

Xpert[®] HBV Viral Load

REF GXHBV-VL-CE-10

Návod k použití

CE 2797 **IVD**

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] a Xpert[®] jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

NÁKUPEM TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘEVODITELNÉ PRÁVO PRODUKT POUŽÍVAT V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. NEPŘEVÁDÍ SE ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA, A TO VÝSLOVNĚ, NEPŘÍMO ANI PODLE ZÁSADY ESTOPPEL. DÁLE SE S PRODEJEM TOHOTO PRODUKTU NEPŘEVÁDÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA OPAKOVANÝ PRODEJ.

© 2018–2023 Cepheid.

Popis změn viz Historie revizí.

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] 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.

See Revision History for a description of changes.

Xpert[®] HBV Viral Load

Pro diagnostické použití *in vitro*.

1 Vlastnický název

2 Běžný nebo obvyklý název

3 Určené použití

Test Cepheid (VL) je amplifikační test nukleových kyselin *in vitro* navržený pro kvantifikaci DNA viru hepatitidy B (HBV) v lidském séru nebo plazmě (EDTA) jedinců chronicky infikovaných HBV, který se provádí pomocí automatizovaných systémů GeneXpert[®].

Test je určen k použití společně s klinickými projevy a dalšími laboratorními markery jako indikátor prognózy onemocnění a jako pomůcka při hodnocení virové odpovědi na antivirovou léčbu, což se měří změnami hladin DNA HBV v séru nebo plazmě.

Test není určený ke screeningu dárců na HBV ani jako diagnostický test pro potvrzení přítomnosti infekce HBV.

Určenou populací pacientů jsou dospělí lidé chronicky infikovaní HBV, kterým byl HBV již dříve diagnostikován.

4 Souhrn a vysvětlení

Virus hepatitidy B (HBV) je malý obalený DNA vir z čeledi Hepadnaviridae a je zodpovědný za akutní a chronickou hepatitidu HBV. Vir má malý kruhový DNA genom, který je částečně dvouvláknový, částečně jednovláknový a má průměr 42 nm. HBV obsahuje mnoho antigenních komponent, mezi které patří povrchový antigen viru hepatitidy B (HBsAg), jádrový antigen viru hepatitidy B (HBcAg) a e antigen viru hepatitidy B (HBeAg). HBV se přenáší kontaktem podkoží nebo sliznice s krví nebo tělesnými tekutinami infikovaného jedince, z infikované matky na novorozence, blízkým kontaktem v domácnosti, krevní transfuzí bez screeningu nebo závažnými injekcemi ve zdravotnickém prostředí, injekčním užíváním drog a pohlavním stykem s infikovanou osobou.

Chronická hepatitida B (CHB) se může vyskytovat buď jako CHB pozitivní, nebo negativní na e antigen viru hepatitidy B (HBeAg). Většově specifická séroprevalence HBsAg se v různých geografických regionech výrazně liší. Nejvyšší prevalence (> 5 %) je v subsaharské Africe, východní Asii, některých částech balkánské oblasti, Tichomořských ostrovech a povodí Amazonky v Jižní Americe. Prevalence pod 2 % je v oblastech, jako střední Latinská Amerika, Severní Amerika a západní Evropa. Celkově téměř polovina populace na celém světě žije v oblastech s vysokou endemicitou.¹ Morbidita a mortalita CHB jsou spojeny s perzistentní replikací viru a rozvojem cirhózy a/nebo hepatocelulárního karcinomu (HCC).² Mortalita virové hepatitidy se v průběhu času zvýšila, a pokud nebudou lidé diagnostikováni a léčeni, bude se zvyšovat i nadále.³

K dispozici je vakcína proti HBV pro kojence, která značně snížila počet nových chronických infekcí, ale proočkovanost je pouze 39 %.³ V roce 2015 žilo s chronickou infekcí HBV 3,5 % světové populace, přičemž nejhůře postižené oblasti byly regiony západního Pacifiku a Afriky.³ Pouze 9 % lidí s HBV znalo svoji diagnózu a pouze 8 % z nich se léčilo.³ Pro lidi způsobilé k léčbě se doporučují analogy nukleosidů a nukleotidů, jako tenofovir a entekavir, protože tato antivirotika účinně potlačují replikaci HBV, čímž zabraňují rozvoji cirhózy a snižují počet úmrtí souvisejících s játry.¹ Léčba HBV probíhá po celý život.¹

5 Princip postupu

Test Xpert® HBV VL je automatizovaný test pro kvantitativní detekci viru hepatitidy B. Test se provádí na přístrojových systémech Cepheid GeneXpert a GeneXpert Infinity.

Přístrojové systémy GeneXpert automatizují a integrují purifikaci vzorku, amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílové sekvence v jednoduchých nebo komplexních vzorcích pomocí PCR v reálném čase. Systémy sestávají z přístroje, osobního počítače a předem načteného softwaru pro zpracování testů a zobrazování výsledků. Systémy vyžadují použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují reagenty PCR a ve kterých probíhají procesy purifikace a PCR. Protože kazety jsou uzavřené a soběstačné, minimalizuje se tak zkřížená kontaminace mezi vzorky. Plný popis systémů naleznete v příslušné *Příručce obsluhy pro GeneXpert Dx (GeneXpert Dx Operator Manual)* nebo *Příručce obsluhy pro GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity Operator Manual)*.

Test Xpert® HBV VL obsahuje reagenty pro detekci DNA HBV ve vzorcích a dvě vnitřní kontroly, které slouží ke kvantifikaci DNA HBV. Vnitřní kontroly se používají také k adekvátnímu zpracování cíle a k monitorování přítomnosti inhibitorů v PCR reakcích. Kontrolní systém sondy (PCC) ověřuje rehydrataci reagenty, plnění PCR zkumavky v kazetě, neporušenost sondy a stabilitu barviva.

Test je standardizován oproti 4. mezinárodnímu standardu Světové zdravotnické organizace (WHO) pro DNA HBV pro technologie amplifikace nukleových kyselin (kód NIBSC: 10/266).⁴

6 Reagencie a přístroje

6.1 Dodané materiály

Souprava testu HBV VL obsahuje dostatečné množství reagentů pro zpracování 10 vzorků a/nebo vzorků pro kontrolu kvality. Obsah soupravy:

Kazety HBV VL s integrovanými reakčními zkumavkami	10
<ul style="list-style-type: none"> • Perlička 1, perlička 2 a perlička 3 (sušená mrazem) • Lyzační reagentie (guanidinium thiokyanát) • Proplachovací reagentie • Eluční reagentie • Vázací reagentie • Reagentie proteináza-K 	1 od každé v každé kazetě 1,7 ml v každé kazetě 0,5 ml v každé kazetě 1,5 ml v každé kazetě 1,5 ml v každé kazetě 0,48 ml v každé kazetě
Jednorázové 1ml přenosové pipety	10 v každé soupravě
CD	1 v každé soupravě
<ul style="list-style-type: none"> • Soubor definice analýzy (ADF) • Pokyny k importu souboru ADF do softwaru GeneXpert a Infinity • Návod k použití (příbalová informace) 	

Poznámka Bezpečnostní listy (SDS) jsou k dispozici na adrese www.cepheid.com nebo www.cepheidinternational.com na kartě **PODPORA (SUPPORT)**.

Poznámka Hovězí sérový albumin (BSA) v perličkách v tomto produktu byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států amerických. Zvířata nebyla krmena bílkovinami pocházejícími z přežvýkavců či jiných zvířat; zvířata prošla testy ante-mortem i post-mortem. V průběhu zpracování nedocházelo k žádnému směšování materiálů s jinými zvířecími materiály.

7 Skladování a manipulace

- Kazety můžete skladovat při teplotě 2–35 °C až do data expirace uvedeného na štítku.
- Pokud byly kazety skladovány v chladu, před testem je vytemperujte na pokojovou teplotu.
- Nepoužívejte kazety s prošlým datem expirace.
- Víko kazety neotevírejte, pokud nejste připraveni k provedení testu.
- Nepoužívejte kazetu, která vytekla.

8 Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

- Přístrojový systém GeneXpert® Dx nebo přístrojový systém GeneXpert® Infinity (katalogová čísla se liší podle konfigurace): Přístroj GeneXpert, počítač s chráněným softwarem GeneXpert verze 4.7b nebo vyšší (systémy GeneXpert Dx) či Xpertise 6.4b nebo vyšší (Infinity-80/Infinity-48s), čtečka čárových kódů a příslušná příručka obsluhy k přístrojovému systému GeneXpert.
- Tiskárna: Pokud potřebujete tiskárnu, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid a sjeďte si nákup doporučené tiskárny.
- Chlorové bělidlo (chlornan sodný)
- Denaturovaný etanol

