

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

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



# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

---

Pouze pro *In Vitro* diagnostiku

## 1 Obchodní název

Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

## 2 Běžný nebo obvyklý název

HBV VL

## 3 Použití

Test Cepheid Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load (VL) je *in vitro* test amplifikace nukleových kyselin určený pro detekci DNA viru hepatitidy B (HBV) v lidském séru nebo plazmě (EDTA) u osob s chronickou infekcí HBV stanovený pomocí automatizovaného systému GeneXpert<sup>®</sup>.

Tento test je určen k použití ve spojení s klinickou prezentací a dalšími laboratorními testy a slouží jako pomůcka při hodnocení virové odpovědi na antivirovou léčbu stanovenou změnami hladin HBV DNA v plazmě nebo v séru.

Test neslouží ke screeningu HBV nebo jako diagnostický test pro potvrzení přítomnosti infekce HBV.

## 4 Shrnutí a vysvětlení

Virus hepatitidy B (HBV) je malý virus obalený DNA z rodiny Hepadnaviridae a je odpovědný za akutní a chronickou hepatitidu způsobenou HBV. Tento virus má malý kruhový genom DNA, který je částečně dvouvláknový, částečně jednovláknový a má průměr 42 nm. HBV obsahuje četné antigenní složky a přenáší se perakutní nebo mukózní expozicí krve nebo tělními tekutinami infikované osoby, od infikované matky na novorozence, prostřednictvím nekontrolované krevní transfúze nebo nebezpečnými injekcemi, injekčním užíváním drog, sexuálním stykem s infikovanou osobou.

Celkově téměř polovina světové populace žije v oblastech s vysokou endemicitou<sup>1</sup>. Morbidita a mortalita je spojena s perzistencí virové replikace a evoluce k cirhóze a/nebo hepatocelulárním karcinogenem (HCC)<sup>2</sup>. Mortalita v důsledku virové hepatitidy se v průběhu času zvýšila a bude se dále zvyšovat, pokud není zavčas diagnostikována a léčena.

Je vyvinuta vakcína proti HBV a díky ní se výrazně snížil počet nových chronických infekcí. V roce 2015 bylo 3,5% světové populace postiženo chronickou infekcí HBV. Pouze 9% osob s HBV znalo svou diagnózu a pouze 8% dostalo terapii<sup>1</sup>.

## 5 Podstata testu

Automatický systém GeneXpert integruje purifikaci vzorku, amplifikaci nukleových kyselin a detekuje cílové sekvence v jednoduchých nebo komplexních vzorcích pomocí PCR v reálném čase. Systém se skládá z přístroje, počítače a předinstalovaného softwaru. Systém vyžaduje použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují PCR reagenty a jsou prostředím pro purifikaci a PCR. Vzhledem k tomu, že jsou kazety oddělené, minimalizuje se křížová kontaminace mezi vzorky... Úplný popis systému je uveden v manuálu systému *GeneXpert Dx Operator Manual* nebo *GeneXpert Infinity Operator Manual*.

Test HBV VL obsahuje reagenty pro detekci HBV DNA ve vzorcích a také dvě vnitřní kontroly pro kvantifikaci HBV DNA. Vnitřní kontroly se používají pro kontrolu provedení testu a pro sledování přítomnosti inhibitoru (inhibitorů) v PCR reakcích. Kontrolní sondy (PCC) ověřují rehydrataci činidel, naplnění PCR zkumavky v kazetě, neporušenost sondy a stabilitu barviva.

Test je standardizován podle norem Světové zdravotnické organizace (WHO) pro HBV DNA technologie amplifikace nukleových kyselin (Kód NIBSC : 10/266).<sup>4</sup>

---

---

## 6 Činidla

### 6.1 Dodávaný materiál



Sada testu HBV VL obsahuje dostatek činidel k analýze 10 vzorků a/nebo vzorků kontroly kvality. Sada obsahuje následující činidla:

<b>Kazeta testu HBV VL s integrovanými reakčními zkumavkami</b>	<b>10</b>
• Bead 1, Bead 2 a Bead 3 (lyofilizované)	1 v kazetě
• Lyzační činidlo (Guanidin thiokyanát)	1.7 mL v kazetě
• Oplachové činidlo	0.5 mL v kazetě
• Eluční činidlo	1.5 mL v kazetě
• Vazebné činidlo	1.5 mL v kazetě
• Činidlo proteinkinázy K	0.48 mL v kazetě
<b>Jednorázová 1 mL pipeta</b>	<b>10 v sadě</b>
<b>CD</b>	<b>1 na sadu</b>

- Soubor definující test (Assay Definition File (ADF))
- Instrukce pro vložení ADF do GeneXpert a Infinity softwaru
- Příbalová informace

Poznámky:

- Bezpečnostní listy (SdS) jsou k dispozici na [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) v záložce **SUPPORT**.
- Bovinní sérový albumin (BSA) použitý v tomto výrobku je vyrobený výhradně z bovinní plazmy pocházející z USA. Zpracování BSA rovněž probíhá v USA. Zvířata nebyla krmena žádným proteinem od přežvýkavců ani jiným zvířecím proteinem; před i po úmrtí prošla zvířata testováním. Během zpracování nedošlo ke směšování materiálu s jinými zvířecími materiály.

---

## 7 Skladování a manipulace



- Kazety v sadě HBV VL skladujte při 2–35 °C až do data expirace uvedeného na štítku.
- Před použitím vytemperujte kazety na pokojovou teplotu.
- Nepoužívejte reagencie nebo kazety, které už mají překročenou dobu trvanlivosti.



- Nepoužívejte kazetu, která je porušená a teče.

## 8 Potřebný materiál, který není součástí balení

- GeneXpert Dx Instrument System nebo GeneXpert Infinity Instrument System: GeneXpert Instrument, počítač se softwarem GeneXpert Dx verze 4.7a nebo vyšší (systémy GeneXpert Dx), Xpertise 4.6 nebo vyšší (Infinity-48) nebo Xpertise 6.4 nebo vyšší (Infinity-80/Infinity-48) s čtečkou čárových kódů a návod k obsluze.
- Tiskárna: Pokud potřebujete tiskárnu, obraťte se na technickou podporu společnosti Cepheid, která zajistí nákup doporučené tiskárny.
- Bělidlo nebo chlornan sodný
- Ethanol nebo denaturovaný ethanol

---

---

## 9 Upozornění a bezpečnostní opatření

### 9.1 Obecné



- Pouze pro *In vitro* diagnostiku
- Se všemi biologickými vzorky i s použitými kazetami zacházejte jako s potenciálními nosiči infekčních částic. Jelikož je často nemožné zjistit, který by mohl být infekční, se všemi biologickými vzorky by mělo být manipulováno za použití všeobecných bezpečnostních opatření. Návod pro manipulaci se vzorky je k dispozici v amerických centrech pro kontrolu a prevenci chorob (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)<sup>8</sup> a v Institutu klinických a laboratorních standardů (Clinical and Laboratory Standards Institute)<sup>9</sup>.
- Dodržujte pravidla správné laboratorní praxe, včetně výměny rukavic mezi manipulací se vzorky. Zabráňte tak kontaminaci vzorků nebo činidel.
- Dodržujte bezpečnostní pokyny vaší instituce pro práci s chemickými a biologickými vzorky.
- Nenahrazujte reagentie testu HBV VL jinými činidly.
- Víko kazety HBV VL otevírejte až v případě, že jste připraveni přidat vzorek.
- Nepoužívejte kazetu, která po vyjmutí z obalu upadla.
- Kazetou netřepejte. Třepání nebo upuštění kazety po otevření víka může vést k nepřesným výsledkům.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.
- Nezakrývejte štítek čárového kódu na kazetě.
- K přidání vzorku do kazety používejte pipetu. Vzorek do sběrné nádoby kazety nikdy přímo nenalévejte.
- Každá kazeta HBV VL k jednorázovému použití je určena k provedení jednoho testu. Upotřebenou kazetu znovu nepoužívejte.
- ② • Každá pipeta slouží k přenosu jednoho vzorku. Nepoužívejte je opakovaně.
- ② • Používejte čisté laboratorní oděvy a rukavice. Mezi zpracováním různých vzorků si vždy vyměňte rukavice.
- V případě kontaminace pracovního prostoru nebo přístroje vzorky nebo kontrolami vždy zamořenou oblast důkladně vyčistěte čerstvým připraveným roztokem chlornanu sodného 0,5% (nebo 1:10 ředěného bělidla chloru). Následně povrch otřete 70% ethanolem. Před dalším zpracováním nechte pracovní povrch důkladně vysušit.
- Obráťte se na pracovníky odboru nakládání s odpady, kteří vám poskytnou informace jak správně zlikvidovat prázdné zásobníky a nepoužitá činidla. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky nebezpečného odpadu a vyžadují zvláštní požadavky na likvidaci podle US EPA. Zkontrolujte státní a místní předpisy, jelikož se mohou od federálních předpisů na likvidaci lišit. Instituce by měly zkontrolovat požadavky na likvidaci nebezpečných odpadů.

