

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

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

Οδηγίες χρήσης

**CE 2797 IVD**

## **Εμπορικό σήμα, διπλώματα ευρεσιτεχνίας και δηλώσεις πνευματικών δικαιωμάτων**

### **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>, το λογότυπο της Cepheid, το GeneXpert<sup>®</sup> και το Xpert<sup>®</sup> είναι εμπορικά σήματα της Cepheid, κατατεθέντα στις Η.Π.Α. και άλλες χώρες.

Όλα τα υπόλοιπα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.

Η ΑΓΟΡΑ ΑΥΤΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΜΕΤΑΒΙΒΑΖΕΙ ΣΤΟΝ ΑΓΟΡΑΣΤΗ ΤΟ ΜΗ ΜΕΤΑΒΙΒΑΣΙΜΟ ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΑΥΤΕΣ ΤΙΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ. ΔΕΝ ΜΕΤΑΒΙΒΑΖΕΤΑΙ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΡΗΤΑ, ΕΜΜΕΣΑ Ή ΩΣ ΚΕΚΤΗΜΕΝΟ. ΕΠΙΠΛΕΟΝ, ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΕΤΑΙ ΚΑΝΕΝΑ ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΕΠΑΝΑΠΩΛΗΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΑΓΟΡΑ ΑΥΤΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ.

**© 2018-2023 Cepheid.**

# Xpert® HBV Viral Load

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

## 1 Κατοχυρωμένη ονομασία

Xpert® HBV Viral Load

## 2 Κοινή ή συνήθης ονομασία

Xpert HBV VL

## 3 Προβλεπόμενη χρήση

Η εξέταση Cerheid Xpert® HBV Viral Load (VL) είναι μια *in vitro* εξέταση ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων σχεδιασμένη για την ποσοτικοποίηση του DNA του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) σε ανθρώπινο ορό ή πλάσμα (EDTA) από χρόνια μολυσμένα με HBV άτομα με τη χρήση των αυτοματοποιημένων συστημάτων GeneXpert®.

Η εξέταση προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα και άλλους εργαστηριακούς δείκτες για την πρόγνωση της νόσου, καθώς και για χρήση ως βοήθημα στην αξιολόγηση της ανταπόκρισης του ιού στην αντιϊκή θεραπεία, όπως μετράται από τις αλλαγές στα επίπεδα του DNA του HBV στο πλάσμα ή στον ορό.

Η εξέταση δεν προορίζεται για χρήση ως εξέταση ελέγχου αιμοδοτών για HBV ή ως διαγνωστική εξέταση για την επιβεβαίωση παρουσίας λοίμωξης από HBV.

## 4 Περίληψη και επεξήγηση

Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) είναι ένας μικρός ιός DNA με έλυτρο της οικογένειας Hepadnaviridae και είναι υπεύθυνος για την οξεία και χρόνια ηπατίτιδα HBV. Ο ιός έχει μικρό κυκλικό γονιδίωμα DNA που είναι μερικώς δίκλωνο, εν μέρει μονόκλωνο και έχει διάμετρο 42 nm. Ο HBV περιέχει πολυάριθμα αντιγονικά συστατικά που περιλαμβάνουν επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας Β (HBsAg), αντιγόνο πυρήνα ηπατίτιδας Β (HBcAg) και αντιγόνο ηπατίτιδας Β e (HBeAg). Ο HBV μεταδίδεται με διαδερμική ή βλεννογονική έκθεση στο αίμα ή σε σωματικά υγρά μολυσμένου ατόμου, από μολυσμένη μητέρα στο νεογέννητο, μέσω στενής επαφής εντός του νοικοκυριών, μέσω μη ελεγχμένης μετάγγισης αίματος ή μη ασφαλών ενέσεων σε χώρους υγειονομικής περίθαλψης, μέσω χρήσης ενέσιμων φαρμάκων και από σεξουαλική επαφή με μολυσμένο άτομο.

Η χρόνια ηπατίτιδα Β (CHB) μπορεί να παρουσιαστεί είτε ως ηπατίτιδα Β θετική για αντιγόνο (HBeAg) είτε ως CHB αρνητική για HBeAg. Ο ειδικός για την ηλικία οροθετικός επιπολασμός της HBsAg ποικίλλει σημαντικά ανά γεωγραφική περιοχή, με τον υψηλότερο επιπολασμό (>5%) στην υποσαχάρια Αφρική, την Ανατολική Ασία, ορισμένες περιοχές των Βαλκανικών περιοχών, τα νησιά του Ειρηνικού και τη λεκάνη του Αμαζονίου της Νότιας Αμερικής. Επιπολασμός κάτω του 2% παρατηρείται σε περιοχές όπως η Κεντρική Λατινική Αμερική, η Βόρεια Αμερική και η Δυτική Ευρώπη. Συνολικά, σχεδόν ο μισός παγκόσμιος πληθυσμός ζει σε περιοχές υψηλής ενδημικότητας.<sup>1</sup> Η νοσηρότητα και η θνησιμότητα της CHB συνδέονται με την επιμονή της ιικής αναπαραγωγής και την εξέλιξη σε κίρρωση ή/και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC).<sup>2</sup> Η θνησιμότητα από ιογενή ηπατίτιδα έχει αυξηθεί με την πάροδο του χρόνου και θα συνεχίσει να αυξάνεται εκτός εάν οι άνθρωποι διαγνωστούν και θεραπευτούν.<sup>3</sup>

Το εμβόλιο HBV είναι διαθέσιμο για βρέφη και έχει μειώσει σημαντικά τον αριθμό των νέων χρόνιων λοιμώξεων, αλλά η κάλυψη είναι μόνο 39%.<sup>3</sup> Το 2015, το 3,5% του παγκόσμιου πληθυσμού ζούσε με χρόνια λοίμωξη από HBV με τις περιοχές του Δυτικού Ειρηνικού και της Αφρικής να είναι οι περιοχές που επλήγησαν περισσότερο.<sup>3</sup> Μόνο το 9% των ατόμων με HBV γνώριζε τη διάγνωσή τους και από αυτούς που διαγνώστηκαν, μόνο το 8% λάμβανε θεραπεία.<sup>3</sup> Τα νουκλεοσιδία και τα νουκλεοσιδικά ανάλογα, όπως η τενοφοβίρη και η εντεκαβίρη, συνιστώνται σε όσους είναι κατάλληλοι για θεραπεία,

καθώς αυτοί οι αντικοί παράγοντες είναι αποτελεσματικοί στην καταστολή της αναπαραγωγής του HBV, στην πρόληψη της εξέλιξης σε κίρρωση και στη μείωση των θανάτων που σχετίζονται με το ήπαρ.<sup>1</sup> Η θεραπεία για τον HBV συνεχίζεται δια βίου.<sup>1</sup>

## 5 Αρχή της διαδικασίας

Η εξέταση Xpert® HBV VL είναι μια αυτοματοποιημένη εξέταση για την ποσοτική ανίχνευση του ιού της ηπατίτιδας Β. Η εξέταση εκτελείται σε συστήματα αναλυτών GeneXpert και GeneXpert Infinity της Cepheid.