9 Varování a bezpečnostní upozornění

9.1 Obecně

- Pro diagnostické použití *in vitro*.
- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet, zacházejte jako s potenciálně schopnými přenosu infekčních agens. Protože často není možné vědět, které vzorky mohou být infekční, se všemi biologickými vzorky je třeba zacházet se standardními bezpečnostními opatřeními. Pokyny pro manipulaci se vzorky jsou k dispozici od center pro kontrolu a prevenci onemocnění v USA⁵ (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) a od Institutu pro klinické a laboratorní standardy (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁶
- Při manipulaci se vzorky se doporučuje správná laboratorní praxe, včetně výměny rukavic mezi vzorky, aby se zabránilo kontaminaci vzorků nebo reagensů.
- Při práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky dodržujte bezpečnostní postupy vašeho zdravotnického zařízení.
- Nenahrazujte reagentie testu jinými reagentii.
- Víko kazety testu neotevírejte, dokud nejste připraveni přidat vzorek.
- Nepoužívejte kazetu, která po vyjmutí z obalu upadla.
- S kazetou netřepejte. Třesení nebo upuštění kazety po otevření víka může způsobit neplatné výsledky.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.
- Nezakrývejte štítek s čárovým kódem na kazetě.
- Vzorek do kazety přidávejte přenosovou pipetou nebo přesnou pipetou. Nelijte vzorek do kazety přímo z odběrového zařízení.
- Každá jednorázová kazeta se používá ke zpracování jednoho testu. Kazety nepoužívejte opakovaně.
- Každá jednorázová pipeta se používá k přenosu jednoho vzorku. Použité jednorázové pipety nepoužívejte opakovaně.
- Noste čistý laboratorní plášť a rukavice. Mezi zpracováními každého vzorku si vyměňte rukavice.
- V případě kontaminace pracovní plochy nebo vybavení vzorky nebo kontrolami důkladně vyčistěte kontaminovanou oblast čerstvě připraveným roztokem 0,5% chlornanu sodného (nebo roztokem chlorového bělidla pro domácnost v poměru 1:10). Poté povrch otřete 70% etanolem. Dříve, než budete pokračovat, nechte pracovní povrchy zcela uschnout.
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je nutné považovat za schopné přenosu infekčních agens a vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagensů dodržujte postupy vašeho zdravotnického zařízení pro ekologickou likvidaci odpadu. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky chemického nebezpečného odpadu vyžadujícího dodržování specifických národních nebo regionálních postupů pro likvidaci. Pokud národní nebo regionální předpisy neobsahují jasné pokyny ke správné likvidaci, biologické vzorky a použité kazety je třeba likvidovat podle pokynů Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) k manipulaci se zdravotnickým odpadem a k jeho likvidaci.⁷
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je nutné považovat za schopné přenosu infekčních agens a vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagensů dodržujte postupy vašeho zdravotnického zařízení pro ekologickou likvidaci odpadu. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky chemického nebezpečného odpadu vyžadujícího dodržování specifických národních nebo regionálních postupů pro likvidaci. Pokud národní nebo regionální předpisy neobsahují jasné pokyny ke správné likvidaci, biologické vzorky a použité kazety je třeba likvidovat podle pokynů Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) k manipulaci se zdravotnickým odpadem a k jeho likvidaci.⁷
- Před přechodem z jedné technologie na druhou doporučuje společnost Cepheid, aby uživatelé ve své laboratoři provedli studie korelace metod za účelem kvalifikace technologických rozdílů.

10 Chemická nebezpečí^{8,9}

Lyzační reagentie (guanidinium thiokyanát)

- Signální slovo: VAROVÁNÍ
- Věty o nebezpečnosti podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN
 - Zdraví škodlivý při požití
 - Způsobuje mírné podráždění pokožky
 - Způsobuje podráždění očí
- Pokyny pro bezpečné zacházení podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN

- **Prevence**
 - Po manipulaci důkladně omyjte.
- **Reakce**
 - Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
 - PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
 - Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
 - Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.

11 Odběr, přeprava a skladování vzorků

Plná krev musí být odebrána do odběrových zkumavek s K₂-EDTA nebo PPT-EDTA nebo odběrových zkumavek na sérum a odstředěna kvůli separaci plazmy/séra od červených krvinek dle pokynů výrobce.

- Pro test je vyžadováno minimálně 0,6 ml plazmy nebo séra. Pokud používáte přenosovou pipetu dodanou se soupravou, musí být naplněna plazmou nebo sérem po čtvrtou značku (1,0 ml). Alternativně, pokud používáte přesnou pipetu, je vyžadováno 0,6 ml plazmy nebo séra. Viz pokyny, které uvádí Část 12.2, možnost 1, respektive možnost 2.
- Plnou krev lze před přípravou plazmy/séra uchovávat při teplotě 2–35 °C po dobu až 24 hodin nebo při teplotě 2–8 °C po dobu až 3 dní. Odstředování se musí provádět podle pokynů výrobce.
- Plnou krev lze před přípravou plazmy/séra uchovávat při teplotě 2–35 °C po dobu až 24 hodin nebo při teplotě 2–8 °C po dobu až 72 hodin. Odstředování se musí provádět podle pokynů výrobce.
- Odstředěnou a separovanou plazmu a sérum lze před testováním uchovávat při teplotě 2–35 °C po dobu až 24 hodin nebo při teplotě 2–8 °C po dobu až 7 dní.
- Zmrazené vzorky plazmy a séra (-80 až -20 °C) jsou stabilní po dobu 6 týdnů.
- Vzorky plazmy a séra jsou stabilní po tři cykly zmrazení a rozmrazení.
- Vzorky plazmy a séra musí být před přenosem do kazety rozmrazeny a vytemperovány na pokojovou teplotu.
- Přeprava vzorků plné krve, plazmy nebo séra musí splňovat předpisy země a státní, federální a místní předpisy pro přepravu etiologických agens.

12 Postup

12.1 Příprava vzorku

Důležité Test zahajte do 30 minut od přidání vzorku do kazety.

Poznámka Test zahajte do 4 hodin od přidání vzorku do kazety.

1. Po centrifugaci vzorků plné krve můžete napipetovat plazmu přímo do kazety. Pro získání platných výsledků testu je zásadní dostatečný objem (viz pokyny, Část 12.2. Příprava kazety).
2. Zmrazené vzorky před použitím nechte při pokojové teplotě (20–35 °C), dokud zcela nerozmrzou a nevytemperují se na pokojovou teplotu.
3. Vzorky plazmy a séra skladované při teplotě 2–8 °C je potřeba před použitím vyjmout z chladničky a vytemperovat je na pokojovou teplotu.
4. Vzorky plazmy, které byly skladovány při teplotě 2–8 °C nebo zmrazeny a rozmrazeny, je potřeba před použitím promíchat na vortexu po dobu 10 sekund. Pokud je vzorek kalný, pročistěte ho rychlým odstředěním.

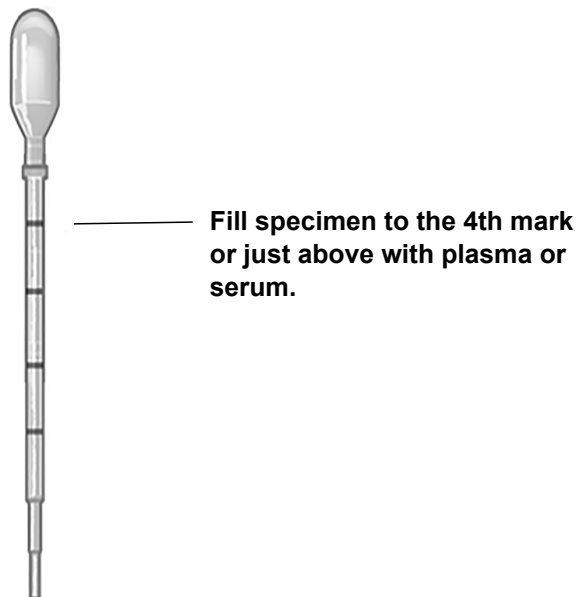
12.2 Příprava kazety

Důležité Test zahajte do 30 minut od přidání vzorku do kazety.

1. Noste ochranné jednorázové rukavice.
2. Pokud byly kazety skladovány v chladu, před testem je vytemperujte na pokojovou teplotu.
3. Zkontrolujte, zda kazeta není poškozená. Poškozené kazety nepoužívejte.

4. Označte kazetu štítkem s identifikací vzorku.
5. Otevřete víko kazety.
6. Přidejte vzorek do kazety.
 - **Možnost 1:** Pokud používáte přenosovou pipetu dodanou se soupravou (viz Obrázek 1), naplňte ji plazmou nebo sérem z odběrové zkumavky po čtvrtou značku (1,0 ml) nebo mírně nad ni. Vyprázdněte obsah pipety do vzorkové komory kazety (viz Obrázek 2).
 - **Možnost 2:** Pokud používáte přesnou pipetu, přeneste 0,6 ml plazmy nebo séra z odběrové zkumavky do vzorkové komory kazety (viz Obrázek 2).

Poznámka Neodstraňujte tenkou plastovou fólii, která zakrývá vnitřní prsteneček 13 portů kazety.



Fill specimen to the 4th mark or just above with plasma or serum.

Obrázek 1. Přenosová pipeta testu

7. Zavřete víko kazety. Ujistěte se, že víko pevně zapadne na místo.

Obrázek 2. Kazeta (pohled shora)

12.3 Spuštění testu

Důležité Před spuštěním testu se ujistěte, že do softwaru byl importován soubor definice analýzy Xpert HBV VL.

Důležité Před spuštěním testu se ujistěte, že do softwaru byl importován soubor ADF analýzy Xpert HBV VL.

Tato část uvádí základní kroky při zpracování testu. Podrobné pokyny viz *Příručka obsluhy systému GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* nebo *Příručka obsluhy systému GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*, v závislosti na modelu použitého přístroje.