## 10 Chemická rizika<sup>9</sup>

- Varování
- **Nebezpečnost**
  - Škodlivý při požití
  - Způsobuje podráždění pokožky
  - Dráždí oči
  - **Prevence**
    - Po manipulaci se důkladně umyjte
  - **Reakce**
    - Pokud dojde k podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc.
    - Kontakt s očima: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Pokud je to možné, vyjměte kontaktní čočky. Pokračujte ve vyplachování.
    - Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc
    - Pokud se necítíte dobře, kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ STŘEDISKO nebo lékaře.

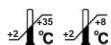
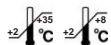
---

---

## 11 Odběr, transport a skladování vzorků

Plná krev musí být skladována v K2-EDTA zkumavkách, PPT-EDTA nebo sběrných zkumavkách na sérum centrifugovaných pro oddělení plazmy/séra a červených krvinek, jak je uvedeno v pokynech výrobce.

- Pro test HBV VL je požadováno minimálně 0,6 ml plazmy nebo séra. Pokud používáte pipetu obsaženou v soupravě, musí být plněna plazmou nebo sérem po čtvrtou značku (1 ml). Alternativně může být při použití automatické pipety naplnění 0,6 ml plazmy nebo séra, viz. pokyny v části 12.2.
- Před přípravou plazmy/séra, může být plná krev uchovávána při teplotě 2-35°C po dobu až 24 hodin nebo při teplotě 2-8°C po dobu až 3 dnů. Centrifugujte podle pokynů výrobce.
- Po centrifugaci a separaci, mohou být plazma a sérum skladovány při teplotě 2-35°C po dobu až 24 hodin nebo při 2-8°C až 7 dní před testováním.
- Vzorky plazmy a séra jsou stabilně zamrazeny (-80 až -20°C) po dobu 6 týdnů.
- Vzorky plazmy a séra jsou stabilní až tři cykly zmrazení/rozmrazení.
- Vzorky plazmy a séra musí být před přenosem do kazety vytemperovány na pokojovou teplotu.
- Přeprava plné krve, plazmy nebo séra musí splňovat státní a místní předpisy pro přepravu vzorků.



## 12 Postup

### 12.1 Příprava vzorku

**Důležité:** Test zahajte do čtyř hodin od přidání vzorku do kazety.

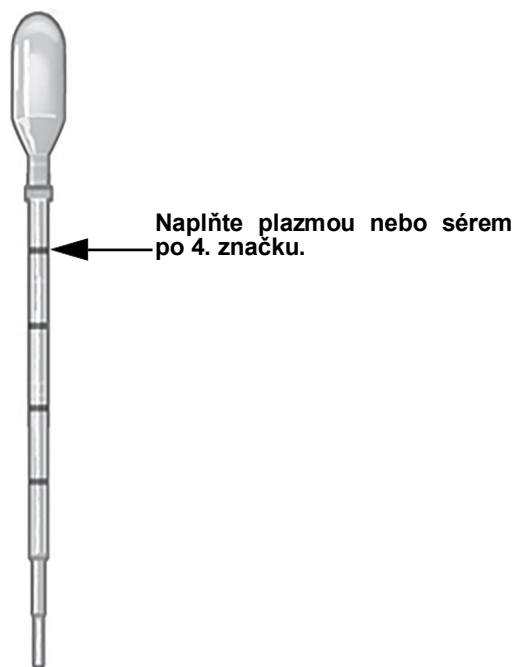
1. Po centrifugaci plné krve, lze plazmu přímo pipetovat do kazety. Pro získání platných výsledků je rozhodující dostatečný objem vzorku (viz. pokyny v kapitole 12.2, Příprava kazety).
2. Při použití zmrazených vzorků je nutné je nejprve umístit na pokojovou teplotu (20-35°C) a vytemperovat je na pokojovou a rovnovážnou teplotu.
3. Vzorky plazmy a séra uložené při 2-8°C musí být z chladničky vyjmuty a před použitím vytemperovány na pokojovou teplotu.
4. Vzorky plazmy uchovávané při teplotě 2-8°C nebo zmrazené musí být před použitím na 10 sekund vortexovány. Pokud je vzorek zakalený, vyčistěte ho rychlou centrifugací.



### 12.2 Příprava kazety

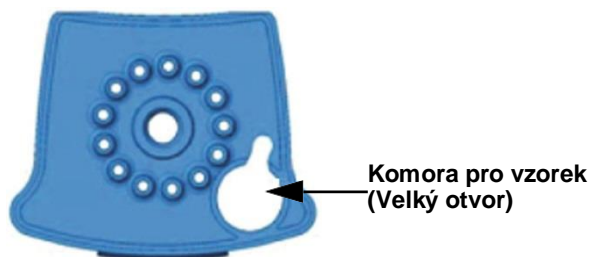
1. Použijte jednorázové rukavice.
2. Před použitím vyjměte kazetu a vytemperujte ji na pokojovou teplotu.
3. Zkontrolujte, zda nedošlo k poškození kazety. Pokud je poškozena, nepoužívejte ji.
4. Označte kazetu identifikací vzorků.
5. Otevřete víko kazety.
6. Přidejte vzorek do kazety.
  - **Možnost 1:** Pokud používáte přenosovou pipetu ze soupravy (viz. Obr. 1), pipetujte pipetou plazmu nebo sérum ze sběrné zkumavky až do 4 značky (1 ml) nebo trochu výše. Vyprázdněte obsah pipety do komory kazety (viz. Obr. 2).
  - **Možnost 2:** Pokud používáte automatickou pipetu, přeneste 0,6 ml plazmy nebo séra ze sběrné trubice do komory kazety (viz. Obr. 2).

**Poznámka:** Neodstraňujte tenký plastový film, který kryje 13 vnitřních kroužků portů kazety.



Obr. 1. Přenosová pipeta testu HBV VL

7. Zavřete víko kazety. Ujistěte se, že je víko pevně zavřeno.



Obr. 2. Kazeta testu HBV VL (Pohled shora)

### 12.3 Zahájení testu

Důležité: Před zahájením testu se ujistěte, že soubor nastavení (definition file) analýzy HBV VL byl nahrán do softwaru počítače.

V této části jsou uvedeny základní kroky pro provedení testu. Podrobné pokyny nalezete v příručkách GeneXpert Dx System Operator Manual nebo v GeneXpert Infinity System Operator Manual, v závislosti na použitém modelu.

Poznámka: Pokud správce systému změnil výchozí nastavení, mohou se jednotlivé kroky lišit.

1. Zapněte systém GeneXpert:
  - Pokud používáte přístroj GeneExpert Dx, nejprve zapněte přístroj a poté počítač. Software GeneXpert se spustí automaticky nebo může vyžadovat spuštění 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 spuštění zástupce softwaru Xpertise na pracovní ploše systému Windows®.
2. Přihlaste se do softwaru přístroje GeneXpert pomocí vašeho přihlašovacího jména a hesla.
3. V okně systému GeneXpert klikněte na **Create Test** (GeneXpert Dx) nebo **Orders** a **Order test** (Infinity). Po kliknutí na **Create test** se otevře dialogové okno.
4. Naskenujte pacientovo identifikační číslo (ID) (volitelné). Pokud zadáte pacientovo ID, ujistěte se, že je zadáno správně. ID pacienta bude přiřazeno k výsledkům testů a zobrazí se v okně **View Results**.