Τα συστήματα αναλυτών GeneXpert αυτοματοποιούν και ενοποιούν την προετοιμασία των δειγμάτων, την ενίσχυση των νουκλεϊκών οξέων και την ανίχνευση αλληλουχιών-στόχων σε απλά ή σύνθετα δείγματα, χρησιμοποιώντας RT-PCR πραγματικού χρόνου και προσδιορισμούς PCR σε πραγματικό χρόνο. Τα συστήματα περιλαμβάνουν αναλυτή, ηλεκτρονικό υπολογιστή και προφορτωμένο λογισμικό για την εκτέλεση εξετάσεων και την προβολή των αποτελεσμάτων. Τα συστήματα απαιτούν τη χρήση αναλώσιμων φύσιγγων GeneXpert μίας χρήσης που δέχονται τα αντιδραστήρια PCR και φιλοξενούν τις διαδικασίες καθαρισμού και PCR. Επειδή οι φύσιγγες είναι αυτόνομες, η διασταυρούμενη μόλυνση μεταξύ δειγμάτων ελαχιστοποιείται. Για μια πλήρη περιγραφή του συστήματος, ανατρέξτε το *εγχειρίδιο χρήση του GeneXpert Dx* ή το *εγχειρίδιο χρήση του GeneXpert Infinity*.

Η εξέταση Xpert® HBV VL περιλαμβάνει αντιδραστήρια για την ανίχνευση του DNA του HBV σε δείγματα καθώς και δύο εσωτερικούς μάρτυρες που χρησιμοποιούνται για την ποσοτικοποίηση του DNA του HBV. Οι εσωτερικοί μάρτυρες χρησιμοποιούνται επίσης για την επαρκή επεξεργασία του στόχου και την παρακολούθηση της παρουσίας αναστολέων σε αντιδράσεις PCR. Ο μάρτυρας ελέγχου ανιχνευτή (PCC) επαληθεύει την επανενδύαση του αντιδραστηρίου, την πλήρωση του σωληναρίου PCR στη φύσιγγα, την ακεραιότητα του ανιχνευτή και τη σταθερότητα της χρωστικής.

Η εξέταση έχει τυποποιηθεί έναντι του 4<sup>ου</sup> διεθνούς προτύπου του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.) για το DNA του HBV για την τεχνολογία ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων (κωδικός NIBSC: 10/266).<sup>4</sup>

## 6 Αντιδραστήρια και αναλυτές

### 6.1 Υλικά που παρέχονται

Το κιτ εξέτασης HBV VL περιέχει επαρκή αντιδραστήρια για την επεξεργασία 10 δειγμάτων ή/και δειγμάτων ποιοτικού ελέγχου. Το κιτ περιέχει τα εξής:

|   |  |
|---|--|
| <b>Φύσιγγες HBV VL με ενσωματωμένα σωληνάρια αντίδρασης</b>   | <b>10</b>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Σφαιρίδιο 1, σφαιρίδιο 2 και σφαιρίδιο 3 (λυοφιλοποιημένα)</li> <li>Αντιδραστήριο λύσης (Θειοκυανικό γουανίδιο)</li> <li>Αντιδραστήριο έκπλυσης</li> <li>Αντιδραστήριο έκλουσης</li> <li>Αντιδραστήριο πρόσδεσης</li> <li>Αντιδραστήριο πρωτεΐνωσης K</li> </ul> | 1 από το καθένα ανά φύσιγγα<br>1,7 ml ανά φύσιγγα<br>0,5 ml ανά φύσιγγα<br>1,5 ml ανά φύσιγγα<br>1,5 ml ανά φύσιγγα<br>0,48 ml ανά φύσιγγα |
| <b>Αναλώσιμες πιπέτες μεταφοράς 1 ml</b>  | <b>10 ανά κιτ</b>  |
| <b>CD</b>   | <b>1 ανά κιτ</b>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Αρχείο ορισμού προσδιορισμού (ADF)</li> <li>Οδηγίες για την εισαγωγή ADF στο λογισμικό GeneXpert και Infinity</li> <li>Οδηγίες χρήσης (Ένθετο συσκευασίας)</li> </ul>  |  |

**Σημείωση** Δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS) διατίθενται στη διεύθυνση [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ή [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com), στην καρτέλα **ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ (SUPPORT)**.

**Σημείωση** Η αλβουμίνη βόειου ορού (bovine serum albumin, BSA) στα σφαιρίδια αυτού του προϊόντος παράγεται και παρασκευάζεται αποκλειστικά από βόειο πλάσμα που παράγεται στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Τα ζώα δεν είχαν τραφεί με πρωτεΐνη μηρυκαστικών ή άλλες ζωικές πρωτεΐνες. Τα ζώα πέρασαν από προθανάτιο και μεταθανάτιο έλεγχο. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, δεν προκλήθηκε ανάμιξη του υλικού με άλλα ζωικά υλικά.

## 7 Χειρισμός και αποθήκευση

- Αποθηκεύετε τις φύσιγγες Xpert® Xpress Flu/RSV στους 2–35 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.
- Πριν από τη χρήση, αφήστε τις φύσιγγες να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου, εάν έχουν αποθηκευτεί ψυχόμενες.
- Μη χρησιμοποιείτε φύσιγγες των οποίων η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει.
- Μη ανοίγετε το καπάκι της φύσιγγας μέχρι να είστε έτοιμοι για την πραγματοποίηση της δοκιμής.
- Μη χρησιμοποιείτε φύσιγγα που παρουσιάζει διαρροή.

## 8 Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Σύστημα αναλυτών GeneXpert® Dx ή σύστημα αναλυτών GeneXpert® Infinity (οι αριθμοί καταλόγου διαφέρουν ανάλογα με τη διαμόρφωση): Αναλυτής GeneXpert, υπολογιστής με ιδιόκτητο λογισμικό GeneXpert έκδοσης 4.7b ή μεταγενέστερης (συστήματα GeneXpert Dx) ή Xpertise 6.4b ή μεταγενέστερης (Infinity-80/Infinity-48s), σαρωτής γραμμωτών κωδικών και κατάλληλο εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος GeneXpert.
- Εκτυπωτής: Εάν απαιτείται εκτυπωτής, επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη της Cepheid για να κανονίσετε τη αγορά ενός συνιστώμενου εκτυπωτή.
- Λευκαντικό ή υποχλωριώδες νάτριο
- Μετουσιωμένη αιθανόλη