Poznámka Postup se může lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Zapněte přístrojový systém GeneXpert:
 - Pokud používáte přístroj GeneXpert Dx, nejprve zapněte přístroj GeneXpert Dx a poté počítač. Software GeneXpert Dx se spustí automaticky nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu zástupce softwaru GeneXpert Dx na pracovní ploše systému Windows®.
- nebo

- Pokud používáte přístroj GeneXpert Infinity, zapněte přístroj. Software GeneXpert se spustí automaticky, nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu zástupce softwaru Xpertise na pracovní ploše systému Windows®.
2. Pomocí svého uživatelského jména a hesla se přihlaste do softwaru systému přístroje GeneXpert.
 3. V okně systému GeneXpert klikněte na **Vytvořit test (Create Test)** (GeneXpert Dx) nebo na **Objednávky (Orders)** a **Objednat test (Order Test)** (Infinity). Otevře se okno **Vytvořit test (Create Test)**.
 4. Naskenujte ID pacienta (Patient ID) (volitelné). Pokud ID pacienta (Patient ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID pacienta (Patient ID) se zobrazuje na levé straně okna Zobrazit výsledky (View Results) a je spojeno s výsledky testu.
 5. Naskenujte nebo zadejte ID vzorku (Sample ID). Pokud zadáváte ID vzorku (Sample ID), dbejte, aby bylo zadáno správně. ID vzorku (Sample ID) se zobrazuje na levé straně okna Zobrazit výsledky (View Results) a je spojeno s výsledky testu.
 6. Naskenujte čárový kód kazety testu Xpert HBV VL. Pomocí informací z čárového kódu software automaticky vyplní následující pole: ID šarže reagentie (Reagent Lot ID), Sériové číslo kazety (Cartridge SN) a Datum expirace (Expiration Date).

Poznámka Pokud se čárový kód na kazetě testu Xpert HBV VL naskenuje, opakujte test s novou kazetou.

7. Klikněte na **Zahájit test (Start Test)** (GeneXpert Dx) nebo na **Odeslat (Submit)** (Infinity). Do zobrazeného dialogového okna zadejte své heslo.
8. U systému GeneXpert Infinity vložte kazetu na pás přepravníku. Kazeta se založí automaticky, proběhne test a použitá kazeta vypadne do odpadové nádoby.

nebo

U přístroje GeneXpert Dx:

- a) Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a založte kazetu.
- b) Zavřete dvířka. Spustí se test a zelené světlo přestane blikat. Po dokončení testu světlo zhasne.
- c) Před otevřením dvířek modulu a vyjmutím kazety počkejte, až systém uvolní zámek dvířek.
- d) Použité kazety zlikvidujte do vhodné odpadové nádoby na vzorky podle standardní praxe vašeho zdravotnického zařízení.

13 Zobrazení a tisk výsledků

Tato část uvádí základní kroky při zobrazení a tisku výsledků. Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků viz *Příručka obsluhy systému GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* nebo *Příručka obsluhy systému GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)* v závislosti na modelu použitého přístroje.

1. Výsledky zobrazíte kliknutím na ikonu **Zobrazení výsledků (View Results)**.
2. Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Zpráva (Report)** v okně **Zobrazení výsledků (View Results)** pro zobrazení a/nebo vytvoření PDF souboru zprávy.

14 Kontrola kvality

Každý test obsahuje kontrolu adekvátnosti objemu vzorku (Sample Volume Adequacy, SVA), vysoký a nízký vnitřní kvantitativní standard (Internal Quantitative Standard, IQS-H a IQS-L), parametry specifické pro šarži (Lot Specific Parameters, LSP) a kontrolní systém sondy (Probe Check Control, PCC).

- **Kontrola adekvátnosti objemu vzorku (SVA)** – Zajišťuje, že byl vzorek správně přidán do kazety. SVA ověřuje, že do vzorkové komory byl přidán správný objem vzorku. SVA vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti. Jestliže SVA nevyhovuje, zobrazí se buď **Chyba 2096 (Error 2096)**, pokud nebyl do kazety přidán žádný vzorek, nebo **CHYBA 2097 (ERROR 2097)**, pokud do kazety nebylo přidáno dostatečné množství vzorku. Systém nedovolí uživateli pokračovat v testu.
- **Vysoký a nízký vnitřní kvantitativní standard (IQS-H a IQS-L)** – IQS-H a IQS-L jsou dva linearizované plazmidy se sekvencí nesouvisející s HBV, které jsou obsaženy v každé kazetě a procházejí celým testovacím procesem. Toto jsou standardy, pomocí kterých se počítá koncentrace DNA HBV ve vzorku. Kromě toho IQS-H a IQS-L detekují inhibiči PCR v reálném čase spojenou se vzorkem, čímž fungují jako kontroly zpracování vzorku. IQS-H a IQS-L vyhovují, pokud splňují validovaná kritéria přijatelnosti.

- **Parametry specifické pro šarži (LSP) pro kvantifikaci** – Každá šarže soupravy má zabudované LSP generované z kalibračního panelu HBV s návazností na 4. mezinárodní standard WHO pro HBV (kód NIBSC 10/266)⁴ a IQS-H a IQS-L. LSP jsou jedinečné pro šarži reagensů a používají se k zajištění správné kvantifikace.
- **Kontrolní systém sondy (PCC)** – Před zahájením PCR reakce měří přístrojový systém GeneXpert fluorescenční signál ze sond a monitoruje tak rehydrataci perliček, plnění reakční zkumavky, neporušenost sondy a stabilitu barviva. PCC vyhovuje, pokud fluorescenční signály splňují validovaná kritéria přijatelnosti.
- **Externí kontroly** – Externí kontroly, kteřé nejsou součástí soupravy, by se v příslušných případech měly používat dle správné laboratorní praxe v souladu s požadavky místních a státních akreditačních organizací.

15 Interpretace výsledků

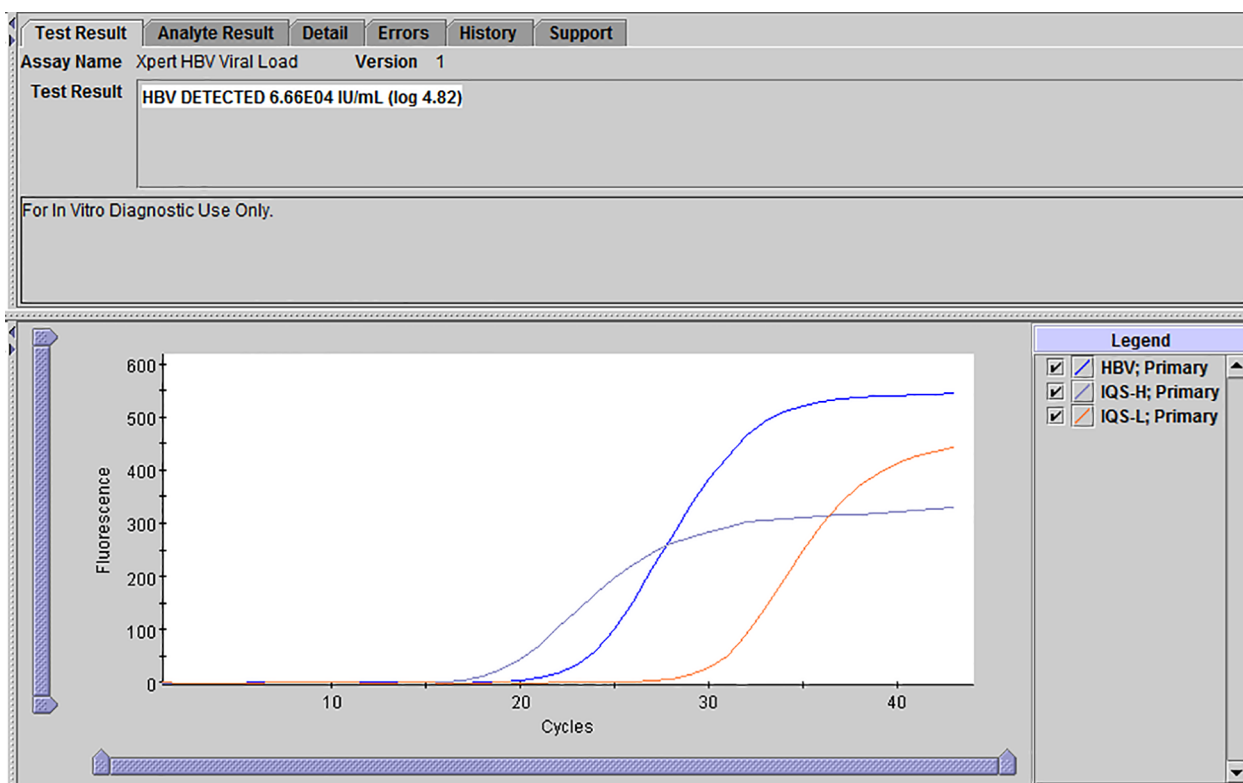
Výsledky jsou interpretovány automaticky přístrojovým systémem GeneXpert z naměřených fluorescenčních signálů a vložených výpočetních algoritmů a zobrazují se v okně Zobrazení výsledků (View Results) (viz Obrázek 3 až Obrázek 8). Možné výsledky uvádí Tabulka 1.