- 
- 
5. Naskenujte nebo zadejte ID vzorku. Pokud zadáte ID vzorku, ujistěte se, že je zadáno správně. ID vzorku bude přiřazeno k výsledkům testů a zobrazí se v okně View Results.
  6. Naskenujte čárový kód na kazetě testu HIV-1 VL. Pomocí informací z čárového kódu vyplní software automaticky následující údaje: Select Assay, Reagent Lot ID, Cartridge SN a Expiration Date.
  7. Klikněte na Start Test (GeneXpert Dx) nebo Submit (Infinity). V dialogovém okně, které se objeví, napište vaše heslo.
  8. Pro systém GeneXpert Infinity umístěte kazetu do modulu. Kazeta bude automaticky načtena a po dokončení testu jej zlikvidujte do příslušných odpadních nádob pro vzorky v souladu s platnými nařízeními vašeho zařízení.  
nebo  
Pro systém GeneExpert Dx:
    - A. Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a vložte kazetu.
    - B. Zavřete dvířka. Test se spustí a zelená kontrolka přestane blikat. Po ukončení testu se kontrolka vypne.
    - C. Před otevřením dvířek modulu počkejte, dokud systém neuvolní zámek dvířek a poté vyjměte kazetu.
    - D. Použitou kazetu zlikvidujte do příslušných odpadních nádob pro vzorky v souladu s platnými nařízeními vašeho zařízení.

### 13 Zobrazení a tisk výsledků

V této části jsou uvedeny základní kroky pro zobrazení a tisk výsledků. Podrobnější pokyny pro zobrazení a tisk výsledků naleznete v příručce *GeneXpert Dx System Operator Manual* nebo *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Kliknutím na ikonu **View Results** zobrazíte výsledky.
2. Po dokončení testu klikněte pro zobrazení a/nebo generování výsledků do PDF na tlačítko **Report** v okně View Results.

### 14 Kontrola kvality

#### CONTROL

Každý test obsahuje shodu objemu vzorku (Sample Volume Adequacy, SVA), Interní kvantitativní standardy – vysoký a nízký (Internal Quantitative Standard High a Low, IQS-H and IQS-L), Parametry specifické pro šarže (Lot Specific Parameters, LSP) a Kontrola sondy (Probe Control PCC).

- **Shoda objemu vzorku (SVA)** – Zajišťuje správné přidání vzorku do kazety. SVA ověřuje, že byl do vzorkové komory přidán správný objem vzorku. SVA platí, pokud splňuje platná kritéria přijatelnosti. Pokud SVA neplatí, do kazety nebyl přidán žádný vzorek, objeví se hlášení 2096 nebo pokud bylo přidán nedostatečný bojem vzorku, zobrazí se ERROR 2097. Systém zabrání uživateli v pokračování testu.
- **Interní kvantitativní kontroly vysoké a nízké (IQS-H a IQS-L)** – IQS-H a IQS-L jsou dva lineární plazmidy se sekvencí nesouvisející s HBV a jsou obsaženy v každé kazetě a procházejí celým testovacím procesem. Jedná se o standardy používané pro výpočet koncentrace HBV DNA ve vzorku. IQS-H a IQS-L navíc detekují inhibici PCR, čímž působí jako kontrola zpracování vzorku. IQS-H a IQS-L platí, pokud jsou splněna kritéria přijatelnosti.
- **Specifičnost kvantifikace jednotlivé dávky (Lot Specific Parameters, LSP)** – každá sada obsahuje zabudovaný LSP generovaný z kalibračního panelu HBV, provedený podle standardů WHO. LSP jsou jedinečné pro každou dávku činidla a používá se k zajištění správné kvantifikace.
- **Kontrola sondy (PCC):** před zahájením PCR reakce, měří systém GeneXpert fluorescenční signál sond za účelem ověření rehydratace reagentů, naplnění reakčních zkumavek v kazetě, k ověření integrity sondy a stability barviva. Kontrola sondy je platná, pokud splňuje předepsaná kritéria.
- **Externí kontroly:** Externí kontroly by měly být použity v souladu místní, státní a federální akreditační organizací.



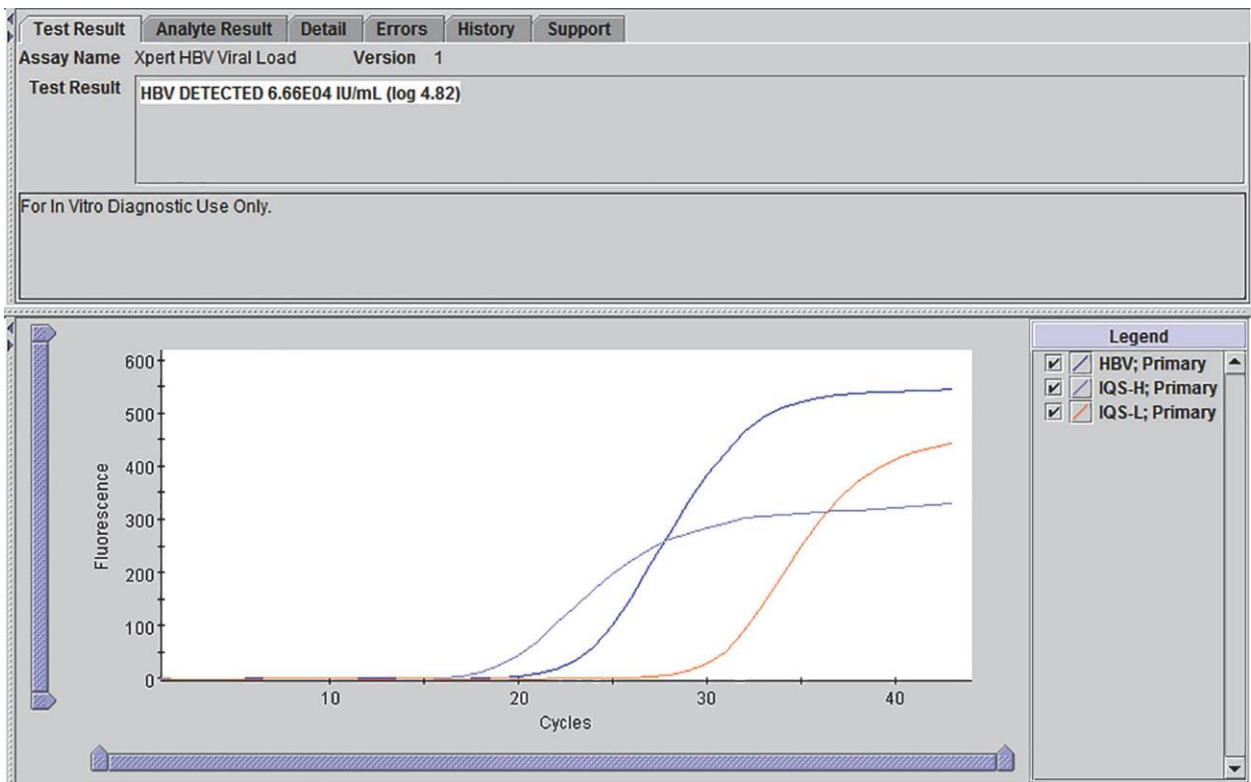
## 15 Interpretace výsledků

Na základě naměřených fluorescenčních signálů a vložených matematických vzorců vyhodnocuje systém GeneXpert Dx výsledky, které se zobrazí v okně View Results. (Viz. Obr. 3. až Obr. 4.). Možné výsledky jsou zobrazeny v Tab. 1.

