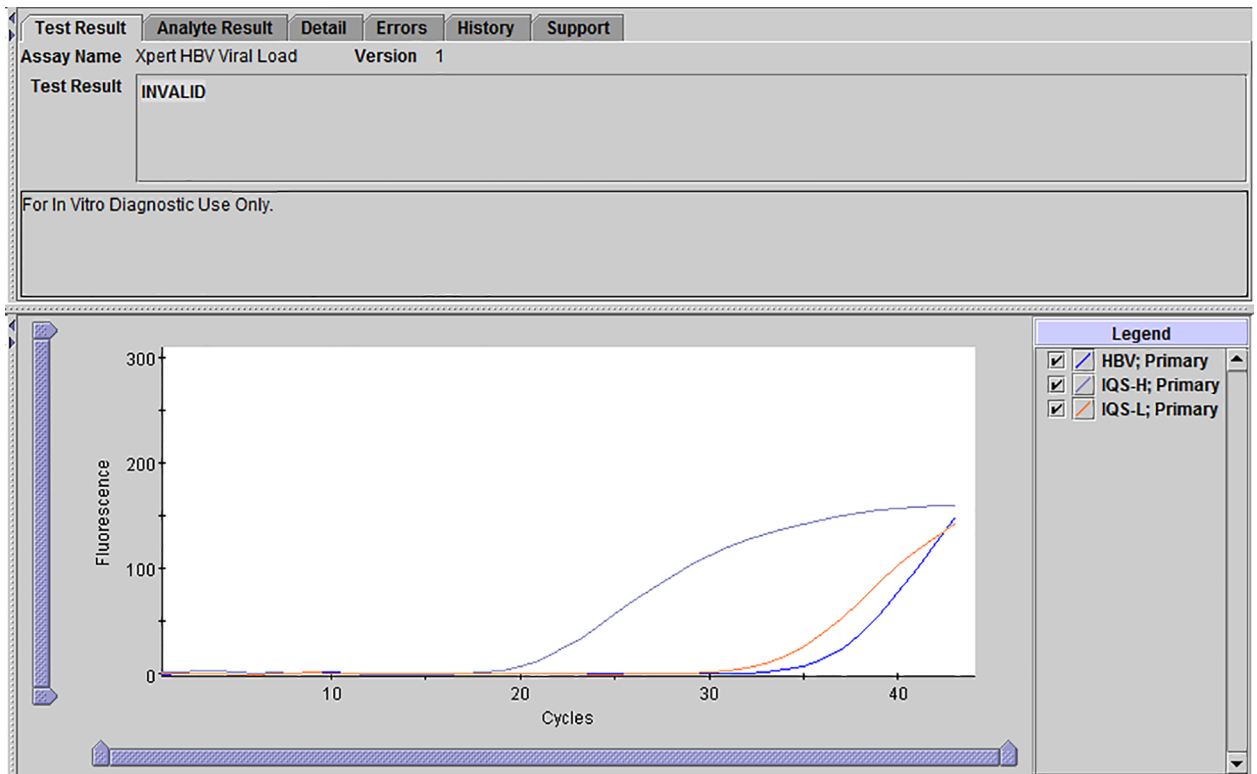
Ilustracja 4. Wynik: Wykryto wirusa HBV, jednak jego miano ma wartość powyżej zakresu pomiaru ilościowego testu



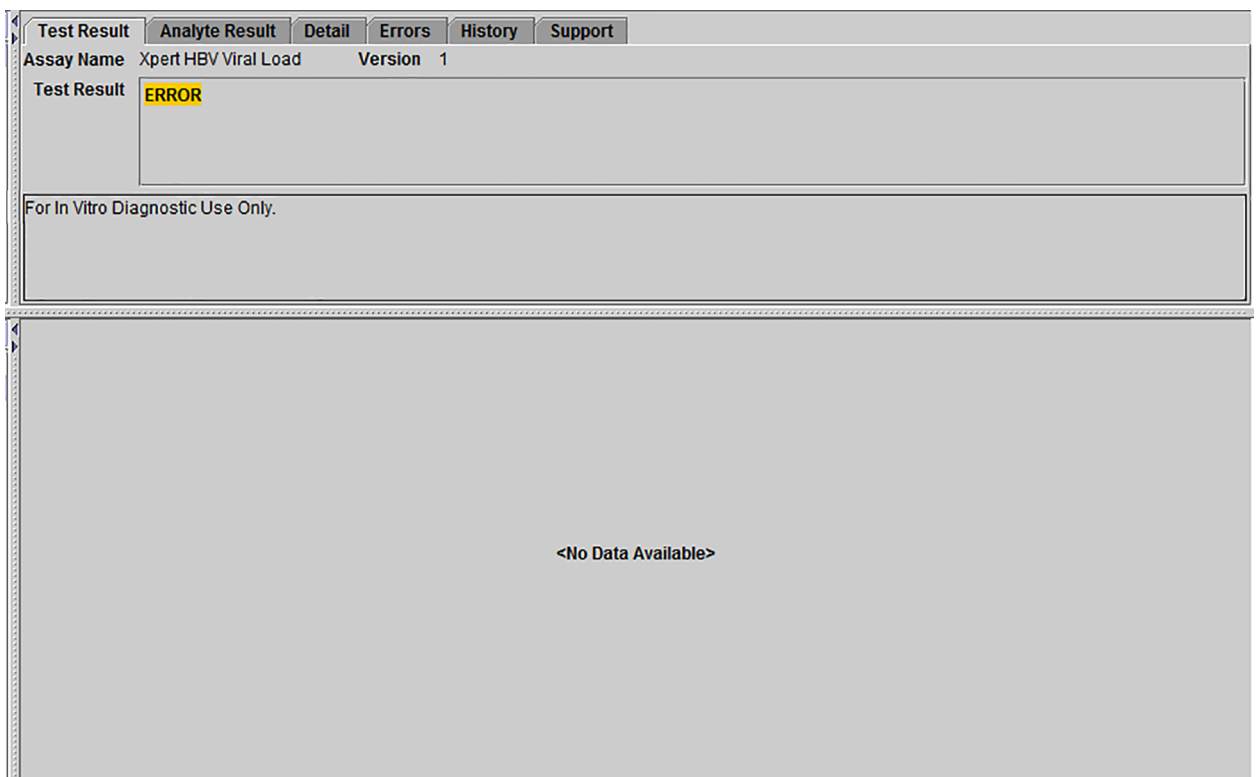
**Ilustracja 5. Wynik: Wykryto wirusa HBV, jednak jego miano ma wartość poniżej zakresu pomiaru ilościowego testu**