Tabulka 1. Výsledky a interpretace testu Xpert HBV VL

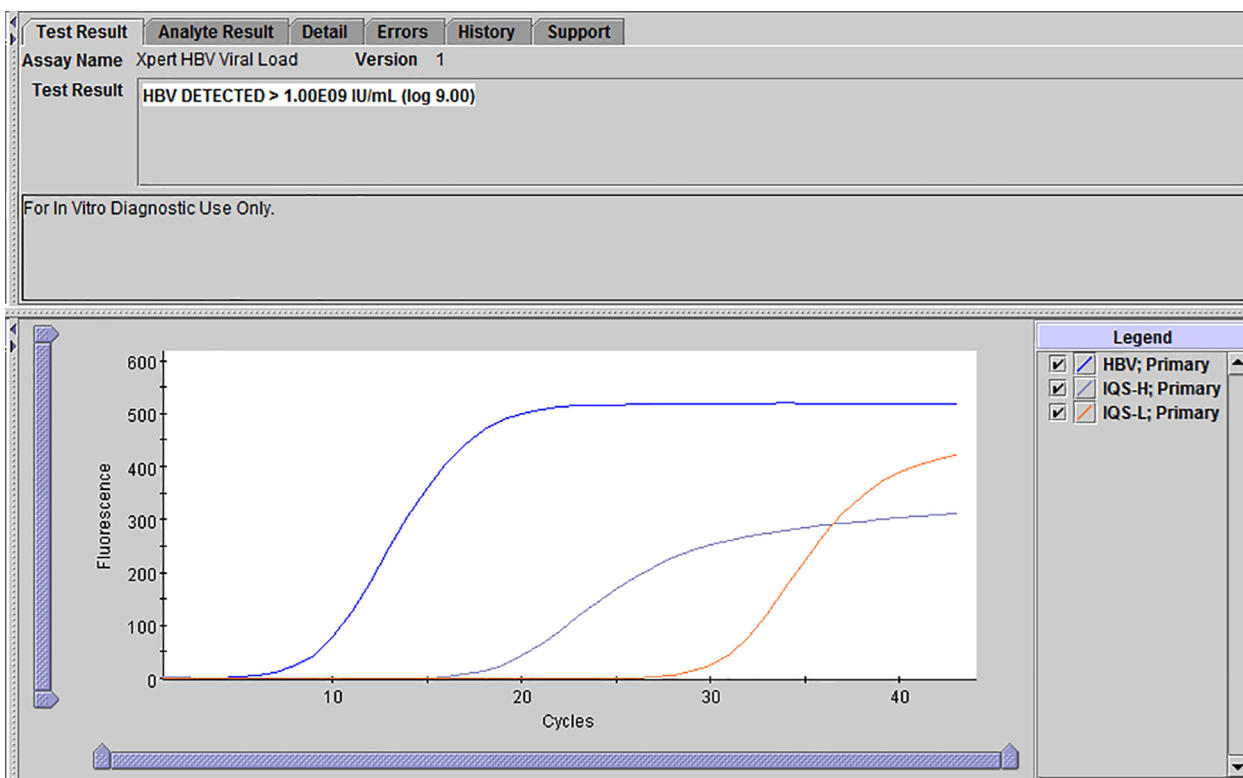
Výsledek	Interpretace
HBV DETEKOVÁN IU/ml (log X,XX) (HBV DETECTED IU/mL (log X.XX)) Viz Obrázek 3.	Je detekována DNA HBV o koncentraci XX IU/ml (log X,XX). <ul style="list-style-type: none"> • Titr DNA HBV spadá do kvantitativního rozsahu testu (10–1,00E09 IU/ml). • IQS-H a IQS-L: ÚSPĚŠNÁ (PASS). • Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
HBV DETEKOVÁN > 1,00E09 IU/ml (HBV DETECTED >1.00E09 IU/mL) Viz Obrázek 4.	Je detekována DNA HBV nad kvantitativním rozsahem testu. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H a IQS-L: ÚSPĚŠNÁ (PASS). • Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
HBV DETEKOVÁN < 10 IU/ml (HBV DETECTED <10 IU/mL) Viz Obrázek 5.	Je detekována DNA HBV pod kvantitativním rozsahem testu. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H a IQS-L: ÚSPĚŠNÁ (PASS). • Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
HBV NEDETEKOVÁN (HBV NOT DETECTED) Viz Obrázek 6.	Není detekována DNA HBV. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H a IQS-L: ÚSPĚŠNÁ (PASS). • Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
NEPLATNÝ (INVALID) Viz Obrázek 7.	Přítomnost nebo nepřítomnost DNA HBV nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 16.2. Postup při opakování testu. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H a/nebo IQS-L: NEÚSPĚŠNÝ (FAIL); hodnoty prahu cyklů (Ct) nespádají do platného rozsahu. • Kontrola sondy – ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
CHYBA (ERROR) Viz Obrázek 8.	Přítomnost nebo nepřítomnost DNA HBV nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 16.2. Postup při opakování testu. <ul style="list-style-type: none"> • Kontrola sondy – NEÚSPĚŠNÁ (FAIL)*; jeden nebo všechny výsledky kontroly sondy byly neúspěšné. <p>* Pokud kontrola sondy proběhla úspěšně, je chyba způsobena maximálním limitem tlaku přesahujícím platný rozsah nebo selháním součásti systému.</p>
ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	Přítomnost nebo nepřítomnost DNA HBV nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 16.2. Postup při opakování testu. ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test.

Poznámka

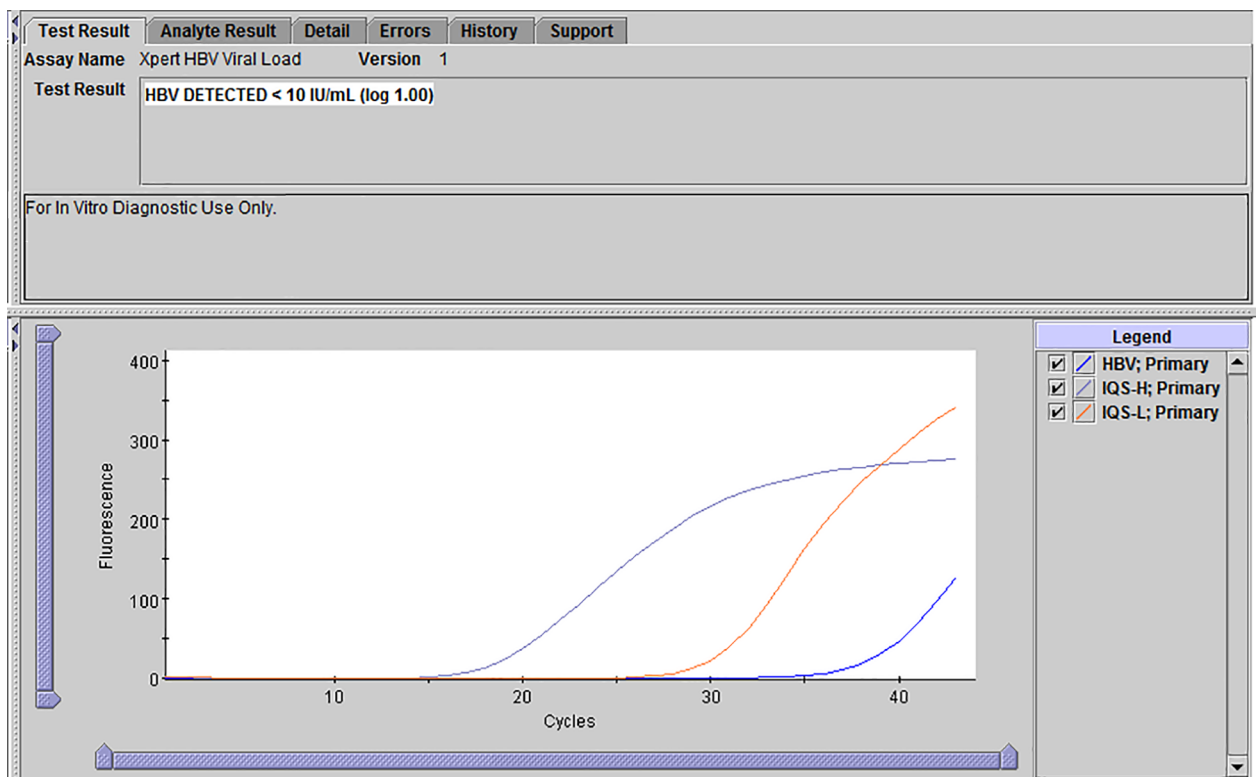
Snímky obrazovek testu jsou uvedeny pouze jako příklad. Číslo verze se může lišit od snímků obrazovek znázorněných v tomto návodu k použití.



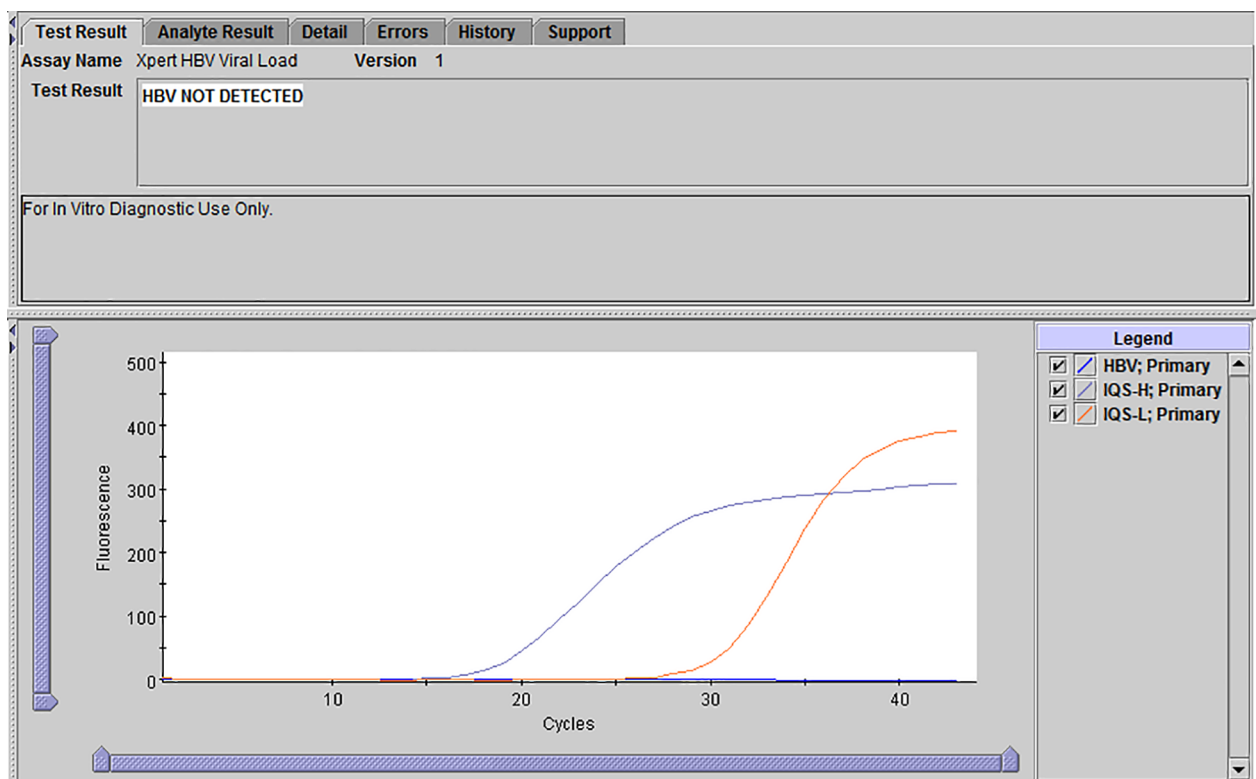
Obrázek 3. Výsledek: HBV detekován a kvantifikován