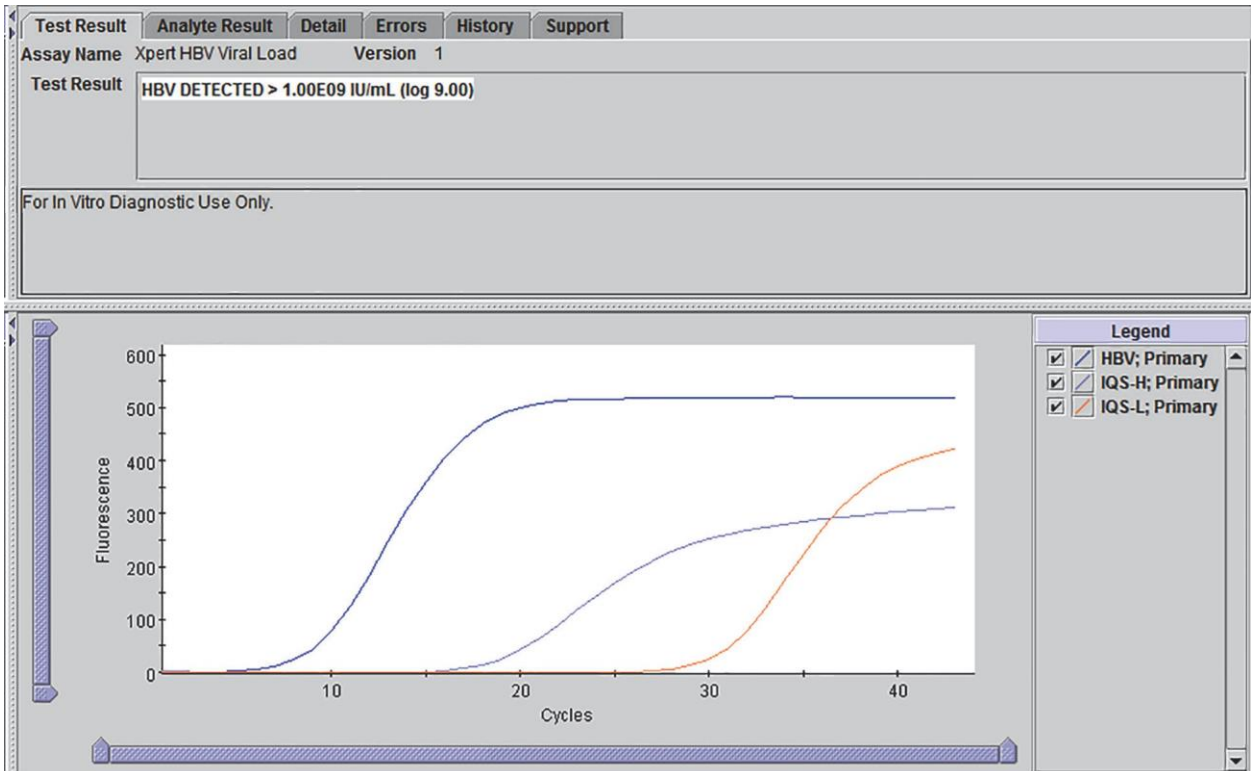
**Tab.1. Interpretace výsledků testu Xpert HBV VL**

Výsledek	Interpretace
<b>HBV DETEKOVÁN (DETECT)</b> IU/mL (log X.XX) Viz. Obr. 3.	HBV DNA je detekována XX IU/mL (log X.XX). <ul style="list-style-type: none"> <li>• HBV DNA má kvantitativní hodnotu v analytickém rozsahu měření (10-1.00E09 IU/mL).</li> <li>• IQS-H a IQS-L: PLATÍ.</li> <li>• Kontrola sondy – PLATÍ; všechny kontroly sond jsou platné.</li> </ul>
<b>HBV DETEKOVÁN (DETECTED)</b> >1.00E09 IU/mL Viz. Obr. 4	HBV DNA je detekována nad analytickým rozsahem měření. <ul style="list-style-type: none"> <li>• IQS-H a IQS-L: PLATÍ.</li> <li>• Kontrola sondy – PLATÍ; všechny kontroly sond jsou platné.</li> </ul>
<b>HBV DETEKOVÁN (DETECTED)</b> <10 IU/mL Viz. Obr. 5.	HBV DNA je detekována pod analytickým rozsahem měření. <ul style="list-style-type: none"> <li>• IQS-H a IQS-L: PLATÍ.</li> <li>• Kontrola sondy – PLATÍ; všechny kontroly sond jsou platné.</li> </ul>
<b>HBV NENÍ DETEKOVÁN (NOT DETECTED)</b> Viz. Obr. 6.	HBV DNA není detekována <ul style="list-style-type: none"> <li>• IQS-H a IQS-L: PLATÍ.</li> <li>• Kontrola sondy – PLATÍ; všechny kontroly sond jsou platné.</li> </ul>
<b>NEPLATNÝ (INVALID)</b> Viz. Obr. 7	Přítomnost nebo absenci HBV DNA nelze stanovit. Zopakujte test podle pokynů v části 16.2. <ul style="list-style-type: none"> <li>• IQS-H a/nebo IQS-L: NEPLATÍ; Cycle thresholds (Ct) není v platném rozsahu.</li> <li>• Kontrola sondy – PLATÍ; všechny kontroly sond jsou platné.</li> </ul>
<b>CHYBA (ERROR)</b> Viz. Obr. 8.	Přítomnost nebo absenci HBV DNA nelze stanovit. Zopakujte test podle pokynů v části 16.2. Kontrola sondy: NEPLATÍ; jedna nebo všechny kontroly sond neplatí. * Pokud kontrola sondy platí, chyba je způsobena maximálním tlakem překračujícím platný rozsah nebo došlo k selhání systémové součásti.
<b>BEZ VÝSLEDKU (NO RESULT)</b>	Přítomnost nebo absenci HBV DNA nelze stanovit. Zopakujte test podle pokynů v části 16.2. <b>BEZ VÝSLEDKU</b> indikuje shromáždění nedostatečných údajů. Například v případě, kdy operátor zastavil probíhající test.

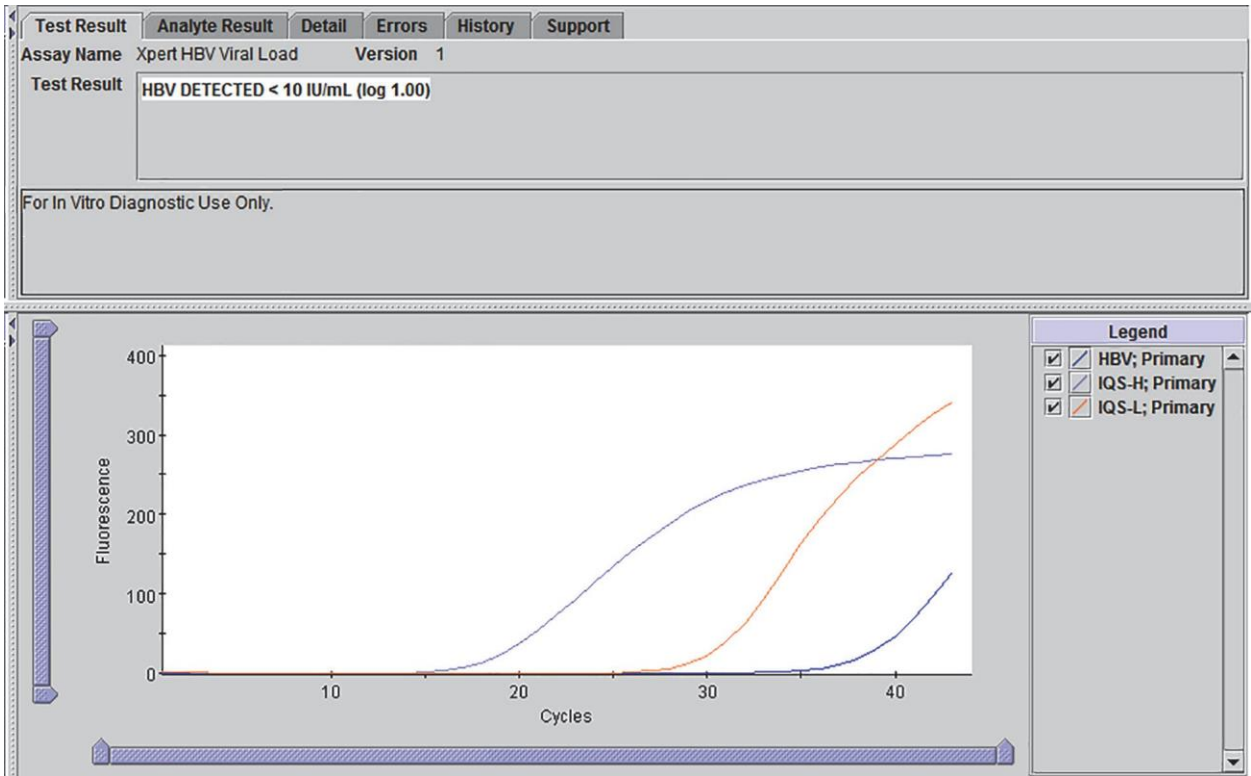
**Poznámka:** Zobrazené obrázky jsou pouze orientační. Zobrazení se může podle verze systému lišit.