**Ilustracja 6. Wynik: Nie wykryto wirusa HBV**



Ilustracja 7. Wynik: Wynik nieważny



Ilustracja 8. Wynik: BŁĄD (ERROR)

## 16 Powtarzanie badań

### 16.1 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie

W wypadku wystąpienia któregokolwiek z poniższych wyników, badanie należy powtórzyć zgodnie z instrukcjami, które zawiera Sekcja 16.2. Procedura powtórzenia badania.

- Wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** oznacza co najmniej jedną z następujących sytuacji:
  - Wartości Ct wzorców IQS-H i/lub IQS-L nie mieszczą się w prawidłowym zakresie.
  - Próbką nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR.
- Wynik **BŁĄD (ERROR)** oznacza, że badanie zostało przerwane. Możliwą przyczyną może być: dodanie niewystarczającej objętości próbki, niewłaściwe napełnienie komory reakcyjnej, wykrycie błędu dotyczącego integralności sondy odczytnika lub przekroczenie wartości granicznej ciśnienia maksymalnego.
- Komunikat **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku lub gdy nastąpiła awaria zasilania.

### 16.2 Procedura powtórzenia badania

W przypadku wyniku badania **NIEWAŻNY (INVALID)**, **BŁĄD (ERROR)** lub **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** należy użyć nowego kartridża w celu powtórzenia badania próbki, której dotyczy wynik (nie należy ponownie używać tego samego kartridża).

1. Wyjąć nowy kartridż z zestawu.
2. Wykonać procedury, których opis zawiera Sekcja 12. Procedura, w tym Sekcja 12.2. Przygotowywanie kartridża i Sekcja 12.3. Rozpoczynanie badania.

## 17 Ograniczenia

- W celu uniknięcia kontaminacji próbek lub odczynników zalecane jest przestrzeganie dobrych praktyk laboratoryjnych oraz zmienianie rękawiczek między czynnościami obsługi próbek.
- Rzadkie mutacje w obrębie regionu docelowego testu Xpert HBV VL mogą wpływać na wiązanie startera lub sondy, prowadząc do zbyt niskiego wyniku pomiaru ilościowego lub braku wykrycia wirusa.
- Ten test zatwierdzono wyłącznie pod kątem użycia z surowicą i osoczem (EDTA). Badanie innych rodzajów próbek może dawać nieprawidłowe wyniki.
- Wynik ujemny testu nie wyklucza zakażenia wirusem HBV. Dlatego testu Xpert HBV VL nie należy używać jako testu diagnostycznego do potwierdzania obecności zakażenia wirusem HBV.

## 18 Charakterystyka robocza

### 18.1 Granica wykrywalności

Granice wykrywalności (LoD) testu HBV VL określono dla genotypu A wirusa HBV poprzez przetestowanie rozcieńczeń seryjnych 4. wzorca międzynarodowego WHO dla DNA wirusa HBV (kod NIBSC 10/266)<sup>4</sup> rozcieńczonego w osoczu i surowicy (EDTA) ujemnych względem wirusa HBV. Przetestowano panele składające się z sześciu poziomów stężeń i próby ujemnej. Wykorzystano cztery lub trzy serie odczynników odpowiednio dla paneli osocza i surowicy (EDTA). Każdy element panelu był testowany przez trzy dni z 24 replikatami na serię odczytnika. Łącznie przetestowano 96 replikatów na element panelu osocza i 72 replikaty na element panelu surowicy.

Wyniki dla osocza EDTA i surowicy przedstawia Tabela 2. Badanie wykazało, że test Xpert HBV VL wykrywa DNA wirusa HBV w przypadku wzorca międzynarodowego WHO w stężeniu wynoszącym 3,2 IU/ml w osoczu EDTA i przy stężeniu 5,99 IU/ml w surowicy przy współczynniku wyników dodatnich wynoszącym 95% na podstawie regresji probitowej.

**Tabela 2. Granica wykrywalności testu Xpert HBV VL z użyciem 4. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa HBV**

Genotyp	Matryca	Nominalne stężenie HBV (IU/ml)	Liczba prawidłowych powtórzeń	Liczba wyników dodatnich	Odsetek wyników dodatnich (%)	Granica wykrywalności z 95% prawdopodobieństwem na podstawie regresji probitowej (95% przedział ufności)
A	Osocze	10	95	95	100	3,20 IU/ml (2,79–3,60 IU/ml)
		5	96	94	98	
		2,5	96	82	85	
		1,25	96	62	65	
		0,625	96	41	43	
		0	96	0	0	
A	Surowica	10	72	70	97	5,99 IU/ml (5,13–6,86 IU/ml)
		5	72	63	88	
		2,5	72	58	81	
		1,25	72	37	51	
		0,625	71	15	21	
		0	72	0	0	

Granice wykrywalności genotypów B-H wirusa HBV określono poprzez testowanie sześciu lub siedmiu elementów paneli przygotowanych poprzez dodanie dodatnich względem HBV próbek reprezentujących każdy genotyp (genotypy od B do H z międzynarodowego panelu referencyjnego WHO, kod PEI: 5086/08 i próbka kliniczna z genotypem H) do osocza pobranego na EDTA ujemnego względem wirusa HBV. Każdy element panelu testowano w ciągu trzech dni przy użyciu trzech różnych serii odczynników w łącznie 24 replikatach na element. Wyniki przedstawia Tabela 3.