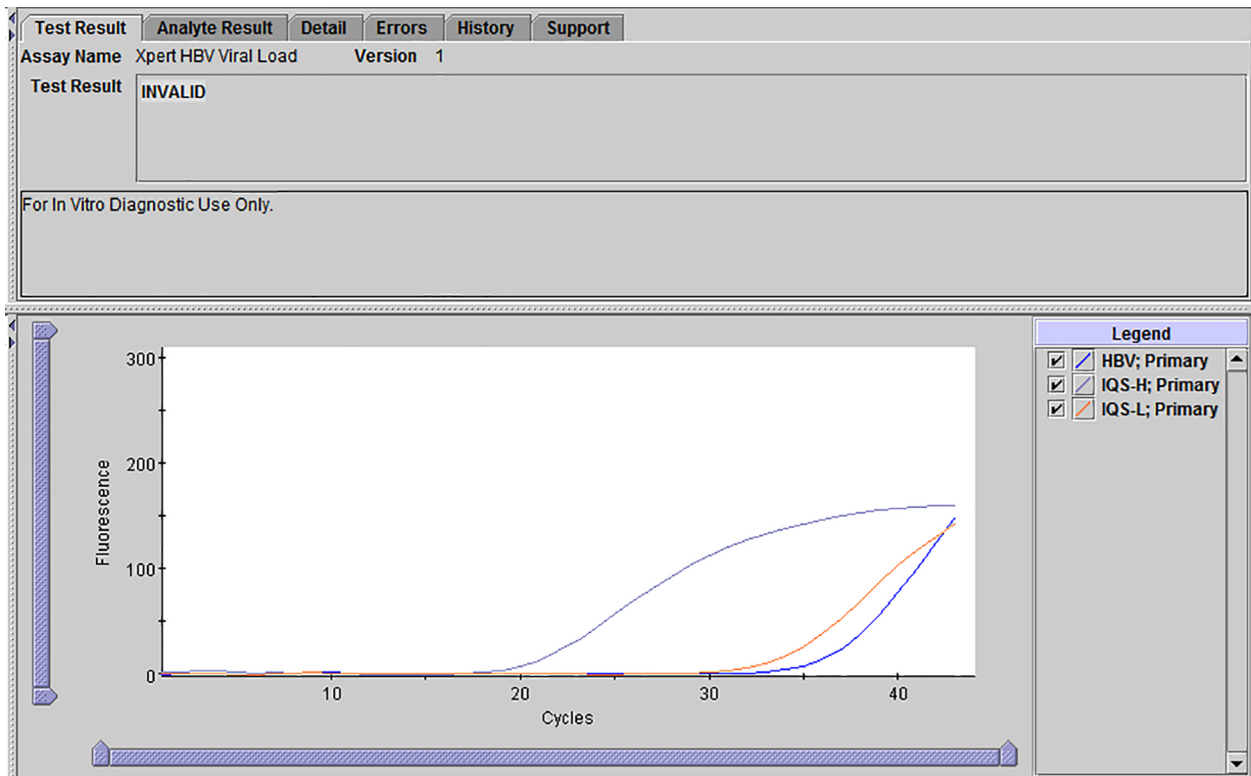
Obrázek 4. Výsledek: HBV detekován, ale s titrem nad kvantitativním rozsahem testu



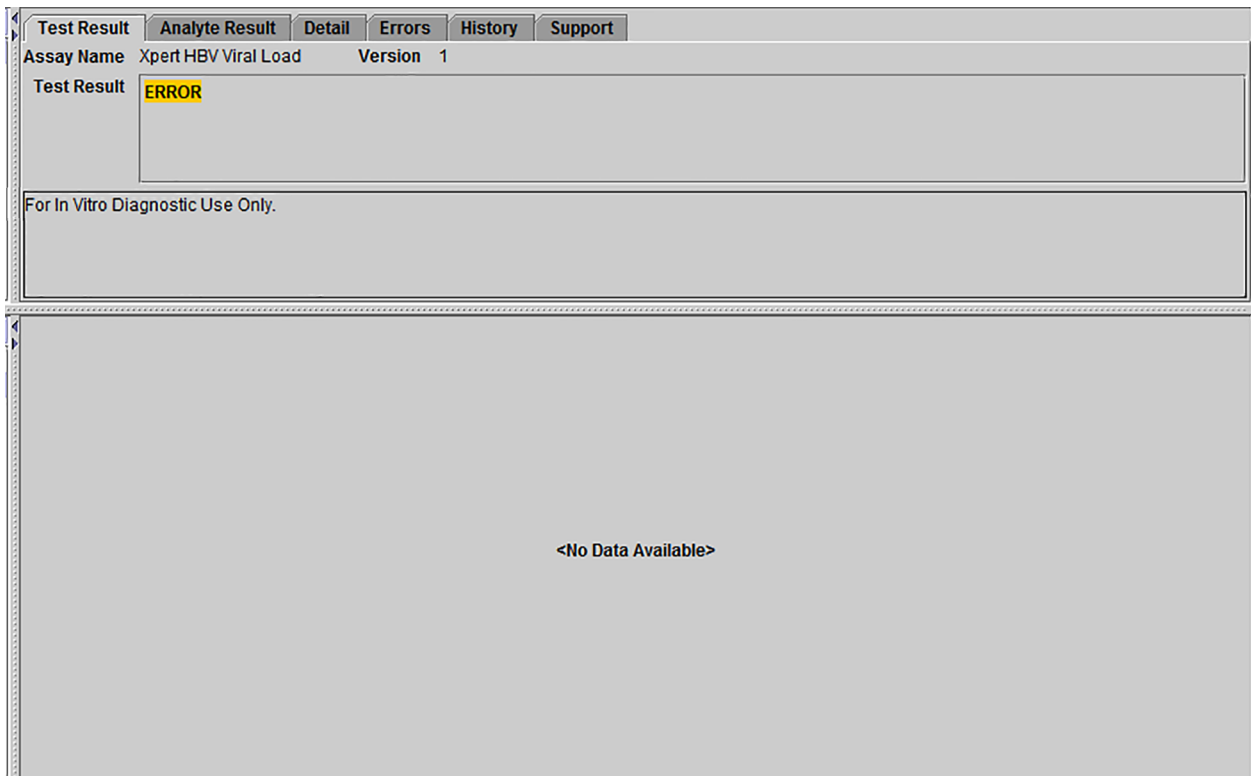
Obrázek 5. Výsledek: HBV detekován, ale s titrem pod kvantitativním rozsahem testu



Obrázek 6. Výsledek: HBV nedetekován



Obrázek 7. Výsledek: Neplatný výsledek



Obrázek 8. Výsledek: Chyba

16 Opakované testy

16.1 Důvody k opakování testu

Pokud se objeví kterýkoli z níže uvedených výsledků testu, test opakujte podle pokynů, které uvádí Část 16.2. Postup při opakování testu.

- **NEPLATNÝ (INVALID)** výsledek označuje jednu nebo více z následujících skutečností:
 - Hodnoty Ct IQS-H a/nebo IQS-L nejsou v platném rozsahu.
 - Vzorek nebyl správně zpracován nebo PCR byla inhibována.
- Výsledek **CHYBA (ERROR)** označuje, že test byl přerušen. K možným příčinám patří: byl přidán nedostatečný objem vzorku, reakční zkumavka nebyla řádně naplněna, byl detekován problém s neporušeností reagentie sondy nebo byl překročen maximální limit tlaku.
- **ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)** znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení.

16.2 Postup při opakování testu

Pokud je výsledek testu **NEPLATNÝ (INVALID)**, **CHYBA (ERROR)** nebo **ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)**, použijte novou kazetu a opakujte test dotčeného vzorku (kazetu nepoužívejte opakovaně).

1. Ze soupravy vyjměte novou kazetu.
2. Držte se postupů, které uvádí Část 12. Postup, včetně Část 12.2. Příprava kazety a Část 12.3. Spuštění testu.
3. Pokud vzorek po opakovaném testování poskytne druhý **NEPLATNÝ (INVALID)** výsledek, další opakování testu se nedoporučuje.