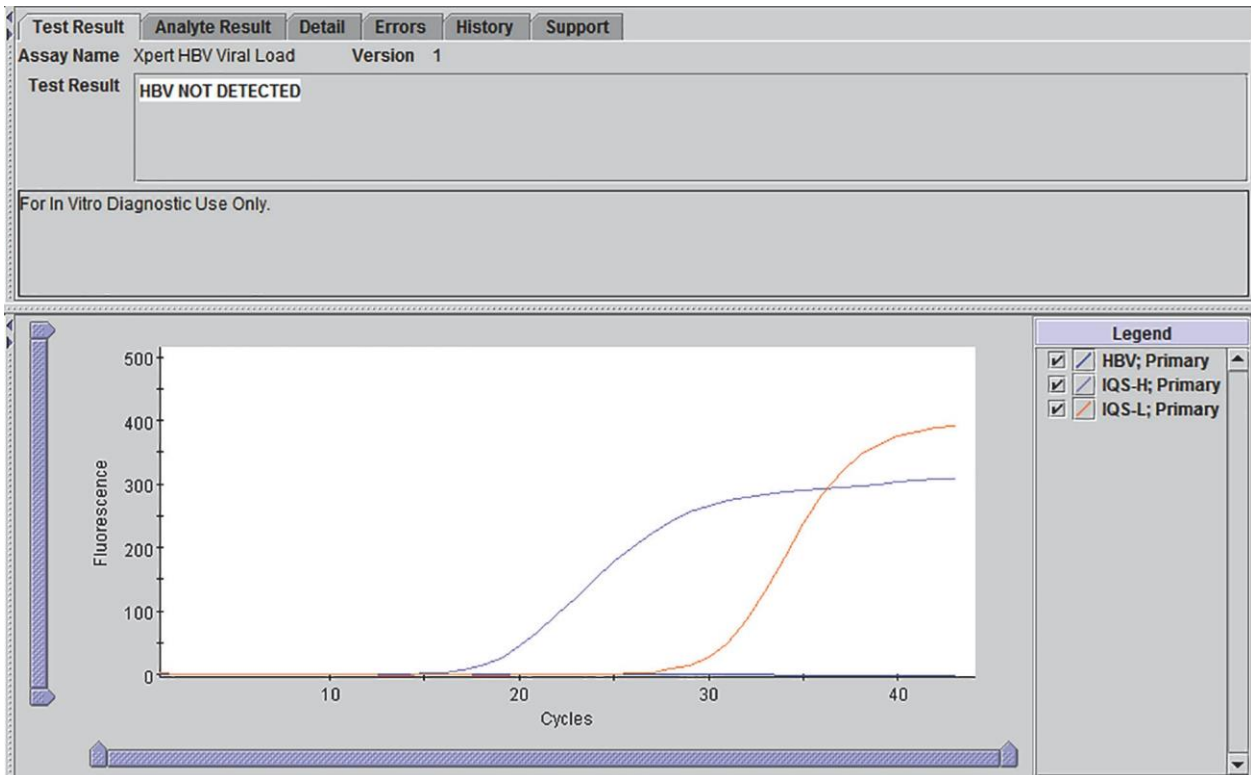
Obr 3. HBV Detekován a kvantifikován



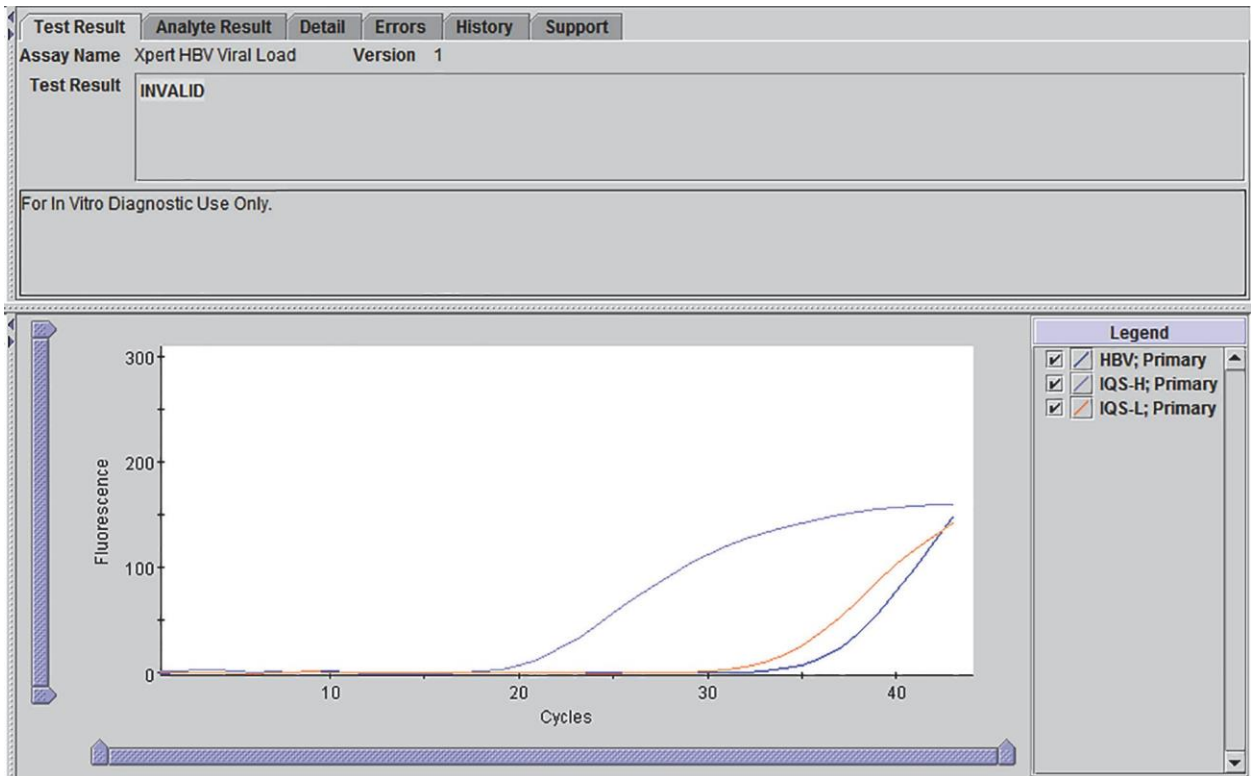
Obr. 4. HBV detekován ale s titrem nad kvantitativním rozsahem testu



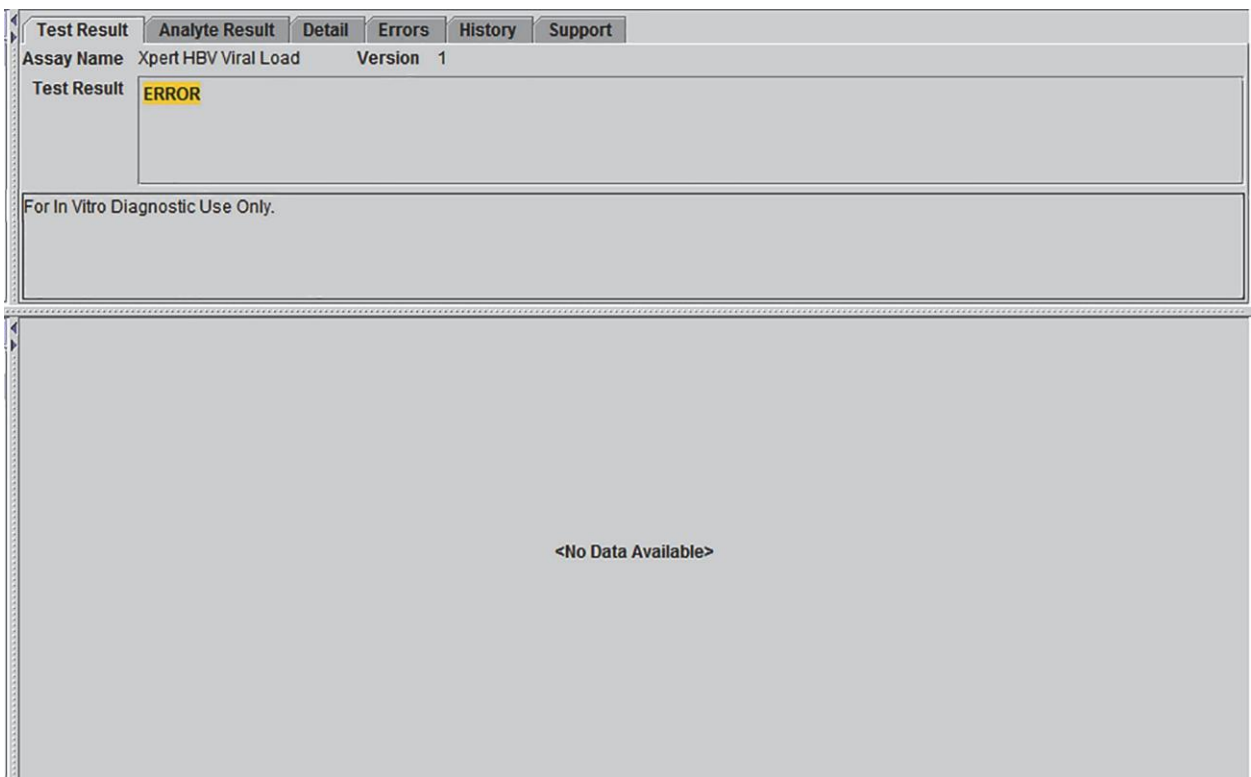
Obr. 5. HBV detekován ale s titrem pod kvantitativním rozsahem testu