## 9 Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

### 9.1 Γενικά

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Να αντιμετωπίζετε όλα τα βιολογικά παρασκευάσματα, συμπεριλαμβανομένων των χρησιμοποιημένων φυσιγγών ως ικανά για τη μετάδοση μολυσματικών παραγόντων. Επειδή είναι συχνά αδύνατο να γνωρίζετε ποιο δείγμα μπορεί να είναι μολυσματικό, θα πρέπει να αντιμετωπίζετε όλα τα βιολογικά παρασκευάσματα με τις τυπικές προφυλάξεις. Διατίθενται κατευθυντήριες οδηγίες χειρισμού των δειγμάτων από τα Κέντρα Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων των Η.Π.Α.<sup>5</sup> και το Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων.<sup>6</sup>
- Οι ορθές εργαστηριακές πρακτικές και η αλλαγή γαντιών μεταξύ του χειρισμού δειγμάτων συνιστώνται για την αποτροπή της μόλυνσης των δειγμάτων ή των αντιδραστηρίων.
- Να ακολουθείτε τις διαδικασίες ασφάλειας του ιδρύματός σας κατά την εργασία με χημικές ουσίες και κατά τον χειρισμό βιολογικών δειγμάτων.
- Μην αντικαθιστάτε τα αντιδραστήρια της εξέτασης Xpert HBV VL με άλλα αντιδραστήρια.
- Μην ανοίγετε το καπάκι της φύσιγγας της εξέτασης HBV VL μέχρι να είστε έτοιμοι για την προσθήκη του δείγματος.
- Μη χρησιμοποιείτε φύσιγγα που έχει πέσει κάτω μετά την αφαίρεση από τη συσκευασία.
- Μην ανακινείτε τη φύσιγγα. Η ανακίνηση ή η πτώση της φύσιγγας μετά το άνοιγμα του καπακιού μπορεί να προκαλέσει μη έγκυρα αποτελέσματα.
- Μη χρησιμοποιείτε φύσιγγα με σωληνάριο αντίδρασης που έχει υποστεί ζημιά.
- Μην καλύπτετε την ετικέτα γραμμωτού κωδικού που υπάρχει στη φύσιγγα.
- Χρησιμοποιήστε είτε πιπέτα μεταφοράς είτε πιπέτα ακριβείας για την προσθήκη του δείγματος στη φύσιγγα. Μη ρίχνετε το δείγμα απευθείας από τη συσκευή συλλογής στη φύσιγγα.
- Κάθε φύσιγγα Xpert HBV VL μίας χρήσης χρησιμοποιείται για την εκτέλεση μίας εξέτασης. Μην επαναχρησιμοποιείτε τις φύσιγγες.
- Κάθε αναλώσιμη πιπέτα μίας χρήσης χρησιμοποιείται για τη μεταφορά ενός δείγματος. Μην επαναχρησιμοποιείτε αναλώσιμες πιπέτες που έχουν χρησιμοποιηθεί.
- Φοράτε καθαρές εργαστηριακές ποδιές και γάντια. Αλλάζετε τα γάντια μεταξύ της επεξεργασίας κάθε δείγματος.
- Σε περίπτωση μόλυνσης της περιοχής εργασίας ή εξοπλισμού με δείγματα, καθαρίζετε ενδελεχώς τη μολυσμένη περιοχή με πρόσφατα παρασκευασμένο διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 0,5% (ή μια αραιώση 1:10 λευκαντικού χλωρίου για οικιακή χρήση). Συνεχίστε να σκουπίζετε την επιφάνεια με αιθανόλη 70%. Αφήστε τις επιφάνειες εργασίας να στεγνώσουν πλήρως προτού συνεχίσετε.
- Τα βιολογικά παρασκευάσματα, τα τεχνολογικά προϊόντα μεταφοράς και οι χρησιμοποιημένες φύσιγγες θα πρέπει να θεωρούνται ως ικανά να μεταδώσουν μολυσματικούς παράγοντες και απαιτούν τη λήψη των τυπικών προφυλάξεων. Για τη σωστή απόρριψη των χρησιμοποιημένων φυσιγγών και των αχρησιμοποίητων αντιδραστηρίων, να ακολουθείτε

τις περιβαλλοντικές διαδικασίες του ιδρύματός σας για τα απόβλητα. Αυτά τα υλικά μπορεί να παρουσιάσουν χαρακτηριστικά χημικά επικίνδυνων αποβλήτων που απαιτούν συγκεκριμένες εθνικές ή τοπικές διαδικασίες απόρριψης. Εάν οι εθνικοί ή τοπικοί κανονισμοί δεν παρέχουν σαφείς οδηγίες σχετικά με την ορθή απόρριψη, τα βιολογικά παρασκευάσματα και οι χρησιμοποιημένες φύσιγγες θα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες χειρισμού και απόρριψης ιατρικών αποβλήτων του Π.Ο.Υ. [Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.<sup>7</sup>

## 10 Χημικοί κίνδυνοι<sup>8,9</sup>

### Αντιδραστήριο λύσης (Θειοκυανικό γουανίδιο)

- Προειδοποιητική λέξη: ΠΡΟΣΟΧΗ
- Δηλώσεις επικινδυνότητας UN GHS
  - Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης
  - Προκαλεί ήπιο ερεθισμό του δέρματος
  - Προκαλεί οφθαλμικό ερεθισμό
- Δηλώσεις προφύλαξης UN GHS
  - Πρόληψη
    - Πλύνετε σχολαστικά μετά το χειρισμό.
  - Απόκριση
    - Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.
    - ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.
    - Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.
    - Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.

## 11 Συλλογή, μεταφορά και αποθήκευση παρασκευασμάτων

Ολικό αίμα θα πρέπει να συλλέγεται σε σωληνάρια συλλογής με K<sub>2</sub>-EDTA, με PPT-EDTA και να φυγοκεντρείται για διαχωρισμό του πλάσματος/ορού και των ερυθρών αιμοσφαιρίων σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

- Απαιτείται τουλάχιστον 0,6 ml πλάσματος για την εξέταση Xpert HBV VL. Εάν χρησιμοποιείτε την πιπέτα μεταφοράς που περιλαμβάνεται στο κιτ, η πιπέτα πρέπει να γεμίσει μέχρι το τέταρτη σημάδι (1,0 ml) με πλάσμα ή ορό. Εναλλακτικά, εάν χρησιμοποιείτε πιπέτα ακριβείας, απαιτείται 0,6 ml πλάσματος ή ορού. Βλ. τις οδηγίες στην Ενότητα 12.2, Επιλογή 1 και Επιλογή 2, αντίστοιχα.
- Το ολικό αίμα μπορεί να διατηρηθεί στους 2-35 °C για έως και 24 ώρες ή στους 2-8 °C για έως και 3 ημέρες πριν από την προετοιμασία πλάσματος/ορού. Η φυγοκέντριση πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.
- Μετά τη φυγοκέντριση και τον διαχωρισμό, το πλάσμα και ο ορός μπορούν να διατηρηθούν στους 2-35 °C για έως και 24 ώρες ή στους 2-8 °C για έως και 7 ημέρες πριν από την εξέταση.
- Τα δείγματα πλάσματος και ορού καταψύχονται σταθερά (-80 έως -20 °C) για 6 εβδομάδες.
- Τα δείγματα πλάσματος και ορού παραμένουν σταθερά για έως και τρεις κύκλους κατάψυξης/απόψυξης.
- Τα δείγματα πλάσματος και ορού πρέπει να αποψυχθούν και να εξισορροπηθούν σε θερμοκρασία δωματίου πριν μεταφερθούν στη φύσιγγα.
- Η μεταφορά δειγμάτων ολικού αίματος, πλάσματος ή ορού πρέπει να συμμορφώνεται με τους κρατικούς, ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς και τοπικούς κανονισμούς για τη μεταφορά αιτολογικών παραγόντων.