17 Omezení

- Mezi manipulací se vzorky se doporučuje dodržovat správnou laboratorní praxi a měnit si rukavice, aby se zabránilo kontaminaci vzorků nebo reagentií.
- Vzácné mutace v cílovém regionu testu mohou ovlivnit vázání primerů nebo sond, což může vést k nízké kvantifikaci nebo selhání při detekci viru.
- Tento test byl validován pouze pro HBV genotypy A–H. Testování jiných genotypů, které mohou mít v cílovém regionu testu jiné sekvence, může mít vliv na vazbu primerů nebo sond a vést k nízké kvantifikaci nebo selhání při detekci viru.
- Tento test byl validován pouze pro použití se sérem a EDTA plazmou. Testování jiných typů vzorků může vést k nepřesným výsledkům.
- Tento test byl validován pouze pro použití se sérem a K₂ EDTA a PPT-EDTA plazmou. Testování jiných typů vzorků může vést k nepřesným výsledkům.
- Negativní výsledek testu nevylučuje infekci HBV. Proto by se test neměl používat jako diagnostický test pro potvrzení přítomnosti infekce HBV.
- Zpracování směsných vzorků může způsobit falešné výsledky.

18 Funkční charakteristiky

18.1 Limit detekce

Limit detekce (LOD) testu HBV VL pro HBV genotyp A byl stanoven testováním sériových ředění 4. mezinárodního standardu WHO pro DNA HBV (kód NIBSC 10/266)⁴, který byl zředěn v HBV negativní EDTA plazmě a séru. Panel šesti hladin koncentrací a negativní vzorek byly testovány se čtyřmi šaržemi reagentií v případě panelu EDTA plazmy a třemi šaržemi reagentií v případě panelu séra. Každý člen panelu byl testován v průběhu tří dní s 24 replikátů na každou šarži reagentií. Celkově bylo otestováno 96 replikátů od každého členu panelu plazmy a 72 replikátů od každého členu panelu séra.

Výsledky pro EDTA plazmu a sérum uvádí Tabulka 2. Studie ukázala, že test HBV VL detekoval DNA HBV mezinárodního standardu WHO o koncentraci 3,20 IU/ml v EDTA plazmě a o koncentraci 5,99 IU/ml v séru s 95% mírou pozitivitu stanovenou PROBIT regresí.

Tabulka 2. Limit detekce pro test Xpert HBV VL s použitím 4. mezinárodního standardu WHO pro HBV

Genotyp	Matrice	Nominální koncentrace HBV (IU/ml)	Počet platných replikátů	Počet pozitivních	Míra pozitivitu (%)	95% LOD dle PROBIT (95% interval spolehlivosti)
A	Plazma	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	Sérum	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	

Limit detekce pro HBV genotypy B až H byl stanoven testováním šesti- nebo sedmičlenných panelů, které byly připraveny tak, že do HBV negativní EDTA plazmy byly přidány HBV pozitivní vzorky, které zastupovaly každý genotyp (genotypy B až G z mezinárodního referenčního panelu WHO, kód PEI: 5086/08 a klinický vzorek genotypu H). Každý člen panelu byl testován v průběhu tří dní pomocí tří šarží reagensů, takže celkem bylo otestováno 24 replikátů každého členu. Výsledky uvádí Tabulka 3.

Tabulka 3. Limit detekce pro HBV genotypy B až H v EDTA plazmě

Genotyp	95% LOD dle PROBIT (IU/ml)	95% interval spolehlivosti (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

Limit detekce pro HBV genotypy B až H byl ověřen v séru dle dokumentu CLSI EP17-A2¹⁰ s použitím 24 replikátů. Když nebylo dosaženo míry pozitivitu > 85 %, byla testována vyšší koncentrace. Výsledky uvádí Tabulka 4.

Tabulka 4. Ověření LOD pro genotypy B až H v séru

Genotyp	Nominální koncentrace HBV (IU/ml)	Míra pozitivitu (%)
---------	-----------------------------------	---------------------

Genotyp	Nominální koncentrace HBV (IU/ml)	Míra pozitivity (%)
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

Výkon testu HBV VL byl vyhodnocen také s precore mutantou testováním sekvenovaného klinického vzorku HBV obsahujícího dvě precore mutace (C1858T a G1896A) a dvě mutace basal core promotoru (A1762T a G1764A), který byl naředěný na koncentraci 10 IU/ml v EDTA plazmě a séru, s jednou šarží reagensů. Pro každý z 24 replikátů testovaných v každé matici bylo dosaženo míry pozitivity 100 %.

18.2 Dolní limit kvantifikace (LLOQ)

Dolní limit kvantifikace (LLOQ) je definován jako nejnižší koncentrace DNA HBV, která je kvantifikována s přijatelnou precizností a pravdivostí a stanovuje se pomocí celkové analytické chyby (total analytical error, TAE) a přístupu založeném na rozdílu mezi dvěma měřeními. LLOQ byl vyhodnocen se čtyřmi nezávislými vzorky představujícími HBV genotypy A až D v EDTA plazmě poblíž limitu detekce testu. Každý vzorek byl testován pomocí čtyř šarží reagensů s 8–24 replikáty na každou šarži. TAE byla odhadnuta Westgardovým modelem podle směrnice CLSI EP17-A2¹⁰ s kritériem $[(\text{absolutní odchylka}) + 2 \text{ SD} \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$. Přístup s rozdílem mezi dvěma měřeními byl vyhodnocen s kritériem $[2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{SD}] \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$.

Analýzy LLoQ pro každý vzorek uvádí Tabulka 5. Výsledky ukazují, že test HBV-VL dokáže kvantifikovat 10 IU/ml DNA HBV s přijatelnou pravdivostí a precizností.

Tabulka 5. Stanovení LLOQ testu

Genotyp HBV	Šarže	N	Koncentrace HBV (\log_{10} IU/ml)		Odchylka	Celková směrodatná odchylka (SD)	Celková analytická chyba ^a	Přístup dvou měření ^b
			Očekávaná	Pozorovaná				
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
	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

Genotyp HBV	Šarže	N	Koncentrace HBV (log ₁₀ IU/ml)		Odchylka	Celková směrodatná odchylka (SD)	Celková analytická chyba ^a	Přístup dvou měření ^b
			Očekávaná	Pozorovaná				
	4	8	1,00	0,91	-0,09	0,11	0,31	0,32

- a TAE vypočtená podle Westgardova modelu, kde $[TAE = |odchylka| + (2 \times SD) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$, zajišťuje, že existuje 95% pravděpodobnost, že měření bude méně než 1 log₁₀ IU/ml od skutečné hodnoty.
- b Přístup dvou měření, kde $[2 \times (\text{SQRT}(2) \times SD) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$, ukazuje, že rozdíl menší než 1 log₁₀ IU/ml lze vysvětlit náhodnou chybou měření.

Výsledky ukazují, že test dokáže kvantifikovat 10 IU/ml DNA HBV s přijatelnou pravdivostí a precizností.

18.3 Přesnost/reprodukovatelnost

Preciznost/reprodukovatelnost testu Xpert HBV VL byla vyhodnocena v K₂EDTA plazmě s použitím analýzy rozptylu (ANOVA) k odhadu celkového rozptylu.

Tato studie byla multicentrická (3 pracoviště, 2 externí a 1 interní) zaslepená studie k odhadu hlavních složek rozptylu testu Xpert HBV VL s použitím osmičlenného panelu tvořeného osmi HBV pozitivními členy. HBV pozitivní členy byly připraveny naředěním buď dobře charakterizovaného plazmidu HBV, nebo HBV pozitivního klinického vzorku v lidské EDTA plazmě. Dva operátoři, jeden s předchozími zkušenostmi s PCR a jeden bez zkušeností, na každém ze tří studijních pracovišť testovali jeden panel v duplikátu, dvakrát denně (odpovídá osmi replikátům denně) v průběhu šesti testovacích dní, což dává 144 replikátů na každý člen panelu. Byly použity tři šarže testu Xpert HBV VL, z nichž každá představovala dva dny testování. Preciznost a reprodukovatelnost byly vyhodnoceny v souladu s dokumenty CLSI EP05-A3¹¹ a CLSI EP15-A3.¹²

Preciznost a reprodukovatelnost testu Xpert HBV VL byly vyhodnoceny pomocí hierarchické analýzy ANOVA s podmínkami pro pracoviště/přístroj, šarži, den, operátora/cyklus a v rámci cyklu. Byly vypočteny směrodatné odchylky a procenta variability způsobená každou složkou transformovaných koncentrací log₁₀ HBV, jak uvádí Tabulka 6.