**Tabela 3. Granica wykrywalności dla genotypów od B do H wirusa HBV w osoczu (EDTA)**

Genotyp	LoD 95% na podstawie analizy PROBIT (IU/ml)	95% przedział ufności (IU/ml)
B	1,34	0,98–1,69
C	1,63	1,23–2,03
D	3,96	3,01–4,92
E	3,77	2,76–4,78
F	2,39	1,82–2,96
G	1,21	0,95–1,47
H	3,84	2,91–4,77

Granica wykrywalności genotypów B–H wirusa HBV zweryfikowano w surowicy zgodnie z normą CLSI EP17-A2<sup>10</sup> przy użyciu 24 replikatów. Testowano wyższe stężenie, jeżeli nie uzyskano odsetka wyników dodatnich >85%. Wyniki przedstawia Tabela 4.

**Tabela 4. Weryfikacja LoD dla genotypów B–H w surowicy**

Genotyp	Nominalne stężenie HBV (IU/ml)	Odsetek wyników dodatnich (%)

Genotyp	Nominalne stężenie HBV (IU/ml)	Odsetek wyników dodatnich (%)
B	1,34	88
C	3,25	96
D	3,96	96
E	3,77	96
F	2,39	92
G	1,21	88
H	3,84	100

Wydatność testu HBV VL oceniano również z mutanem w regionie precore poprzez przetestowanie sekwencjonowanych próbek klinicznych HBV w tym dwóch mutacji precore (C1858T i G1896A) oraz dwóch mutacji w podstawowym rdzeniu promotora (BCP, basal core promoter) (A1762T i G1764A), rozcieńczonych do stężenia 10 IU/ml w osoczu (EDTA) i surowicy przy użyciu jednej serii odczynnika. Odsetek wyników dodatnich równy 100% uzyskano dla każdego z 24 replikatów testowanych w każdej macierzy.

## 18.2 Dolna granica oznaczenia ilościowego (LLOQ)

Dolna granica oznaczenia ilościowego (LLOQ) jest zdefiniowana jako najniższe stężenie DNA wirusa HBV, które można zmierzyć ilościowo z akceptowalną precyzją oraz prawdziwością i jest określana z użyciem wartości całkowitego błęd analitycznego (TAE) oraz metody z zastosowaniem różnicy między dwoma pomiarami. LLOQ oceniano przy użyciu czterech niezależnych próbek reprezentujących genotypy A do D wirusa HBV, w osoczu (EDTA) na poziomie bliskim granicy wykrywalności testu. Wszystkie próbki testowano przy użyciu czterech serii odczynników z 8–24 replikatami na serię. TAE oszacowano przy użyciu modelu Westgarda według wytycznej CLSI EP17-A2<sup>10</sup> z kryterium [(błąd systematyczny) + 2 SD ≤ 1 log<sub>10</sub> IU/ml]. Różnica pomiędzy dwoma podejściami pomiarowymi została oceniona przy wykorzystaniu kryterium [(2 x SQRT(2) x SD) ≤ 1 log<sub>10</sub> IU/ml].

Analizy dolnej granicy oznaczenia ilościowego dla każdej próbki przedstawia Tabela 5.

**Tabela 5. Określenie dolnej granicy oznaczenia ilościowego testu Xpert HBV VL**

Genotyp wirusa HBV	Seria	N	Stężenie wirusa HBV (log <sub>10</sub> IU/ml)		Odchylenie	Całkowite SD	Całkowity błąd analityczny <sup>a</sup>	Metoda z zastosowaniem dwóch pomiarów <sup>b</sup>
			Oczekiwana	Obserwowana				
A	1	24	1,00	1,02	0,02	0,20	0,42	0,57
	2	24	1,00	1,05	0,05	0,16	0,37	0,45
	3	24	1,00	0,94	-0,06	0,20	0,46	0,57
	4	23	1,00	1,02	0,02	0,14	0,30	0,40
B	1	16	1,00	1,18	0,18	0,11	0,39	0,30
	2	24	1,00	1,18	0,18	0,17	0,53	0,49
	3	8	1,00	1,17	0,17	0,19	0,54	0,53
	4	8	1,00	1,25	0,25	0,19	0,64	0,55
C	1	16	1,00	1,10	0,10	0,17	0,44	0,47
	2	24	1,00	1,11	0,11	0,22	0,55	0,61
	3	8	1,00	0,83	-0,17	0,24	0,65	0,68
	4	8	1,00	1,01	0,01	0,18	0,36	0,50
D	1	16	1,00	0,81	-0,19	0,28	0,74	0,78



Genotyp wirusa HBV	Seria	N	Stężenie wirusa HBV (log <sub>10</sub> IU/ml)		Odchylenie	Całkowite SD	Całkowity błąd analityczny <sup>a</sup>	Metoda z zastosowaniem dwóch pomiarów <sup>b</sup>
			Oczekiwana	Obserwowana				
	2	24	1,00	0,79	-0,21	0,27	0,75	0,76
	3	8	1,00	0,83	-0,14	0,14	0,42	0,39
	4	8	1,00	0,91	-0,09	0,11	0,31	0,32

<sup>a</sup> Wartość TAE obliczona zgodnie z modelem Westgarda, gdzie  $[TAE = |\text{błąd systematyczny}| + (2 \times SD) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$ , zapewniająca 95% prawdopodobieństwo, że wartość pomiaru będzie się różnić o mniej niż 1 log<sub>10</sub> IU/ml od wartości rzeczywistej.

<sup>b</sup> Metoda z zastosowaniem dwóch pomiarów  $[2 \times (\text{SQRT}(2) \times SD) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$  wskazuje, że różnicę wynoszącą mniej niż 1 log<sub>10</sub> IU/ml można wyjaśnić losowym błędem pomiaru.

Wyniki wskazują, że testu Xpert HBV VL można używać do oceny ilościowej 10 IU/ml DNA wirusa HBV z akceptowalnym poziomem prawdziwości i precyzji.