## 12 Διαδικασία

### 12.1 Προετοιμασία του δείγματος

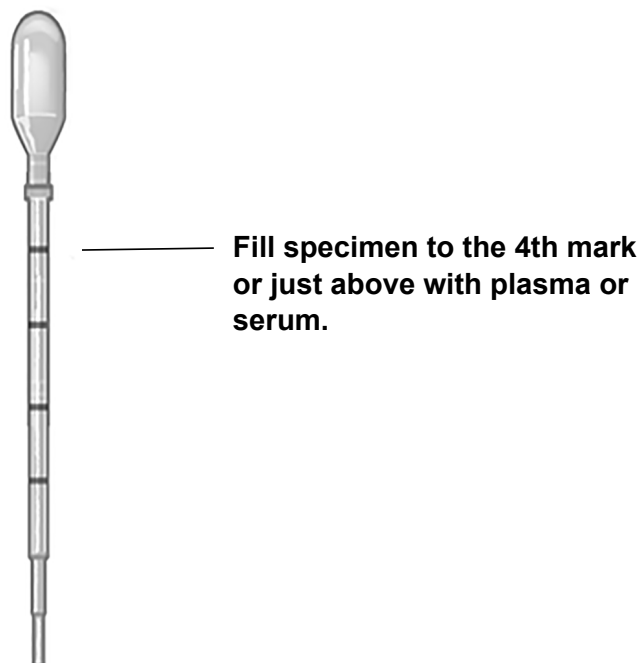
**Σημείωση** Ξεκινήστε την εξέταση εντός 4 ωρών από την προσθήκη του δείγματος στη φύσιγγα.

1. Μετά τη φυγοκέντριση δειγμάτων ολικού αίματος, μεταφορά πλάσματος μπορεί να γίνει απευθείας στη φύσιγγα με πιπέτα. Ο επαρκής όγκος είναι κρίσιμος για τη λήψη έγκυρων αποτελεσμάτων της εξέτασης (βλ. οδηγίες στην Ενότητα 12.2. Προετοιμασία της φύσιγγας).
2. Εάν χρησιμοποιείτε κατεψυγμένα δείγματα, τοποθετήστε τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου (20–35 °C) μέχρι να αποψυχθούν τελείως και να εξισορροπηθούν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
3. Δείγματα πλάσματος και ορού που αποθηκεύονται στους 2–8 °C θα πρέπει να αφαιρούνται από το ψυγείο και να εξισορροπούνται σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
4. Δείγματα πλάσματος που φυλάσσονται στους 2–8 °C ή καταψύχονται και αποψύχονται θα πρέπει να αναδεύονται για 10 δευτερόλεπτα πριν από τη χρήση. Εάν το δείγμα είναι θολό, διαυγάστε με γρήγορη φυγοκέντριση.

## 12.2 Προετοιμασία της φύσιγγας

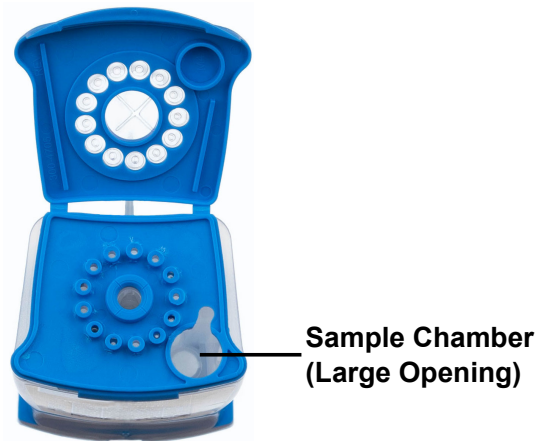
1. Φοράτε προστατευτικά αναλώσιμα γάντια.
2. Πριν από τη χρήση, αφήστε τις φύσιγγες να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου, εάν έχουν αποθηκευτεί ψυχόμενες.
3. Επιθεωρήστε τη φύσιγγα για τυχόν ζημιά. Σε περίπτωση ύπαρξης ζημιάς, μην το χρησιμοποιείτε.
4. Επισημάνετε τη φύσιγγα με την ταυτοποίηση του δείγματος.
5. Ανοίξτε το καπάκι της φύσιγγας.
6. Προσθέστε το δείγμα στη φύσιγγα.
  - **Επιλογή 1:** Εάν χρησιμοποιείτε την πιπέτα μεταφοράς που περιλαμβάνεται στο κιτ (βλ. Εικόνα 1), γεμίστε την πιπέτα μέχρι το τέταρτο σημάδι (1,0 ml) ή λίγο παραπάνω με πλάσμα ή ορό από το σωληνάριο συλλογής. Αδειάστε τα περιεχόμενα της πιπέτας στον θάλαμο δείγματος της φύσιγγας (βλ. Εικόνα 2).
  - **Επιλογή 2:** Εάν χρησιμοποιείτε πιπέτα ακριβείας, μεταφέρετε 0,6 ml πλάσματος ή ορού από το σωληνάριο συλλογής στον θάλαμο δείγματος της φύσιγγας (βλ. Εικόνα 2).

**Σημείωση** Μην αφαιρείτε τη λεπτή πλαστική μεμβράνη που καλύπτει τον εσωτερικό δακτύλιο των 13 θυρών της φύσιγγας.



**Εικόνα 1. Πιπέτα μεταφοράς εξέτασης Xpert HBV VL**

7. Κλείστε το καπάκι της φύσιγγας. Βεβαιωθείτε ότι το καπάκι κουμπώνει σταθερά στη θέση του.



Εικόνα 2. Φύσιγγα Xpert HBV VL (Όψη από πάνω)

### 12.3 Έναρξη μιας εξέτασης

#### Σημαντικό

Πριν από την έναρξη της εξέτασης, φροντίστε να εισαγάγετε το σωστό αρχείο ορισμού προσδιορισμού Xpert HBV VL στο λογισμικό.