Tabulka 6. Preciznost/reprodukovatelnost testu Xpert HBV VL

Koncentrace DNA HBV (log ₁₀ IU/ml)			Příspěvek k SD celkové odchylky (CV %)									Celková preciznost		
			Pracoviště/přístroj		Šarže		Den		Operátor/cyklus		V rámci cyklu			
Očekávaná	Pozorovaná	N	SD	(%) ^a	SD	(%) ^a	SD	(%) ^a	SD	(%) ^a	SD	(%) ^a	SD	CV (%) ^b
9,00	9,13 ^c	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

a (%) je příspěvek odchylky komponenty k celkové odchylce

b

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

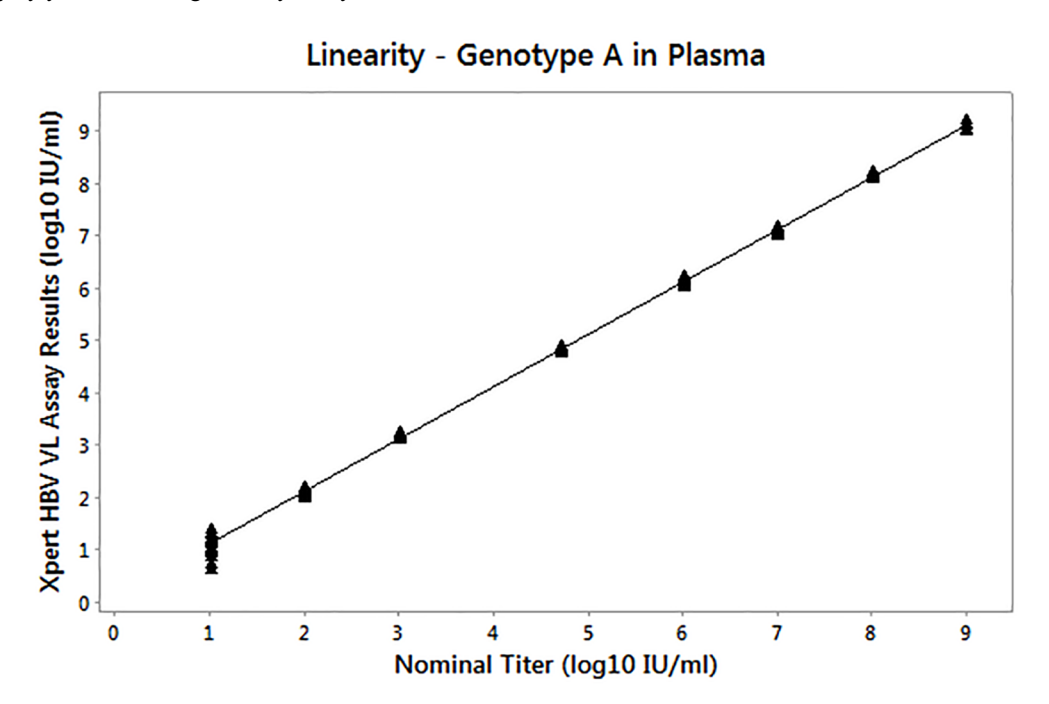
„CV“ je lognormální CV, získaný tímto vzorcem:

c Pozorovaná hodnota je nad kvantitativním rozsahem testu Xpert HBV VL.

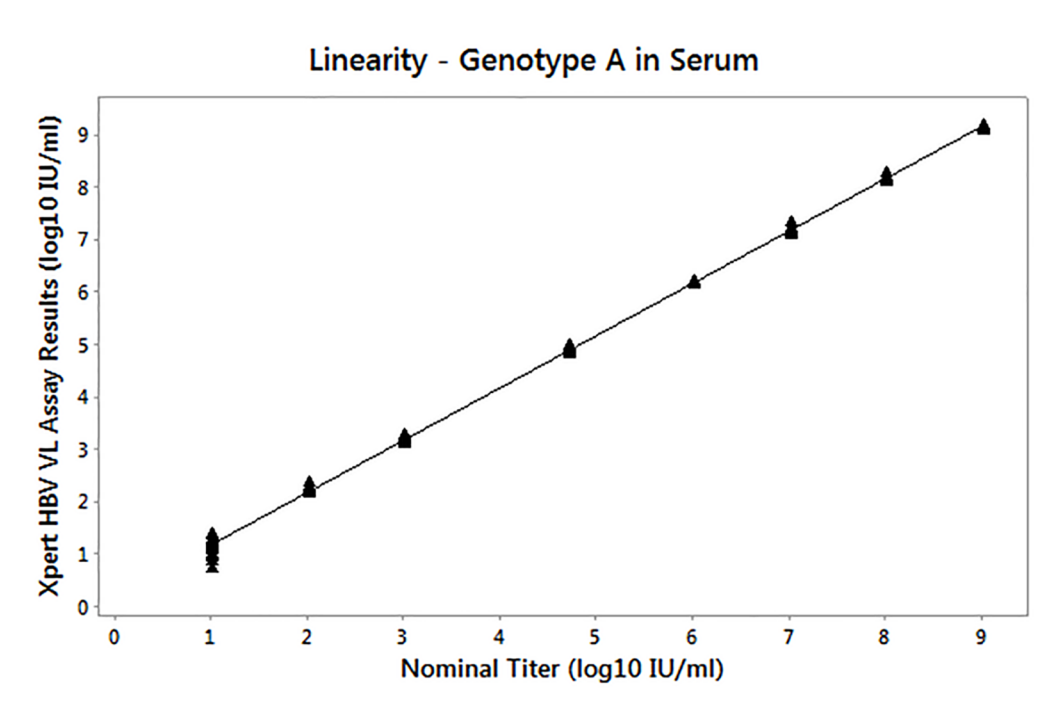
18.4 Lineární rozsah

Genotyp A

Lineární rozsah testu Xpert HBV VL byl stanoven analýzou osmičlenného panelu, který pokrýval rozsah koncentrací HBV 1,00–9,00 log₁₀ IU/ml. Panely byly připraveny přidáním klinického vzorku HBV genotypu A nebo zásobní plazmidové DNA HBV s vysokým titrem do HBV negativní EDTA plazmy a séra. Každý člen panelu byl analyzován v osmi replikátech na každou šarži reagensů, kromě nejnižších ředění, která byla analyzována v šestnácti replikátech na každou šarži reagensů. Použity byly dvě šarže reagensů. Výsledky uvádí Obrázek 9 a Obrázek 10.



Obrázek 9. Linearita testu Xpert HBV VL v EDTA plazmě



Obrázek 10. Linearita testu Xpert HBV VL v EDTA séru

Genotypy G–H

Pro potvrzení linearity byly připraveny diluční panely zastupující HBV genotypy B až H, které pokrývaly co možná nejširší rozsah měření. Tyto panely byly připraveny naředěním klinického vzorku zastupujícího každý genotyp HBV v negativní EDTA plazmě. Členy panelu byly analyzovány ve stejném počtu replikátů jako u HBV genotypu A pomocí jedné šarže reagensů.

Byla prokázána linearita pro genotypy A–H podle směrnice CLSI EP06-A¹³ s hodnotou $R^2 > 0,99$. Test Xpert HBV VL je lineární v rozsahu 1,00–9,00 log₁₀ IU/ml pro genotyp A a v testovaném rozsahu pro genotypy B až H (viz Tabulka 7).

Tabulka 7. Linearita testu Xpert HBV VL podle genotypu

Genotyp	Rovnice lineární regrese	R ²	Rozsah testovaného titru (log ₁₀ IU/ml)
A (plazma)	$y = 1,005x + 0,093$	0,999	1,00–9,00
A (sérum)	$y = 1,000x + 0,167$	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 Analytická specifita (exkluzivita)

Analytická specifita testu byla hodnocena přidáním potenciálně zkříženě reaktivních organismů v koncentraci 1×10^6 CFU/ml u mikroorganismů nebo 1×10^5 kopií/ml nebo TCID₅₀/ml u virů do HBV negativní EDTA plazmy a EDTA plazmy obsahující referenční materiál HBV o koncentraci přibližně 30 IU/ml (4. mezinárodní standard WHO pro HBV, kód NIBSC: 10/266)⁴. Testované organismy uvádí Tabulka 8. Žádný z testovaných organismů nevykazoval zkříženou reaktivitu ani neinterferoval s kvantifikací testu.

Analytická specifita testu byla hodnocena přidáním potenciálně zkříženě reaktivních organismů v koncentraci 1×10^6 CFU/ml u mikroorganismů nebo 1×10^5 kopií/ml nebo TCID₅₀/ml u virů do HBV negativní EDTA plazmy a EDTA plazmy obsahující referenční materiál HBV o koncentraci přibližně 30 IU/ml (4. IS WHO)⁴. Testované organismy uvádí Tabulka 8. Žádný z testovaných organismů nevykazoval zkříženou reaktivitu ani neinterferoval s kvantifikací testu.

Tabulka 8. Organismy pro analytickou specifitu

	Viry	Bakterie	Kvasinky
BK lidský polyomavirus	Virus lidské imunodeficience 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Virus lidské imunodeficience 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus Epstein-Barr	Lidský papilomavirus 16		
Virus hepatitidy A	Lidský papilomavirus 18		
Virus hepatitidy C	Lidský T-lymfotropní virus typu 1		
Herpes simplex virus 1	Lidský T-lymfotropní virus typu 2		
Herpes simplex virus 2	Varicella zoster virus		
Lidský herpesvirus 6	Virus vakcíne		
Lidský herpesvirus 8			

18.6 Potenciálně interferující látky

Byla hodnocena citlivost testu na interferenci způsobovanou zvýšenými hladinami endogenních látek, markery autoimunitních onemocnění a léky předepisovanými pacientům infikovaným HBV. Inhibiční efekty byly vyhodnoceny v přítomnosti i nepřítomnosti přibližně 30 IU/ml referenčního materiálu DNA HBV (4. mezinárodní standard WHO pro HBV, kód NIBSC: 10/266)⁴.

Zvýšené hladiny endogenních látek, které uvádí Tabulka 9, neprokázaly interferenci s kvantifikací testu s průměrným titrem log₁₀ každého z HBV pozitivních vzorků obsahujícího potenciálně interferující látky v $\pm 0,10 \log_{10}$ IU/ml pozitivní kontroly. Pro všechny vzorky bez cíle HBV byly získány negativní výsledky, což značí, že nedocházelo k vlivu na specifitu testu.