### 18.3 Precyzja/odtworzalność

Precyzja/odtworzalność testu Xpert HBV VL była oceniana w osoczu z K<sub>2</sub>EDTA przy użyciu analizy wariancji (ANOVA) w celu oszacowania całkowitej wariancji.

Było to wieloosrodkowe (3 ośrodki, 2 zewnętrzne i 1 wewnętrzny) badanie prowadzone metodą ślepej próby mające na celu ocenę głównych składników wariancji testu Xpert HBV VL i obejmowało ośmioelementowy panel zawierający osiem elementów dodatnich względem wirusa HBV. Elementy dodatnie względem wirusa HBV przygotowano poprzez rozcieńczenie dobrze scharakteryzowanego plazmidu wirusa HBV lub próbki klinicznej dodatniej względem HBV w ludzkim osoczu z EDTA. W każdym z trzech ośrodków badawczych dwóch operatorów, jeden z wcześniejszym doświadczeniem w technikach PCR i jeden bez, badał jeden panel w dwóch powtórzeniach, dwa razy dziennie (co jest równoważne ośmiu powtórzeniom na dzień) w ciągu sześciu dni testowania, co dało łącznie 144 powtórzenia na element panelu. Użyto trzech serii kartridży testu Xpert HBV VL, gdzie każda seria była używana podczas dwóch dni badań. Precyzję i odtwarzalność oceniano zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3<sup>11</sup> i CLSI EP15-A3.<sup>12</sup>

Odtwarzalność i precyzję testu Xpert HBV VL oceniono przy pomocy analizy nested ANOVA z warunkami dla: Ośrodek/aparat, Seria, Dzień, Operator/przebieg i W trakcie przebiegu. Obliczono odchylenie standardowe i wartość procentową zmienności spowodowanej każdym elementem składowym względem stężenia HBV przeliczonego na log<sub>10</sub> (patrz Tabela 6).

**Tabela 6. Precyzja/odtworzalność testu Xpert HBV VL**

Stężenie DNA wirusa HBV (Log <sub>10</sub> IU/ml)			Udział w SD całkowitej zmienności (CV%)										Całkowita precyzja	
			Ośrodek/aparat		Seria		Dzień		Operator/nastawienie		W trakcie nastawienia			
Oczekiwana	Obserwowana	N	SD	(%) <sup>a</sup>	SD	(%) <sup>a</sup>	SD	(%) <sup>a</sup>	SD	(%) <sup>a</sup>	SD	(%) <sup>a</sup>	SD	„CV” <sup>b</sup>
9,00	9,13 <sup>c</sup>	144	<0,01	<0,01	0,04	23,4	<0,01	<0,01	0,02	4,9	0,07	71,7	0,08	19,7
8,00	8,17	144	<0,01	<0,01	0,04	26,7	<0,01	<0,01	0,02	5,4	0,06	67,9	0,07	16,9
7,00	7,15	144	0,01	2,2	0,03	12,2	0,01	3,9	<0,01	<0,01	0,07	81,8	0,07	16,8
6,00	6,18	144	<0,01	<0,01	0,04	32,1	0,01	4,3	<0,01	<0,01	0,05	63,6	0,06	14,7
4,70	4,87	144	0,02	4,5	0,03	15,3	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	80,2	0,07	17,1
3,00	3,19	144	<0,01	<0,01	0,03	28,8	<0,01	<0,01	0,02	11,5	0,04	59,7	0,06	13,2
2,00	2,17	144	<0,01	<0,01	0,02	8,6	<0,01	<0,01	0,01	1,0	0,08	90,5	0,08	19,0
1,00	1,13	144	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	11,0	0,01	0,3	0,15	88,8	0,16	37,7

<sup>a</sup> (%) oznacza udział składnika wariancji w ogólnej wartości CV

<sup>b</sup> to wartość CV w rozkładzie logarytmicznie normalnym uzyskana przy pomocy

$$\text{Lognormal CV(\%)} = 100 * \sqrt{10^{(\ln(10) + \sigma_{\log_{10\_data}}^2)} - 1}$$

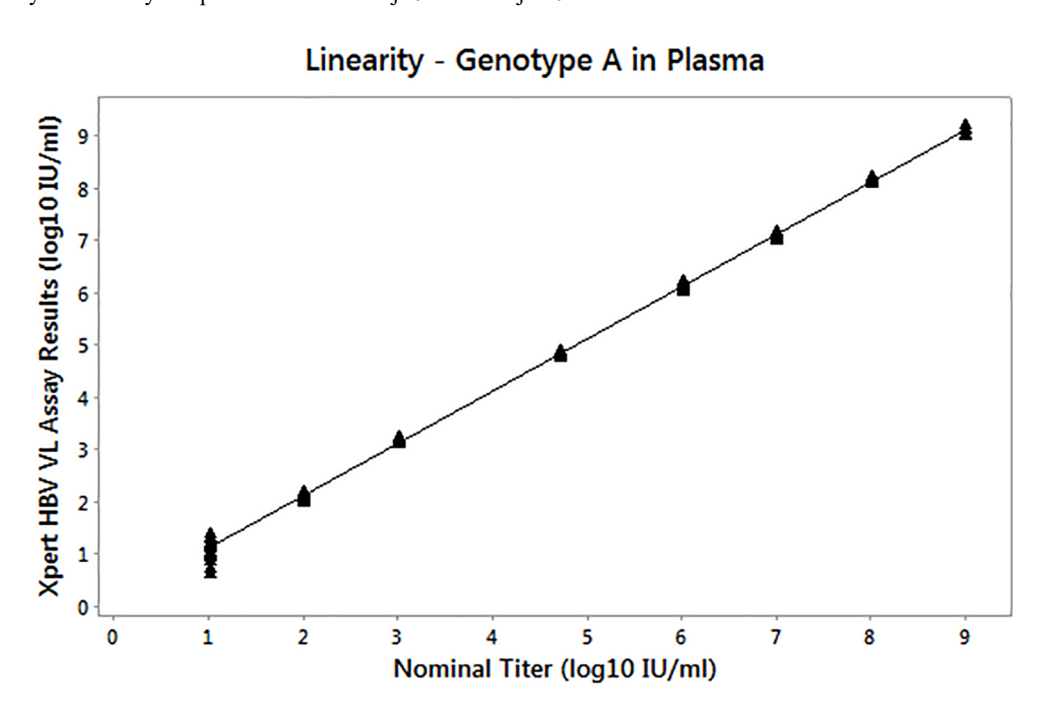
wzoru:

<sup>c</sup> Zaobserwowana wartość wykracza poza zakres oznaczania ilościowego testu Xpert HBV VL.