Obr. 6. HBV nebyl detekován



Obr. 7. Neplatný výsledek



Obr. 8. Chyba

---

---

## 16 Opakování testu

### 16.1 Důvody pro opakování testu

Pokud dojde k některému z níže uvedených výsledků, opakujte test podle pokynů v části 16.2

- Výsledek **NEPLATNÝ (INVALID)** znamená jednu nebo více skutečností:
  - IQS-H a/nebo IQS-L Ct nejsou v platném rozsahu.
  - Vzorek nebyl řádně zpracován nebo byla inhibována PCR.
- Výsledek **CHYBA (ERROR)** svědčí o přerušení testu pravděpodobně kvůli nesprávnému naplnění reakční zkumavky, protože byl detekován problém s integritou sondy nebo byly překročeny maximální zátěžové limity.
- Výsledek **BEZ VÝSLEDKU (NO RESULT)** znamená, že shromážděná data nebyla dostatečná. Např. byl probíhající test přerušen obsluhujícím pracovníkem.

### 16.2 Postup opakování testu

#### Pro opakování testu v případě výsledků **INVALID**, **ERROR**, nebo **NO RESULT**

1. Vyjměte ze sady novou kazetu.
2. Viz. kapitola 12, včetně kapitoly 12.2 Příprava kazety a kapitoly 12.3 Začátek testování.

### 3. Omezení

- Dodržujte pravidla správné laboratorní praxe a mezi jednotlivými vzorky vyměňujte rukavice. Zabráňte tak kontaminaci vzorků a činidel.
- Vzácné mutace v cílové oblasti genu mohou ovlivnit vazbu primeru nebo sond, což může vést k nedostatečné kvantifikaci nebo selhání detekce viru
- Tento test byl validován pouze pro použití sérem a plazmou s EDTA. Testování jiných typů vzorků může mít za následek získání nepřesných výsledků.
- Negativní výsledek testu nevylučuje infekci HBV. Z tohoto důvodu by test HBV VL neměl být použit jako diagnostický test pro potvrzení přítomnosti infekce HBV.

### 4. Charakteristiky testu

#### a. Limit detekce

Limit detekce (LOD) testu HBV VL byl stanoven pro HBV genotyp a testováním sériových ředění podle standardů Mezinárodní zdravotnické organizace (WHO) pro HBV DNA zředěné v HBV – negativní plazmě nebo séru.

Výsledky pro plazmu s EDTA a sérem jsou zobrazeny v Tab. 2. Studie prokázala, že test HBV VL detekuje HBV DNA o koncentraci 3.20 IU/mL v plazmě s EDTA a o koncentraci 5.99 IU/mL v séru, s 95% pozitivitou.

**Tab. 2. Limit detekce testu HBV VL podle WHO**

Genotyp	Matrice	Nominální koncentrace HBV (IU/mL)	Počet platných replikátů	Počet pozitivních výsledků	Míra positivity (%)	95% LOD 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	71	99	5.99 IU/mL (5.13 – 6.86 IU/mL)
		5	72	67	93	
		2.5	72	58	81	
		1.25	72	33	46	
		0.625	72	21	29	
		0	72	0	0	

Limit detekce pro genotypy HBV B až H byl stanoven testováním šesti nebo sedmičlenných panelů připravených naočkováním HBV pozitivních vzorků reprezentujících každý genotyp v HBV-negativní plazmě s EDTA. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 3.

**Tab. 3. Limit detekce pro HBV genotypy B až H plazmě s EDTA**

Genotyp	95% LOD 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 genotypy HBV B až H byl stanoven v séru podle CLSI EP17-A2<sup>10</sup> za použití 24 opakování. Vyšší koncentrace byla testována, pokud nebyla dosažena míra positivity > 85%. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 4.

**Tab. 4. Ověření LOD pro genotypy B až H v séru**

Genotyp	Nominální koncentrace HBV (IU/mL)	Míra positivity (%)
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

**b. Dolní limit kvantifikace**

Dolní limit detekce (LLOQ) je definován jako nejnižší koncentrace HBV DNA, která je kvantifikována s přijatelnou přesností a pravdivostí a je určena pomocí celkové analytické chyby (TAE), a přístupu založeném na rozdílu mezi dvěma měřeními.

Analýzy dolního limitu detekce jsou uvedeny v Tab. 5. Výsledky ukazují, že test HBV VL může kvantifikovat 10 IU/mL HBV DNA.

**Tab. 5. Stanovení dolního limitu detekce testu HBV VL**

HBV Genotyp	Pořadí	N	Koncentrace HBV (log <sub>10</sub> IU/mL)		Odchylka	Celková SD	Celková analytická chyba <sup>a</sup>	Dva přístupy měření <sup>b</sup>
			Očekávané	Pozorováno				
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
	4	8	1.00	0.91	-0.09	0.11	0.31	0.32

**c. Přesnost/Opakovatelnost**

Přesnost/opakovatelnost testu HBV VL byla pro odhad úplné odchylky testována v K<sub>2</sub>EDTA plazmě analýzou rozptylu (ANOVA). Pro test byly použity HBV pozitivní členy, které byly připraveny zředěním dobře charakterizovaného HBV plazmidu nebo HBV pozitivního klinického vzorku lidské plazmy

Výsledky jsou uvedeny v Tab. 6.

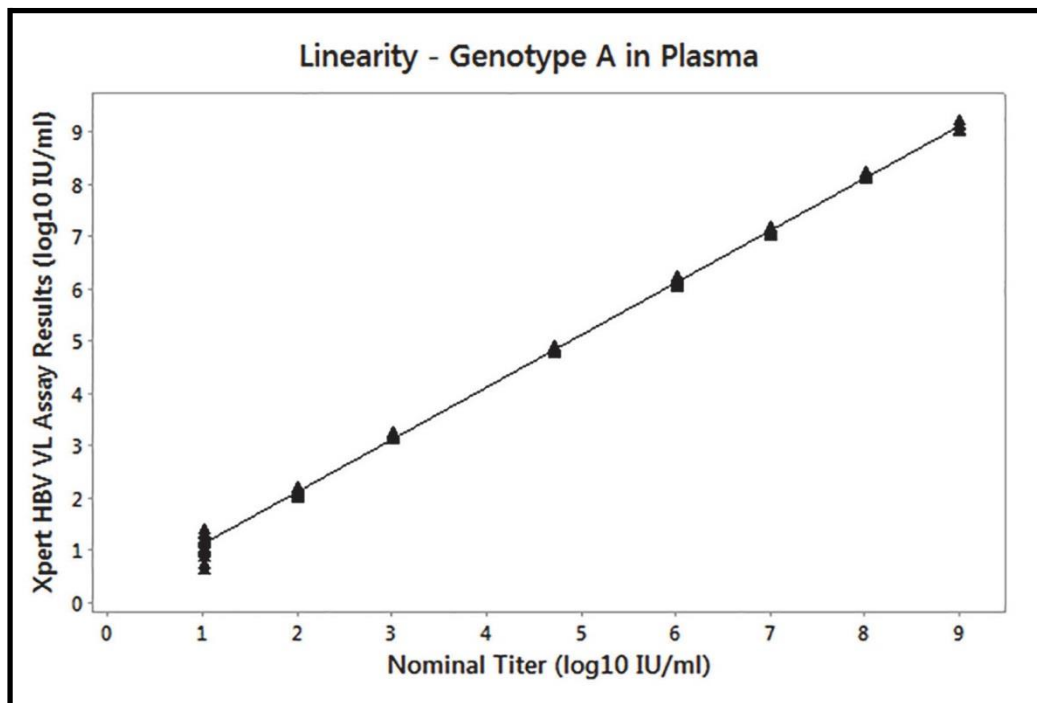
**Tab. 6. Přesnost/Opakovatelnost testu HBV VL**