Αυτή η ενότητα παραθέτει τα βασικά βήματα για την εκτέλεση της εξέτασης. Για λεπτομερείς πληροφορίες, δείτε το *εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος GeneXpert Dx* ή το *εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος GeneXpert Infinity*, ανάλογα με το μοντέλο του αναλυτή που χρησιμοποιείται.

#### Σημείωση

Τα βήματα που ακολουθούνται μπορεί να είναι διαφορετικά εάν ο διαχειριστής του συστήματος έχει αλλάξει την προεπιλεγμένη ροή εργασιών του συστήματος.

##### 1. Ενεργοποιήστε το σύστημα αναλυτών GeneXpert:

- Εάν χρησιμοποιείτε τον αναλυτή GeneXpert Dx, ενεργοποιήστε αρχικά τον αναλυτή GeneXpert Dx και κατόπιν ενεργοποιήστε τον υπολογιστή. Το λογισμικό GeneXpert Dx θα εκκινηθεί αυτόματα ή μπορεί να χρειαστεί να κάνετε διπλό κλικ στο εικονίδιο συντόμευσης του λογισμικού GeneXpert Dx στην επιφάνεια εργασίας των Windows®.

ή

- Εάν χρησιμοποιείτε τον αναλυτή GeneXpert Infinity, ενεργοποιήστε τον αναλυτή. Το λογισμικό GeneXpert θα εκκινηθεί αυτόματα ή μπορεί να χρειαστεί να κάνετε διπλό κλικ στο εικονίδιο συντόμευσης του λογισμικού Xpertise στην επιφάνεια εργασίας των Windows®.

- Συνδεθείτε στο λογισμικό του συστήματος αναλυτών GeneXpert, χρησιμοποιώντας τα προσωπικά σας όνομα χρήστη και κωδικό πρόσβασης.
- Στο παράθυρο του συστήματος GeneXpert, κάντε κλικ στο **Δημιουργία εξέτασης (Create Test)** (GeneXpert Dx) ή κάντε κλικ στο **Εντολές (Orders)** και **Εντολή εξέτασης (Order Test)** (Infinity). Ανοίγει το παράθυρο **Δημιουργία εξέτασης (Create Test)**.
- Σαρώστε το Αναγνωριστικό ασθενούς (Patient ID) (προαιρετικό). Εάν πληκτρολογείτε το Αναγνωριστικό ασθενούς (Patient ID), βεβαιωθείτε ότι το Αναγνωριστικό ασθενούς (Patient ID) έχει πληκτρολογηθεί σωστά. Το Αναγνωριστικό ασθενούς (Patient ID) εμφανίζεται στην αριστερή πλευρά του παραθύρου προβολής αποτελεσμάτων (View Results) και σχετίζεται με τα αποτελέσματα της εξέτασης.
- Σαρώστε το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID) ή πληκτρολογήστε το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID). Εάν πληκτρολογείτε το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID), βεβαιωθείτε ότι το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID) έχει πληκτρολογηθεί σωστά. Το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID) εμφανίζεται στην αριστερή πλευρά του παραθύρου προβολής αποτελεσμάτων (View Results) και σχετίζεται με τα αποτελέσματα της εξέτασης.
- Σαρώστε τον γραμμωτό κωδικό της φύσιγγας εξέτασης Xpert HBV VL. Χρησιμοποιώντας τις πληροφορίες από τον γραμμωτό κωδικό, το λογισμικό συμπληρώνει αυτόματα τα πλαίσια για τα παρακάτω πεδία: Αναγνωριστικό παρτίδας αντιδραστηρίων (Reagent Lot ID), Αριθμός σειράς φύσιγγας (Cartridge SN) και Ημερομηνία λήξης (Expiration Date).

#### Σημείωση

Εάν δεν μπορεί να σαρωθεί ο γραμμωτός κωδικός της φύσιγγας Xpert HBV VL, τότε επαναλάβετε την εξέταση με νέα φύσιγγα.



7. Κάντε κλικ στο **Έναρξη εξέτασης (Start Test)** (GeneXpert Dx) ή στο **Υποβολή (Submit)** (Infinity). Πληκτρολογήστε τον προσωπικό σας κωδικό πρόσβασης στο παράθυρο διαλόγου που εμφανίζεται.
8. Για το σύστημα GeneXpert Infinity, τοποθετήστε τη φύσιγγα στον μιάντα μεταφοράς. Η φύσιγγα θα φορτωθεί αυτόματα, η εξέταση θα πραγματοποιηθεί και η χρησιμοποιημένη φύσιγγα θα τοποθετηθεί στον περιέκτη αποβλήτων.  
ή  
Για τον αναλυτή GeneXpert Dx:
  - a) Ανοίξτε τη θύρα της μονάδας του αναλυτή με την πράσινη λυχνία που αναβοσβήνει και φορτώστε τη φύσιγγα.
  - b) Κλείστε τη θύρα. Η εξέταση ξεκινά και η πράσινη λυχνία σταματά να αναβοσβήνει. Όταν ολοκληρωθεί η εξέταση, η λυχνία σβήνει.
  - c) Περιμένετε μέχρι το σύστημα να απελευθερώσει το κλειδί της θύρας προτού ανοίξετε τη θύρα της μονάδας και αφαιρέσετε τη φύσιγγα.
  - d) Απορρίψτε τις χρησιμοποιημένες φύσιγγες στον κατάλληλο περιέκτη αποβλήτων δειγμάτων, σύμφωνα με τις τυπικές πρακτικές του ιδρύματός σας.

## 13 Προβολή και εκτύπωση αποτελεσμάτων

Αυτή η ενότητα παραθέτει τα βασικά βήματα για την προβολή και την εκτύπωση των αποτελεσμάτων. Για πιο λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο προβολής και εκτύπωσης των αποτελεσμάτων, δείτε το *εγχειρίδιο χρήση του συστήματος GeneXpert Dx* ή το *εγχειρίδιο χρήση του συστήματος GeneXpert Infinity*, ανάλογα με τον αναλυτή που χρησιμοποιείται.

1. Κάντε κλικ στο εικονίδιο **Προβολή αποτελεσμάτων (View Results)** για να δείτε τα αποτελέσματα.
2. Μετά την ολοκλήρωση της εξέτασης, κάντε κλικ στο κουμπί **Αναφορά (Report)** στο παράθυρο **Προβολή αποτελεσμάτων (View Results)** για να δείτε ή/και να δημιουργήσετε ένα αρχείο αναφοράς PDF.

## 14 Έλεγχος ποιότητας

Κάθε εξέταση περιλαμβάνει έναν μάρτυρα επάρκειας όγκου δείγματος (Sample Volume Adequacy, SVA), εσωτερικό ποσοτικό πρότυπο υψηλών και χαμηλών τιμών (IQS-H και IQS-L), παραμέτρους ειδικές για την παρτίδα (Lot Specific Parameters, LSP) και έναν μάρτυρα ελέγχου ανιχνευτή (Probe Check Control, PCC).