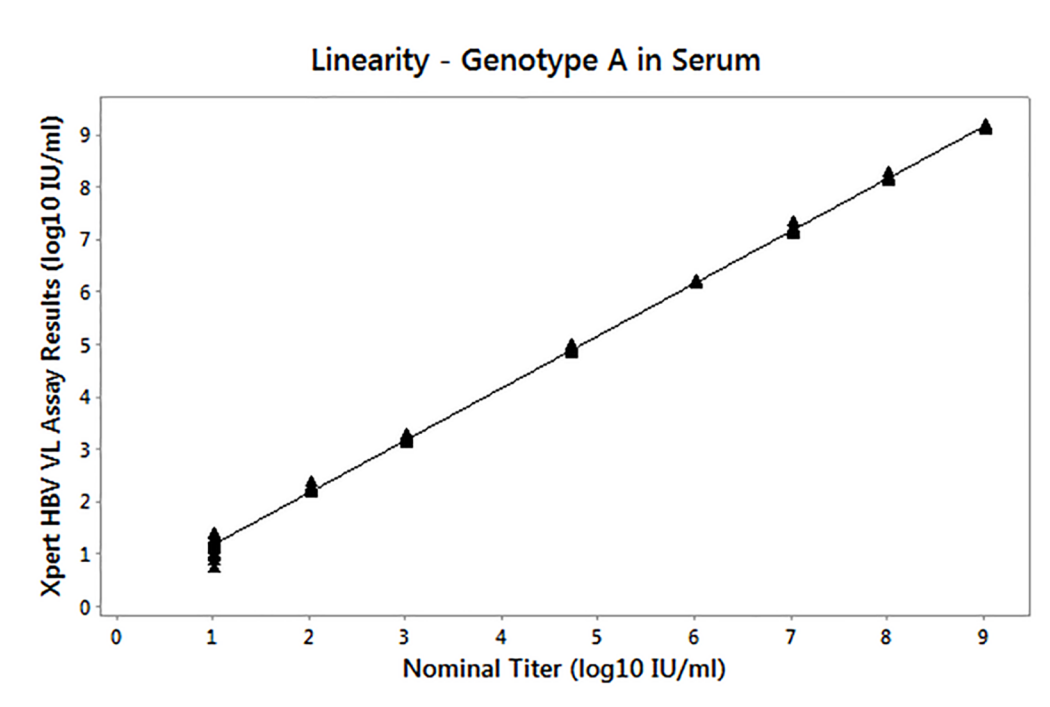
## 18.4 Zakres liniowy

### Genotyp A

Zakres liniowości testu Xpert HBV VL określono poprzez analizę ośmioelementowego panelu obejmującego zakres stężeń HBV od 1,00 – 9,00 log<sub>10</sub> IU/ml. Panele przygotowano poprzez dodanie próbki klinicznej z wirusem HBV o genotypie A lub roztworu roboczego o wysokim mianie DNA plazmidowego wirusa HBV do surowicy i osocza (EDTA) ujemnego pod względem HBV. Każdy element panelu testowano w replikatach po osiem na serię odczynników, z wyjątkiem najniższych rozcieńczeń, które analizowano w replikatach po szesnaście na serię odczynników z wykorzystaniem dwóch serii odczynników. Wyniki przedstawia Ilustracja 9 i Ilustracja 10.



Ilustracja 9. Zakres liniowości dla testu Xpert HBV VL w osoczu (EDTA)



**Ilustracja 10. Zakres liniowości dla testu Xpert HBV VL w surowicy (EDTA)**

#### Genotypy B–H

Aby potwierdzić zakres liniowości, przygotowano panele rozcieńczeń reprezentujące genotypy B do H wirusa HBV obejmujące możliwie jak najszerszy zakres pomiarowy poprzez rozcieńczenie próbki klinicznej reprezentującej każdy genotyp w pobranym na EDTA osoczu ujemnym pod względem wirusa HBV. Elementy panelu analizowano przy użyciu tej samej liczby replikatów, jak w przypadku genotypu A wirusa HBV i przy użyciu jednej serii odczynników.

Zakres liniowości wykazano zgodnie z wytyczną CLSI EP06-A<sup>13</sup> dla genotypów A-H przy  $R^2 > 0,99$ . Test Xpert HBV VL wykazuje liniowość w zakresie 1,00 – 9,00 log<sub>10</sub> IU/ml dla genotypu A i w zakresie testowanym dla genotypów od B do H (patrz Tabela 7).