Koncentrace HBV DNA (Log <sub>10</sub> IU/mL)			Příspěvek k celkové odchylce SD (CV%)										Celková přesnost	
			Nástroj		Pořadí		Den		Operátor/ Běh		V rámci běhu			
Očekávané	Pozorované	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

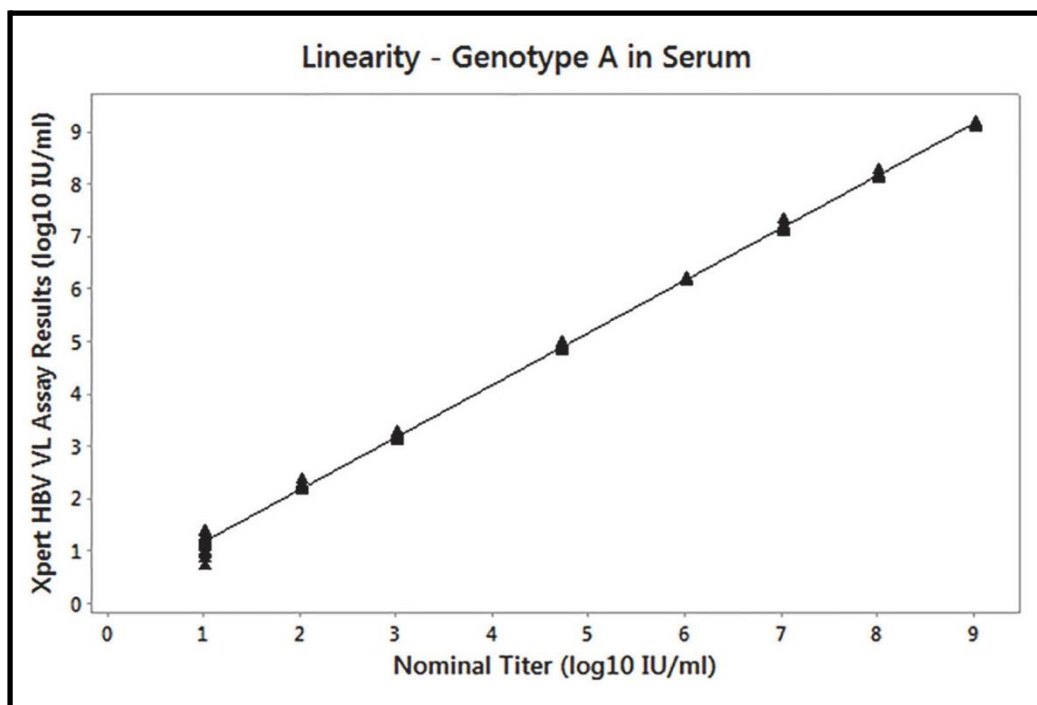
**d. Lineární rozsah**

Lineární rozsah testu HBV VL byl stanoven analýzou osmičlenného panelu pokrývající koncentrace HBV v rozsahu 1.00 - 9.00 log<sub>10</sub> IU/mL. Výsledky jsou uvedeny na Obr. 9 a Obr. 10.





Obr. 9. Linearita testu Xpert HBV VL v plazmě s EDTA



Obr. 10. Linearita testu Xpert HBV VL v séru s EDTA

Limita byla prokázána podle směrnice CLSI EP06-A<sup>13</sup> pro genotypy A-H s  $R^2 > 0.99$ . Test HBV VL je lineární v rozmezí 1.00 - 9.00 log<sub>10</sub> IU/mL pro genotyp A v rozmezí genotypů B-H (viz. Tab. 7).

**Tab. 7. Linearita testu Xpert HBV VL podle genotypu**

Genotyp	Lineární rovnice	R <sup>2</sup>	Testovaný rozsah (Log <sub>10</sub> 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

**e. Analytická specifita (Exkluzivita)**

Analytická specifita testu HBV VL byla vyhodnocena přidáním potencionálně zkříženě reagujících organismů v koncentraci  $1 \times 10^6$  CFU/mL pro mikroorganismy nebo  $1 \times 10^5$  kopií/mL nebo TCID<sub>50</sub>/mL pro viry v HBV-negativní plazmě s EDTA a v plazmě s EDTA obsahující přibližně 30 IU/mL pro HBV, kód: 10/266)<sup>4</sup>. Testované organismy jsou uvedeny v Tab. 8. Žádný z testovaných organismů nevykazoval křížovou reaktivitu ani neinterferovaly s kvantifikací testu HBV VL.

**Tab. 8. Analytická specifita organismů**

Viry		Bakterie	Kvasinky
BK Human polyoma virus	Human Immunodeficiency virus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Human Immunodeficiency virus 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Epstein-Barr virus	Human papilloma virus 16		
Hepatitis A virus	Human papilloma virus 18		
Hepatitis C virus	Human T-cell lymphotropic virus type 1		
Herpes simplex virus 1	Human T-cell lymphotropic virus type 2		
Herpes simplex virus 2	Varicella Zoster virus		
Human herpes virus 6	Vaccina virus		
Human herpes virus 8			

#### f. Potenciálně interferující látky

Byla hodnocena náchylnost testu HBV VL k interferenci při zvýšených hladinách endogenních látek, markerů autoimunitních onemocnění a léků předepisovaných pacientům. Inhibiční účinky byly hodnoceny v přítomnosti i nepřítomnosti přibližně 30 IU/mL referenční HBV DNA (4<sup>th</sup> pro HBV, NIBSC kód: 10/266).<sup>4</sup>

Zvýšené hladiny endogenních látek uvedené v Tab. 9 prokázaly, že neinterferují s kvantifikací testu HBV VL.

**Tab. 9. Endogenní látky a testované koncentrace**

Látka	Testovaná koncentrace
Albumin	9 g/dL
Bilirubin	20 mg/dL
Hemoglobin	500 mg/dL
Lidská DNA	0.4 mg/dL
Triglyceridy	3000 mg/dL

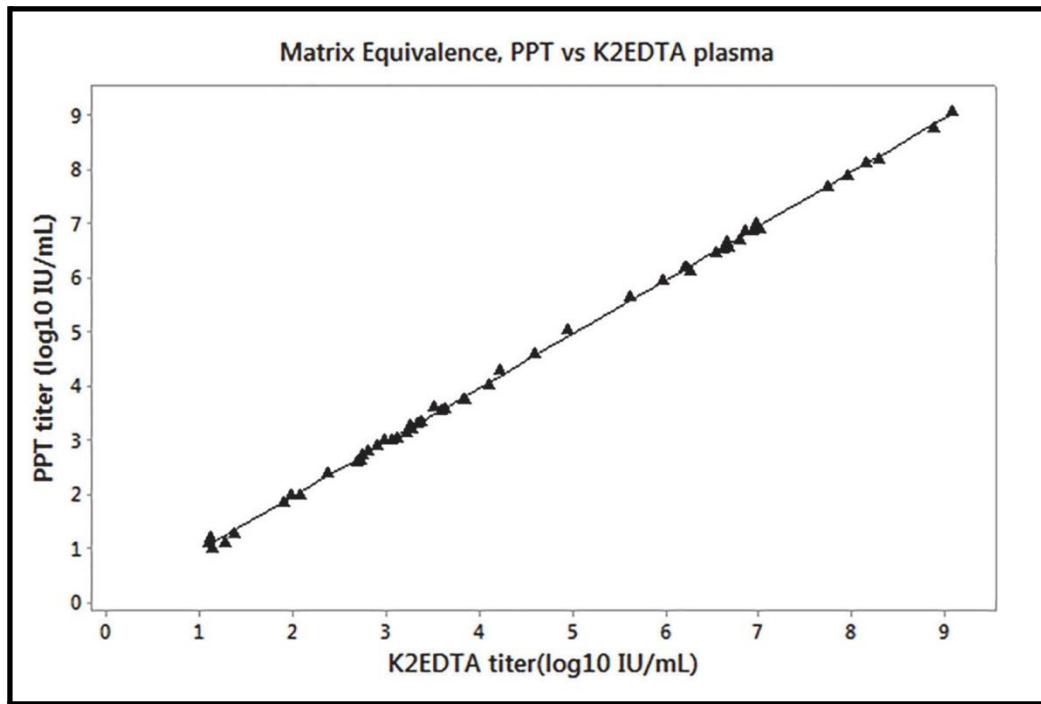
Léčiva uvedená v Tab. 10 neinterferují s kvantifikací testu HBV VL a ani neovlivňují specifitu testu při testování trojnásobné vrcholové koncentraci v plazmě ( $C_{\max}$ ) v přítomnosti i nepřítomnosti HBV DNA.