- **Επάρκεια όγκου δείγματος (Sample Volume Adequacy, SVA)** – Διασφαλίζει ότι το δείγμα έχει προστεθεί σωστά στη φύσιγγα. Ο SVA επιβεβαιώνει ότι προστέθηκε ο σωστός όγκος δείγματος στον θάλαμο δείγματος. Ο SVA θεωρείται επιτυχής εάν πληροί τα επικυρωμένα κριτήρια αποδοχής. Εάν ο SVA αποτύχει, θα εμφανιστεί είτε **Σφάλμα 2096** (Error 2096) εάν δεν έχει προστεθεί δείγμα στη φύσιγγα είτε **ΣΦΑΛΜΑ 2097** (ERROR 2097) εάν έχει προστεθεί ανεπαρκής ποσότητα δείγματος στη φύσιγγα. Το σύστημα θα εμποδίσει τον χρήστη να συνεχίσει την εξέταση.
- **Εσωτερικό ποσοτικό πρότυπο υψηλών και χαμηλών τιμών (IQS-H και IQS-L)** – Το IQS-H και το IQS-L είναι δύο γραμμικά πλασμίδια με αλληλουχία άσχετη με τον HBV που περιλαμβάνονται σε κάθε φύσιγγα και περνούν από ολόκληρη τη διαδικασία εξέτασης. Αυτά είναι πρότυπα που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του DNA του HBV στο δείγμα. Επιπλέον, το IQS-H και το IQS-L εντοπίζουν αναστολή του προσδιορισμού PCR πραγματικού χρόνου που σχετίζεται με το δείγμα, δρώντας, συνεπώς, ως μάρτυρες επεξεργασίας δειγμάτων. Τα IQS-H και IQS-L θεωρούνται επιτυχή εάν πληρούν τα επικυρωμένα κριτήρια αποδοχής.
- **Παράμετροι ειδικές για την παρτίδα (Lot Specific Parameters, LSP) για την ποσοτικοποίηση** – Κάθε παρτίδα kit έχει ενσωματωμένες LSP που δημιουργούνται από μια ομάδα βαθμονόμησης HBV, που ανάγεται στο 4ο διεθνές πρότυπο του Π.Ο.Υ. για τον HBV (κωδικός NIBSC: 10/266)<sup>4</sup>, καθώς και το IQS-H και το IQS-L. Οι LSP είναι μοναδικές για κάθε παρτίδα kit και χρησιμοποιούνται για να διασφαλιστεί σωστή ποσοτικοποίηση.
- **Μάρτυρας ελέγχου ανιχνευτή (PCC)** — Πριν από την έναρξη της αντίδρασης PCR, το σύστημα αναλυτών GeneXpert μετρά το σήμα φθορισμού από τους ανιχνευτές για την παρακολούθηση της επανενυδάτωσης των σφαιριδίων, της πλήρωσης του σωληναρίου αντίδρασης, της ακεραιότητας του ανιχνευτή και της σταθερότητας της χρωστικής. Ο PCC είναι επιτυχής εάν τα σήματα φθορισμού πληρούν τα επικυρωμένα κριτήρια αποδοχής.
- **Εξωτερικοί μάρτυρες** – Σύμφωνα με την ορθή εργαστηριακή πρακτική, εξωτερικοί μάρτυρες, δεν παρέχονται στο kit, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις απαιτήσεις των τοπικών, πολιτειακών ή ομοσπονδιακών οργανισμών διαπίστευσης, ανάλογα με την περίπτωση.

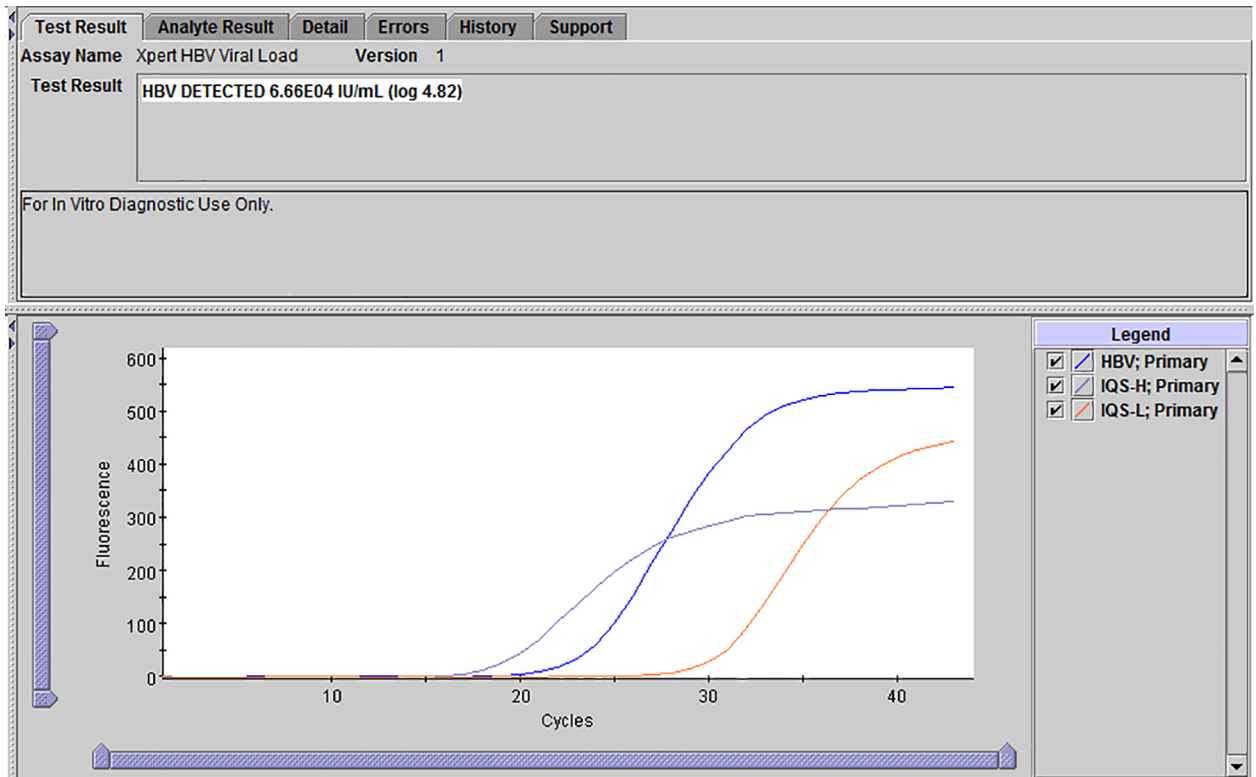
## 15 Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται αυτόματα από το σύστημα αναλυτών GeneXpert από τα μετρούμενα σήματα φθορισμού και τους ενσωματωμένους αλγόριθμους υπολογισμού και εμφανίζονται στο παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων (View Results) (βλ. Εικόνα 3 έως Εικόνα 8). Τα πιθανά αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