**Tabela 7. Zakres liniowości dla testu Xpert HBV VL wg genotypu**

Genotyp	Równanie regresji liniowej	R <sup>2</sup>	Testowany zakres liniowości (Log <sub>10</sub> IU/ml)
A (osocza)	$y = 1,005x + 0,093$	0,999	1,00–9,00
A (surowica)	$y = 1,000x + 0,167$	0,999	1,00–9,00
B	$y = 0,998x - 0,027$	0,995	1,00–6,83
C	$y = 0,998x - 0,119$	0,998	1,00–7,69
D	$y = 0,993x + 0,101$	0,998	1,00–7,41
E	$y = 1,010x - 0,149$	0,999	1,00–8,14
F	$y = 0,994x - 0,068$	0,999	1,00–7,96
G	$y = 0,990x + 0,538$	0,999	1,00–8,61
H	$y = 0,991x + 0,122$	0,999	1,00–6,35

## 18.5 Swistość analityczna (wyłącznie)

Swoistość analityczną testu Xpert HBV VL oceniano, dodając drobnoustroje potencjalnie powodujące reakcje krzyżowe w stężeniu  $1 \times 10^6$  CFU/ml w przypadku drobnoustrojów bądź  $1 \times 10^5$  kopii/ml albo TCID<sub>50</sub>/ml w przypadku wirusów, do ujemnego pod kątem HBV osocza z EDTA i surowicy z EDTA zawierających zawierającej około 30 IU/ml materiału referencyjnego HBV (4. międzynarodowy wzorzec HBV, kod NIBSC: 10/266)<sup>4</sup>. Badane drobnoustroje przedstawia Tabela 8. Żaden z badanych drobnoustrojów nie powodował reakcji krzyżowych ani interferencji w oznaczaniu ilościowym przy pomocy testu Xpert HBV VL.

**Tabela 8. Drobnoustroje stosowane w badaniu swoistości analitycznej**

Wirusów		Bakteria	Drożdżaki
Ludzki poliomawirus BK	Ludzki wirus niedoboru odporności typu 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalowirus	Wirus niedoboru odporności człowieka typu 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Wirus Epsteina-Barr	Ludzki wirus brodawczaka typu 16		
Wirus zapalenia wątroby typu A	Ludzki wirus brodawczaka typu 18		
Wirus zapalenia wątroby typu C	Wirus ludzkiej białaczki z komórek T typu 1		
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	Wirus ludzkiej białaczki z komórek T typu 2		
Wirus opryszczki pospolitej typu 2	Wirus ospy wietrznej i pępka		
Ludzki wirus herpes typu 6	Wirus krowianki		
Ludzki wirus herpes typu 8			

## 18.6 Potencjalnie interferujące substancje

Oceniono wrażliwość testu Xpert HBV VL na interferencje powodowane przez podwyższone poziomy substancji endogennych, markery chorób autoimmunologicznych oraz leki przepisywane pacjentom zakażonym wirusem HBV. Działania hamujące oceniano w obecności i nieobecności w przybliżeniu 30 IU/ml materiału referencyjnego DNA HBV (4. międzynarodowy wzorzec WHO dla wirusa HBV, kod NIBSC: 10/266)<sup>4</sup>.

Wykazano, że podwyższone poziomy substancji endogennych, których listę zawiera Tabela 9 nie zakłócają oznaczenia ilościowego testu Xpert HBV VL przy średnim log<sub>10</sub> miana każdej próbki dodatniej pod względem wirusa HBV zawierającej potencjalnie interferujące substancje w zakresie  $\pm 0,10$  log<sub>10</sub> IU/ml kontroli dodatniej. Wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek bez sekwencji docelowej HBV, co wskazuje na brak wpływu na swoistość testu.

### Substancje endogenne

**Tabela 9. Endogenne substancje i badane stężenia**

Substancja	Badane stężenie
Albumina	9 g/dl
Bilirubina	20 mg/dl
Hemoglobina	500 mg/dl
Ludzkie DNA	0,4 mg/dl
Triglicerydy	3000 mg/dl

## Leki

Składniki leków, których listę zawiera Tabela 10, nie powodowały interferencji pomiaru ilościowego testu Xpert HBV VL ani nie wpływały na swoistość testu w przypadku badania trzykrotności szczytowego stężenia w osoczu ( $C_{max}$ ) w obecności i przy nieobecności DNA wirusa HBV.

**Tabela 10. Badane pule leków**

Pula	Leki
1	Zydowudyna, sakwinawir, klarytromycyna, interferon-alfa-2b, rytonawir, obitaswir, parytaprewir, dazabuwir, didanozyna
2	Siarczan abakawiru, fosemprenawir, pegylowany interferon alfa-2a, rybarwiryna, entekawir, dipiwoksyl adefowiru
3	Fumaran dizoproksylu tenofowiru, lamiwudyna, siarczan indynawiru, gancyklowir, chlorowoderek walgancyklowiru, acyklowir, paroksetyna, telbiwudyna
4	Stawudyna, efawirenz, lopinawir, enfuwirtyd, fluoksetyna, cyprofloksacyna
5	Newirapina, nelfinawir, azytromycyna, walacyklowir, sertralina, tefenowir, alafenamid