Byla hodnocena citlivost testu na interferenci způsobovanou zvýšenými hladinami endogenních látek, markery autoimunitních onemocnění a léky předepisovanými pacientům infikovaným HBV. Inhibiční efekty byly vyhodnoceny v přítomnosti i nepřítomnosti přibližně 30 IU/ml referenčního materiálu DNA HBV (4. IS WHO)⁴.

Endogenní látky

Zvýšené hladiny endogenních látek, které uvádí tabulka 9, neprokázaly interferenci s kvantifikací testu s průměrným titrem log₁₀ každého z HBV pozitivních vzorků obsahujícího potenciálně interferující látky v $\pm 0,10 \log_{10}$ IU/ml pozitivní kontroly. Pro všechny vzorky bez cíle HBV byly získány negativní výsledky, což značí, že nedocházelo k vlivu na specifitu testu.

Tabulka 9. Testované endogenní látky a koncentrace

Látka	Testovaná koncentrace
-------	-----------------------

Látka	Testovaná koncentrace
Albumin	9 g/dl
Bilirubin	20 mg/dl
Hemoglobin	500 mg/dl
Lidská DNA	0,4 mg/dl
Triglyceridy	3 000 mg/dl

Léky Exogenní látky nebo léky

Lékové složky, které uvádí Tabulka 10, neinterferovaly s kvantifikací a neovlivňovaly specificitu testu při testování na trojnásobku vrcholové plazmatické koncentrace (C_{max}) v přítomnosti nebo nepřítomnosti DNA HBV.

Tabulka 10. Testované lékové panely

Panel	Léky
1	Zidovudin, saquinavir, klarithromycin, interferon alfa-2b, ritonavir, ombitasvir, paritaprevir, dasabuvir, didanosin
2	Abakavir-sulfát, fosamprenavir, peginterferon alfa-2a, ribavirin, entekavir, adefovir dipivoxil
3	Tenofovir-disoproxil-fumarát, lamivudin, indinavir sulfát, ganciklovir, valganciklovir HCl, acyklovir, paroxetin, telbivudin
4	Stavudin, efavirenz, lopinavir, enfuvirtid, ciprofloxacin, fluoxetin
5	Nevirapin, nelfinavir, azithromycin, valaciklovir, sertralin, tenofovir, alafenamid

Markery autoimunitních onemocnění

Testování vzorků K_2 EDTA plazmy od pěti jedinců pozitivních na každý z markerů autoimunitních onemocnění, kterými byly systémový lupus erythematosus (SLE), antinukleární protilátky (ANA) nebo revmatoidní faktor (RF), nevykazovalo žádnou interferenci s výkonem testu Xpert HBV VL. Průměrné \log_{10} koncentrace vzorků obohacených DNA HBV byly v rámci $\pm 0,10 \log_{10}$ IU/ml pozitivní kontroly. Pro všechny vzorky bez cíle HBV byly získány negativní výsledky, což značí, že nedocházelo k vlivu na specificitu testu.

18.7 Rovnocennost matic (K_2 EDTA plazma, PPT-EDTA a sérum)

Rovnocennost matic pro test byla vyhodnocena s 32 odpovídajícími HBV pozitivními klinickými vzorky a 23 odpovídajícími HBV negativními klinickými vzorky odebranými do odběrových zkumavek na K_2 EDTA plazmu, PPT-EDTA plazmu a sérum. 23 odpovídajících HBV negativních klinických vzorků bylo obohaceno HBV pozitivním materiálem z klinických vzorků představujících HBV genotypy B až G a DNA plazmidem exprimujícím cílovou sekvenci HBV genotypu A s titry napříč celým lineárním rozsahem.

Rovnocennost matic pro test byla vyhodnocena s 55 odpovídajícími HBV pozitivními klinickými vzorky a 25 odpovídajícími HBV negativními klinickými vzorky odebranými do odběrových zkumavek na K_2 EDTA plazmu, PPT-EDTA plazmu a sérum. Z těchto 55 pozitivních vzorků bylo 32 HBV pozitivních klinických vzorků a 23 HBV negativních klinických vzorků, které byly obohaceny HBV pozitivním materiálem z klinických vzorků zastupujících HBV genotypy B až G a DNA plazmidem exprimujícím cílovou sekvenci HBV genotypu A s titry napříč celým lineárním rozsahem.

V testovaných vzorcích byla prokázána rovnocennost matic, jak uvádí Obrázek 11 a Obrázek 12.

Obrázek 11. Graf lineární regrese PPT-EDTA plazmy oproti K_2 EDTA plazmě

Obrázek 12. Graf lineární regrese séra oproti K_2 EDTA plazmě

Výsledky ukazují, že test funguje v K₂-EDTA plazmě, PPT-EDTA plazmě a séru stejně se vzorky v rozsahu přibližně 1,0–9,0 log₁₀ IU/ml.

18.8 Míra selhání celého systému

Míra selhání celého systému pro test byla stanovena testováním 144 replikátů HBV nízké pozitivního vzorku při přibližně 10 IU/ml sestávajícího z K₂EDTA plazmy obohacené klinickým vzorkem HBV genotypu A kalibrovaným na 4. mezinárodní standard WHO pro HBV (kód NIBSC 10/266).

Výsledky této studie ukázaly, že všech 144 replikátů bylo hlášeno jako HBV pozitivní. Výsledkem byla míra selhání celého systému 0 %.

Míra selhání celého systému pro test byla stanovena testováním 100 replikátů EDTA plazmy obohacené vzorkem 4. mezinárodního standardu WHO pro DNA HBV (kód NIBSC 10/266)⁴ genotypu A. Obohacené vzorky byly testovány při cílové koncentraci přibližně 3 × LLOQ (30 IU/ml).

Výsledky této studie zjistily, že všechny replikáty byly platné a pozitivní na cíl HBV, což vedlo k míře selhání celého systému 0,0 %.

18.9 Kontaminace z přenosu

Ve stejném modulu přístroje GeneXpert byl testován HBV pozitivní vzorek s vysokým titrem ($> 1 \times 10^7$ IU/ml), vzápětí následovaný HBV negativním vzorkem. Postup byl opakován dvacetkrát (20×) ve dvou různých modulech. Míra přenosu u testu byla 0 %.

19 Klinický výkon

19.1 Specifita u normálních zdravých dárců krve

Specifita testu byla vyhodnocena pomocí 99 vzorků séra a 100 vzorků EDTA plazmy od HBV negativních dárců krve. Specifita testu byla 100,0 % [95% CI: 98,1–100,0 (199/199)].

19.2 Korelace metod

Byla provedena studie zahrnující více pracovišť, která hodnotila výkon testu v porovnání s kvantitativní srovnávací metodou pro DNA HBV pomocí zbytků vzorků séra a EDTA plazmy ze standardní péče o lidi, o nichž bylo známo, že jsou infikováni HBV.

Z 876 způsobilých subjektů bylo 351 (40,1 %) žen a 489 (55,8 %) mužů. Průměrný věk byl $47,2 \pm 15,9$ let, rozsah byl 18 až 89 let. Z těchto 876 vzorků se jich 560 nacházelo uvnitř kvantifikačního rozsahu testu i srovnávacího testu. Obrázek 13 uvádí výsledek Demingovy regrese a jednoduché lineární regrese analýzy.

Z 876 způsobilých subjektů bylo 351 (40,1 %) žen a 489 (55,8 %) mužů. Průměrný věk byl $47,2 \pm 15,9$ let, rozsah byl 18 až 89 let. Z těchto 876 vzorků se jich 560 nacházelo uvnitř kvantifikačního rozsahu testu i srovnávací metody. Výsledek Demingovy regrese a jednoduché lineární regrese analýzy uvádí Obrázek 13, která ukazuje přijatelný výkon testu v porovnání se srovnávací metodou pro vzorky séra a EDTA plazmy se směnicí blízkou se 1, průsečíku blízkému se 0 a hodnotami $R \geq 0,9699$ a $R^2 \geq 0,9408$.

Obrázek 13. Korelace testu se srovnávací metodou s použitím vzorků séra a EDTA plazmy

Testem bylo otestováno celkem 879 vzorků od způsobilých subjektů. Pro 98,0 % (861/879) způsobilých vzorků byly testy úspěšné na první pokus, což dává počáteční poměr neurčitých (ND) výsledků 2,0 % (18/879). Sedmnáct z 18 neurčitých případů bylo otestováno znovu, z nichž 15 poskytlo platné výsledky při opakovaném testování. Konečná míra ND byla 0,3 %.

20 Literatura

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. March 2015. Přístup 14. března 2018 na: <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. Dostupné na: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 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), přístup 5. března 2018 na <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Dokument M29 (viz poslední vydání).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Přístup 20. dubna 2018 na http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
8. Přehled pokynů pro bezpečné zacházení, NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnic 67/548/EHS a 1999/45/ES a o změně nařízení (ES) č. 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (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 Ústředí společnosti Cepheid a ekonomické subjekty

Podniková centrála

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Evropská centrála

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

Oficiální výrobce



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Zplnomocněný zástupce



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

Dovozce



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









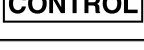









22 Technická pomoc

Dříve, než kontaktujete technickou podporu společnosti Cepheid, připravte si následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže

- Sériové číslo přístroje
- Chybové zprávy (pokud je to relevantní)
- Verze softwaru a (pokud je to relevantní) číslo servisního štítku počítače

23 Tabulka značek

Značka	Význam
	Katalogové číslo
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Nepoužívat opětovně
	Kód šarže
	Čtěte návod k použití
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro <i>n</i> testů
	Kontrola
	Datum expirace
	Označení CE – Evropská shoda
	Teplotní limit
	Biologická rizika
	Pozor
	Varování
	Riziko poleptání
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce



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