**Tab. 10. Testovaná léčiva**

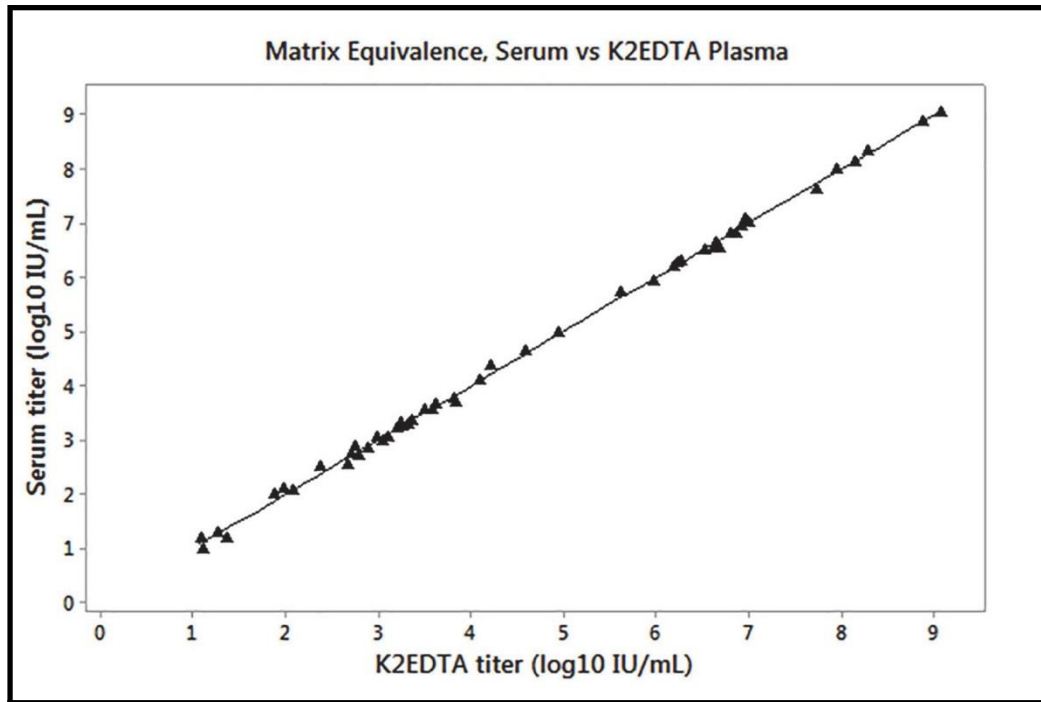
Třídy	Léčiv
1	Zidovudine, Saquinavir, Clarithromycin, Interferon-alfa-2b, Ritonavir, Ombitasvir, Paritaprevir, Dasabuvir, Didanosine
2	Abacavir Sulfate, Fosamprenavir, Peginterferon-alfa-2a, Ribavirin, Entecavir, Adefovir Dipivoxil
3	Tenofovir disoproxil fumarate, Lamivudine, Indinavir sulfate, Ganciclovir, Valganciclovir HCl, Acyclovir, Paroxetine, Telbivudine
4	Stavudine, Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacin Fluoxetine
5	Nevirapine, Nelfinavir, Azithromycin, Valacyclovir, Sertraline, Tenofovir, Alafenamide

#### g. Ekvivalence matrix (Matrix Equivalency) ( $K_2$ EDTA Plazma, PPT-EDTA a Sérum)

Ekvivalence matrix testu HBV VL byla provedena s 32 odpovídajícími klinickými vzorky pozitivními na HBV a 23 negativními klinickými vzorky shromážděnými v  $K_2$ EDTA plazmě, PPT-EDTA plazmě a ve zkumavkách s plazmou. Matematická ekvivalence byla prokázána v testovaných vzorcích, jak je uvedeno v Obr. 11 a Obr. 12.



Obr. 11. Graf lineární regrese PPT-EDTA plazmy versus K<sub>2</sub>EDTA plazma

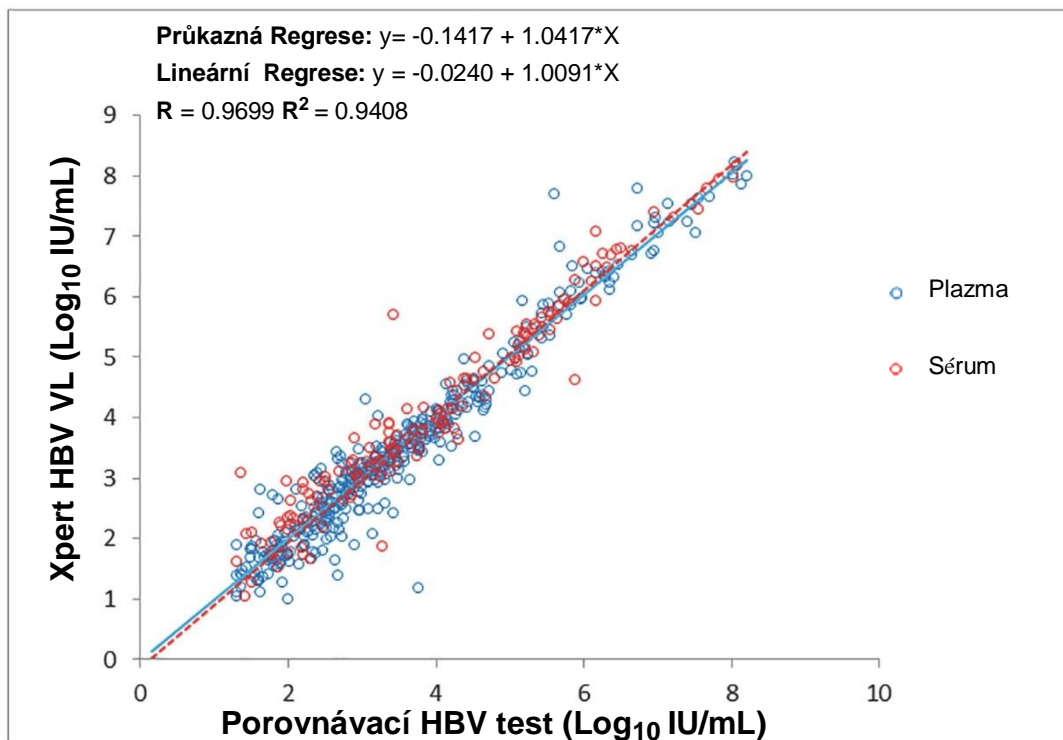


Obr. 12. Graf lineární regrese séra versus K<sub>2</sub>EDTA plazma

## 5. Charakteristiky testu – Klinická výkonnost

### a. Specifita u zdravých dárců

Specifita testu HBV VL byla stanovena s použitím 99 vzorků séra a 100 vzorků plazmy s EDTA od dárců krve negativních na HBV. Specifita testu Xpert HBV VL byla 100.0% [95% CI: 98.1-100.0 (196/196)].



Obr.13. Korelace testu Xpert HBV VL a porovnávacího testu za použití vzorků plazmy a séra

---

---

## 6. Zdroje

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. March 2015. Accessed March 14, 2018 at: <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. Available at: <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), 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*. Document M29 (refer to latest edition).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/wastemanag/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 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.

---

---

## 7. Sídla společnosti Cepheid

Hlavní sídlo	Evropské vedení
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France
Tel: +1 408.541.4191	Tel: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
<a href="http://www.cepheid.com">www.cepheid.com</a>	<a href="http://www.cepheidinternational.com">www.cepheidinternational.com</a>















## 8. Technická podpora

Před kontaktováním technické podpory společnosti Cepheid si připravte následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybové zprávy (pokud existují)
- Verze softwaru a případně číslo servisního štítku počítače

Kontaktní informace o dalších pobočkách <http://www.cepheid.com/company/contact-us/>.

## 9. Tabulka symbolů

Symbol	Význam
	Katalogové číslo
	<i>In vitro</i> diagnostické lékařské zařízení
	Nepoužívejte opakovaně
	Kód šarže
	Označení CE – evropská shoda
	Autorizovaný zástupce pro EU
	Pozor
	Prostudujte doprovodný návod
	Výrobce
	Obsahuje dostatečný počet pro n testů
	Datum spotřeby
	Kontrola
	Teplotní limity
	Biologické riziko



Cepheid AB  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna  
Sweden

CE 0088 IVD