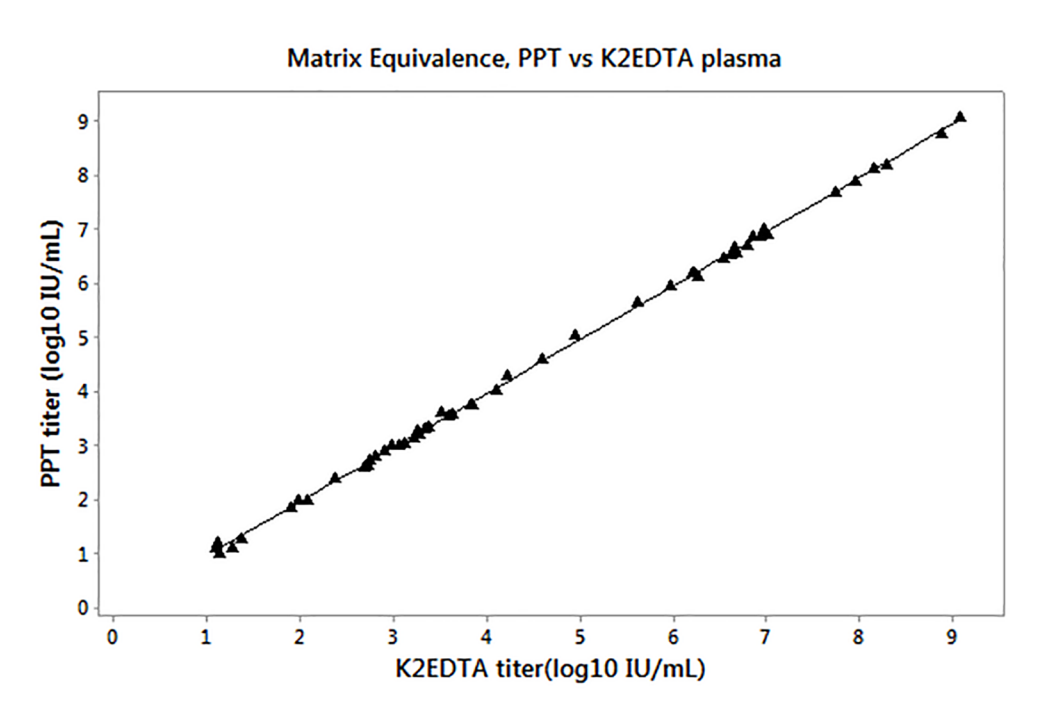
## Markery chorób autoimmunologicznych

W badaniach próbek osocza  $K_2EDTA$  pobranych od pięciu osób dodatnich względem markerów chorób autoimmunologicznych toczenia rumieniowatego układowego (SLE), przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) lub czynnika reumatoidalnego (RF) nie wykazano interferencji z testem Xpert HBV VL. Średnia wartość  $\log_{10}$  stężeń próbek, do których dodano DNA wirusa HBV zawierała się w obrębie  $\pm 0,10 \log_{10}$  IU/ml kontroli dodatniej. Wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek bez sekwencji docelowej HBV, co wskazuje na brak wpływu na swoistość testu.

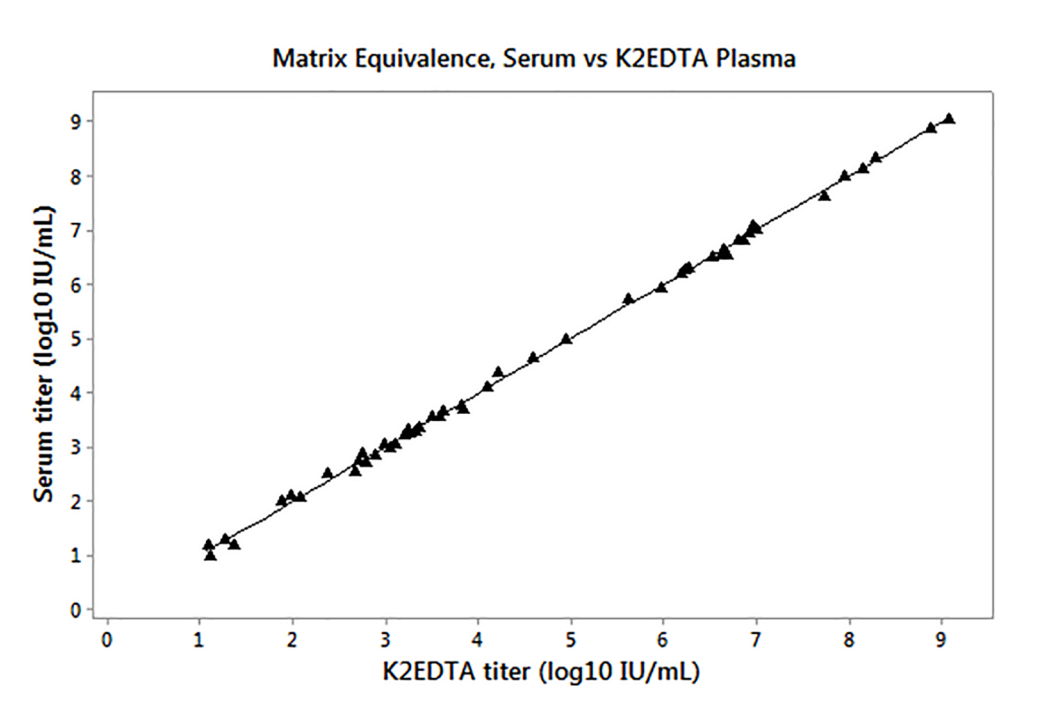
## 18.7 Równoważność macierzy (osocze $K_2$ EDTA, PPT-EDTA i surowica)

Badanie równoważności macierzy testu Xpert HBV VL przeprowadzono z 32 dopasowanymi próbkami klinicznymi dodatnimi względem wirusa HBV i 23 dopasowanymi próbkami klinicznymi ujemnymi pod kątem wirusa HBV pobranymi do próbek na osocze z  $K_2EDTA$  oraz na osocze i surowicę z PPT-EDTA. Do 23 dopasowanych próbek klinicznych ujemnych względem wirusa HBV dodano materiał dodatni względem wirusa HBV i pochodzący z próbek klinicznych, reprezentujący genotypy od B do G wirusa HVB oraz DNA plazmidowe z ekspresją sekwencji docelowej genotypu A wirusa HBV z mianami w obrębie całego zakresu liniowości.

Wykazano równoważność macierzy w testowanych próbkach, co przedstawia Ilustracja 11 i Ilustracja 12.



Ilustracja 11. Wykres regresji liniowej dla osocza PPT-EDTA vs osocze K<sub>2</sub>EDTA



Ilustracja 12. Wykres regresji liniowej dla surowicy vs osocze K<sub>2</sub>EDTA

Wyniki wskazują, że test Xpert HBV VL ma równoważną wydajność w próbkach osocza na K<sub>2</sub>-EDTA, osocza i surowicy na PPT-EDTA w przypadku próbek w zakresie w przybliżeniu 1,0-9,0 log<sub>10</sub> IU/ml.

## 18.8 Awaryjność całego systemu

Wskaźnik awaryjności całego systemu dla testu HBV VL określono, badając 100 powtórzeń osocza EDTA z dodatkiem 4. międzynarodowego wzorca WHO DNA wirusa HBV (kod NIBSC: 10/266)<sup>4</sup>, próbka z genotypem A. Próbkę z dodatkiem te były testowane przy stężeniu docelowym wynoszącym około  $3 \times \text{LLOQ}$  (30 IU/ml).