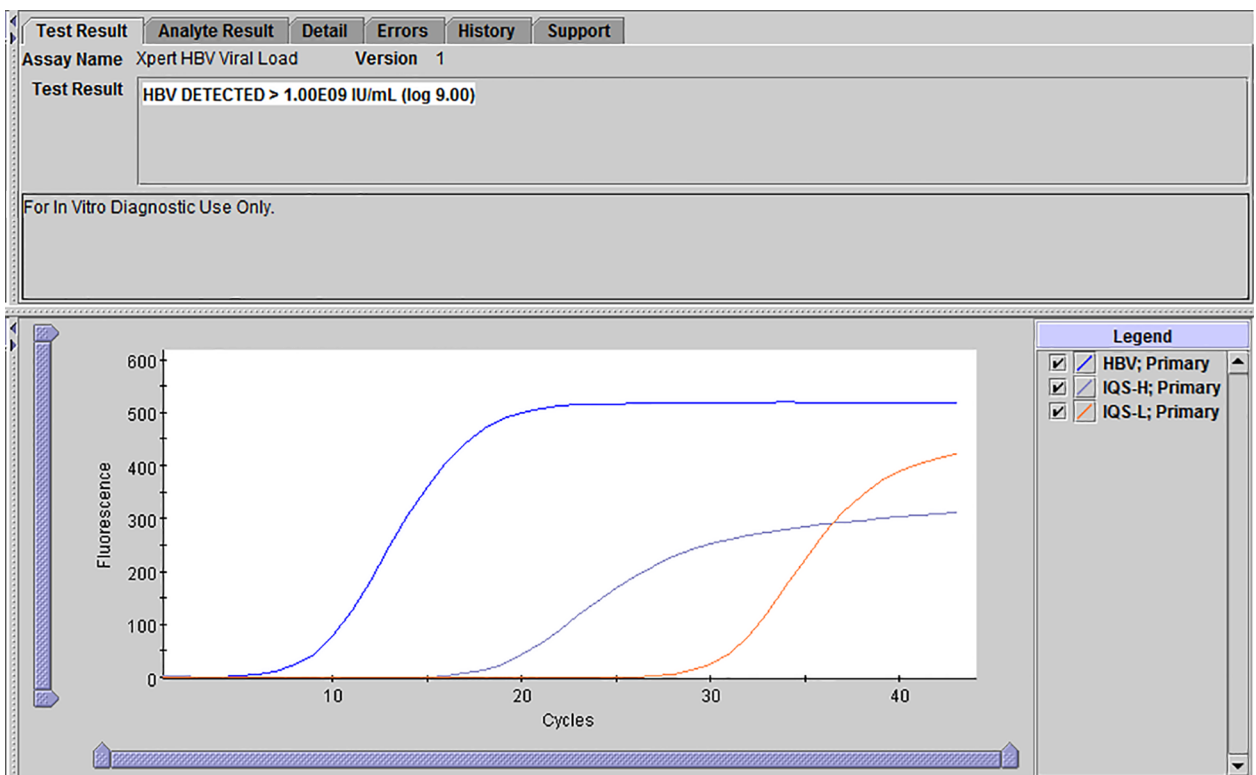
**Πίνακας 1. Αποτελέσματα και ερμηνεία εξέτασης Xpert HBV VL**

| Αποτέλεσμα   | Ερμηνεία   |
|--|--|
| <b>ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΕ<br/>HBV IU/ml (log<br/>X,XX) [(HBV<br/>DETECTED IU/mL<br/>(log X,XX)]</b><br>Βλ. Εικόνα 3.  | <p>Το DNA του HBV ανιχνεύθηκε σε XX IU/mL (log X,XX).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Το DNA του HBV έχει τίτλο εντός του ποσοτικού εύρους της εξέτασης (10-1,00E09 IU/mL).</li> <li>IQS-H και IQS- L: ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> <li>Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> </ul> <p>Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.</p>  |
| <b>ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΕ<br/>HBV &gt;1,00E09<br/>IU/ml (HBV<br/>DETECTED<br/>&gt;1.00E09 IU/mL)</b><br>Βλ. Εικόνα 4. | <p>Το DNA του HBV ανιχνεύεται πάνω από το ποσοτικό εύρος της εξέτασης.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H και IQS- L: ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> <li>Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> </ul> <p>Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.</p>  |
| <b>ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΕ<br/>HBV &lt;10 IU/ml<br/>(HBV DETECTED<br/>&lt;10 IU/mL)</b><br>Βλ. Εικόνα 5.               | <p>Το DNA του HBV ανιχνεύεται κάτω από το ποσοτικό εύρος της εξέτασης.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H και IQS- L: ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> <li>Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> </ul> <p>Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.</p>  |
| <b>ΔΕΝ<br/>ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ<br/>HBV (HBV NOT<br/>DETECTED)</b><br>Βλ. Εικόνα 6.                                 | <p>Δεν ανιχνεύτηκε DNA του HBV.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H και IQS- L: ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> <li>Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> </ul> <p>Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.</p>   |
| <b>ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ<br/>(INVALID)</b><br>Βλ. Εικόνα 7.  | <p>Η παρουσία ή η απουσία DNA του HBV δεν μπορεί να προσδιοριστεί. Επαναλάβετε την εξέταση σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα Ενότητα 16.2. Διαδικασία επαναληπτικής εξέτασης.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H ή/και IQS-L: ΑΠΟΤΥΧΙΑ (FAIL).</li> <li>Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS).</li> </ul> <p>Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.</p>  |
| <b>ΣΦΑΛΜΑ<br/>(ERROR)</b><br>Βλ. Εικόνα 8.   | <p>Η παρουσία ή η απουσία DNA του HBV δεν μπορεί να προσδιοριστεί. Επαναλάβετε την εξέταση σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα Ενότητα 16.2. Διαδικασία επαναληπτικής εξέτασης.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Έλεγχος ανιχνευτή — ΑΠΟΤΥΧΙΑ (FAIL)*. Όλα ή ένα από τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι ανεπιτυχή.</li> </ul> <p>* Εάν ο έλεγχος ανιχνευτή ήταν επιτυχής, το σφάλμα προκαλείται από το ότι το όριο μέγιστης πίεσης υπερβαίνει το έγκυρο εύρος ή από αστοχία εξαρτήματος του συστήματος.</p> |
| <b>ΚΑΝΕΝΑ<br/>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ<br/>(NO RESULT)</b>   | <p>Η παρουσία ή η απουσία DNA του HBV δεν μπορεί να προσδιοριστεί. Επαναλάβετε την εξέταση σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα Ενότητα 16.2. Διαδικασία επαναληπτικής εξέτασης. Η ένδειξη <b>ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)</b> υποδεικνύει ότι συλλέχθηκαν ανεπαρκή δεδομένα. Για παράδειγμα, ο χειριστής διέκοψε μια εξέταση που βρισκόταν σε εξέλιξη.</p>  |