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono ważność i dodatniość względem sekwencji docelowej wirusa HBV, co dało częstość występowania wskaźnika awaryjności całego systemu na poziomie 0,0%

## 18.9 Kontaminacja przenoszona

Bezpośrednio po przetestowaniu próbki ujemnej względem HBV oznaczono w tym samym aparacie GeneXpert próbkę dodatnią o wysokim mianie HBV ( $>1 \times 10^7$  IU/ml). Procedurę powtórzono dwadzieścia (20) razy w dwóch modułach. Współczynnik przenoszenia dla testu Xpert HBV VL wyniósł 0%.

## 19 Skuteczność kliniczna

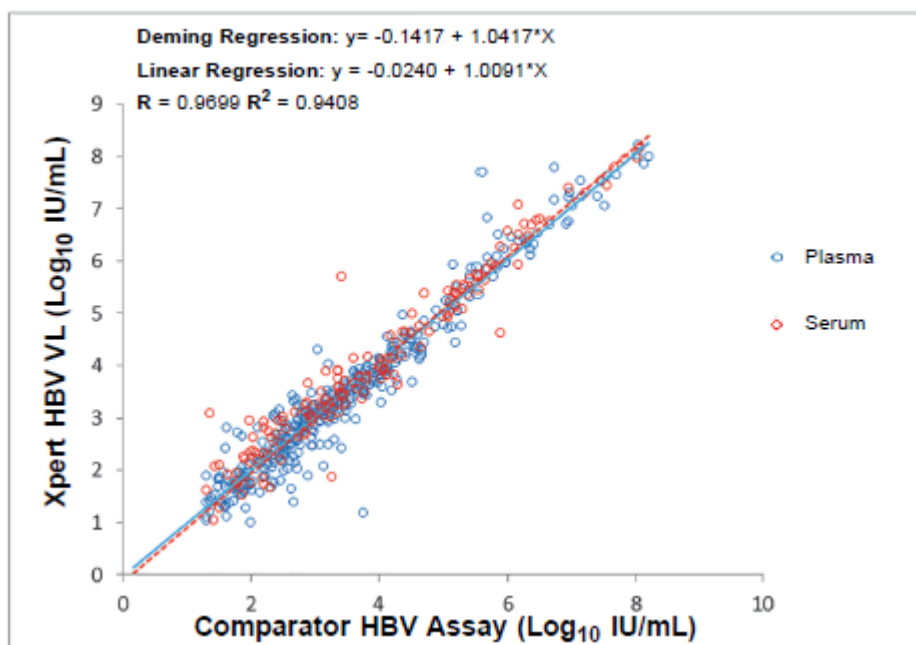
### 19.1 Swoistość u zdrowych dawców krwi

Swoistość testu Xpert HBV VL oceniono z użyciem 99 próbek surowicy i 100 próbek osocza (EDTA) pobranych od dawców z wynikami ujemnymi pod kątem wirusa HBV. Swoistość testu Xpert HBV VL wyniosła 100,0% [95% CI: 98,1-100,0 (199/199)].

### 19.2 Korelacja metod

Przeprowadzono wieloosrodkowe badanie mające na celu ocenę skuteczności testu Xpert HBV VL w porównaniu do ilościowej metody porównawczej badającej DNA wirusa HBV z wykorzystaniem pozostałych w ramach standardowej opieki próbek surowicy i osocza (EDTA) pobranych od osób zakażonych wirusem HBV.

Z 876 kwalifikujących się pacjentów, 351 (40,1%) to kobiety, a 489 (55,8%) to mężczyźni. Średni wiek uczestników wynosił  $47,2 \pm 15,9$  roku, a zakres — od 18 do 89 lat. Spośród tych 876 próbek 560 znajdowało się w zakresie oznaczenia ilościowego testu HBV VL i testu porównawczego. Wynik regresji Deminga oraz prostej regresji liniowej przedstawia Ilustracja 13.



Ilustracja 13. Korelacja testu Xpert HBV VL i metody porównawczej przy stosowaniu próbek surowicy i osocza (EDTA)

## 20 Piśmiennictwo

1. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. Marzec 2015 r. Dostęp z 14 marca 2018 r. pod adresem: <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepat.* 2012; 57:167-185. Dostępne pod adresem: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. Światowa Organizacja Zdrowia. Global hepatitis report, 2017. WHO. Kwiecień 2017 r.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (kod NIBSC: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Dokument M29 (patrz najnowsze wydanie).
7. Światowa Organizacja Zdrowia Safe management of wastes from health-care activities. wyd. 2. WHO, 2014. Dostęp z 20 kwietnia 2018 r. pod adresem [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/wastemanag/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/).
8. ROZPORZĄDZENIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (WE) NR 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające listę zwrotów wskazujących środki ostrożności, dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE (zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 marca 2012 r.) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline – Third Edition*. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.



## 21 Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

### Siedziba główna firmy

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefon: + 1 408 541 4191  
Faks: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Siedziba główna w Europie

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefon: + 33 563 825 300  
Faks: + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 22 Wsparcie techniczne

Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid, należy przygotować następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikaty o błędach (jeśli występują)
- Wersja oprogramowania i numer znacznika serwisowego komputera (w odpowiednim przypadku)

### Informacje kontaktowe

USA

Telefon: + 1 888 838 3222

E-mail: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)


















Francja

Telefon: + 33 563 825 319

E-mail: [support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)

Dane kontaktowe wszystkich centrów wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie internetowej:  
[www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

## 23 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Nie używać ponownie
	Kod partii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do przeprowadzenia <i>n</i> testów
	Kontrola
	Data ważności
	Oznaczenie CE — zgodność z normami europejskimi
	Ograniczenie temperatury
	Zagrożenia biologiczne
	Przeostoga
	Ostrzeżenie
	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii
	Importer



Cepheid AB  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna,  
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH  
Zürcherstrasse 66  
Postfach 124, Thalwil  
CH-8800  
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH  
Zürcherstrasse 66  
Postfach 124, Thalwil  
CH-8800  
Switzerland