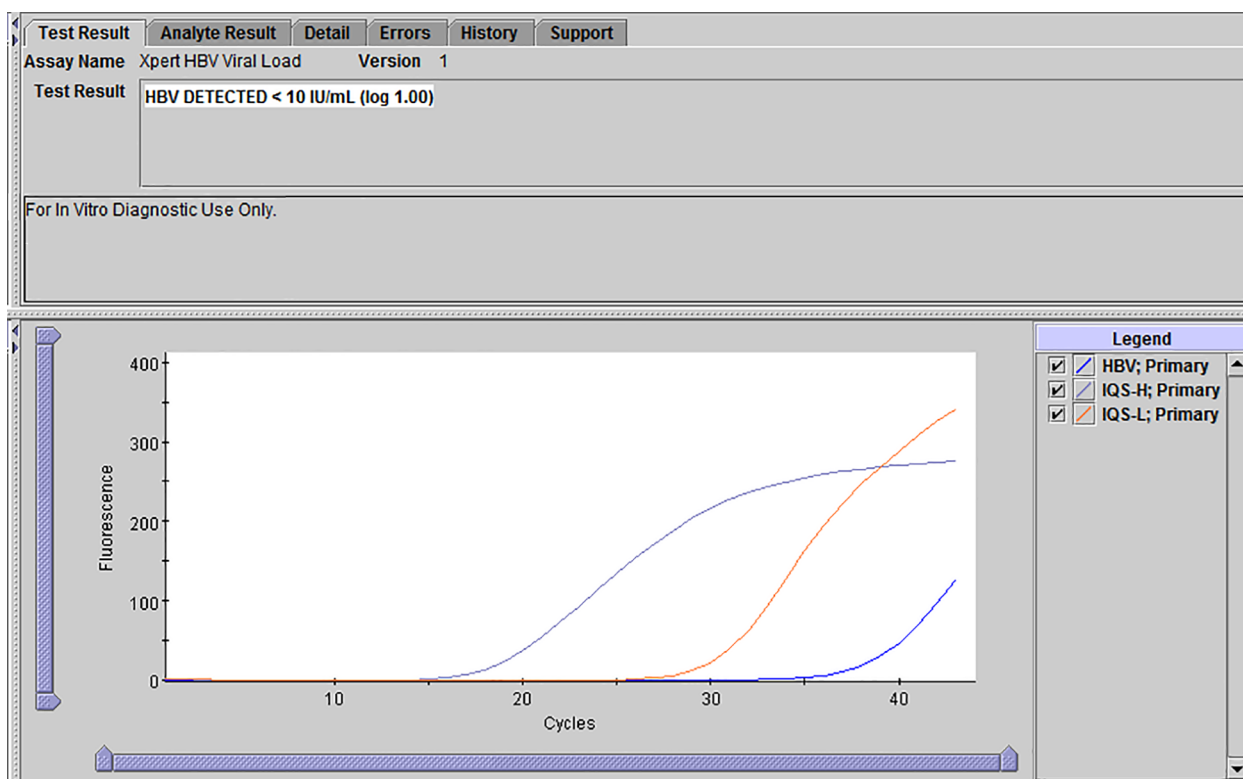
**Σημείωση** Τα στιγμιότυπα της εξέτασης αποτελούν μόνο παραδείγματα. Ο αριθμός έκδοσης μπορεί να διαφέρει από τα στιγμιότυπα που εμφανίζονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης.



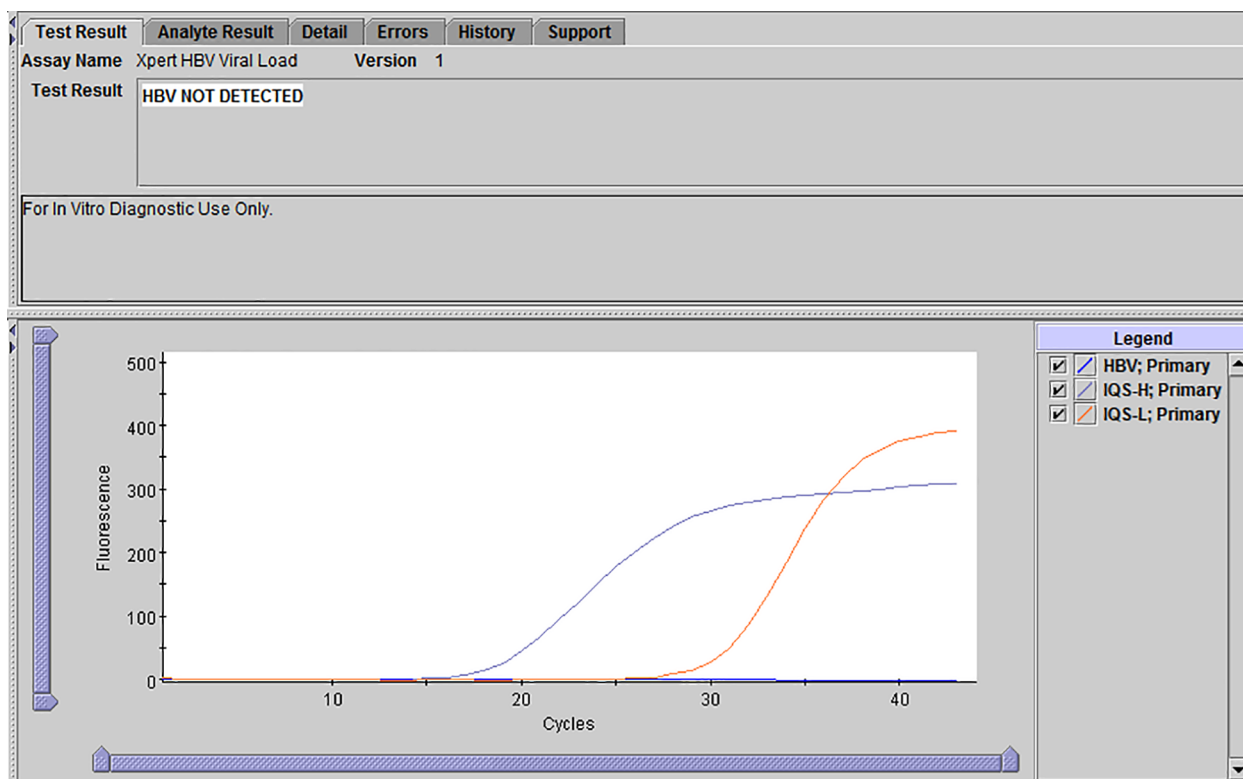
**Εικόνα 3. Αποτέλεσμα: Ανιχνεύτηκε και ποσοτικοποιήθηκε ο HBV**



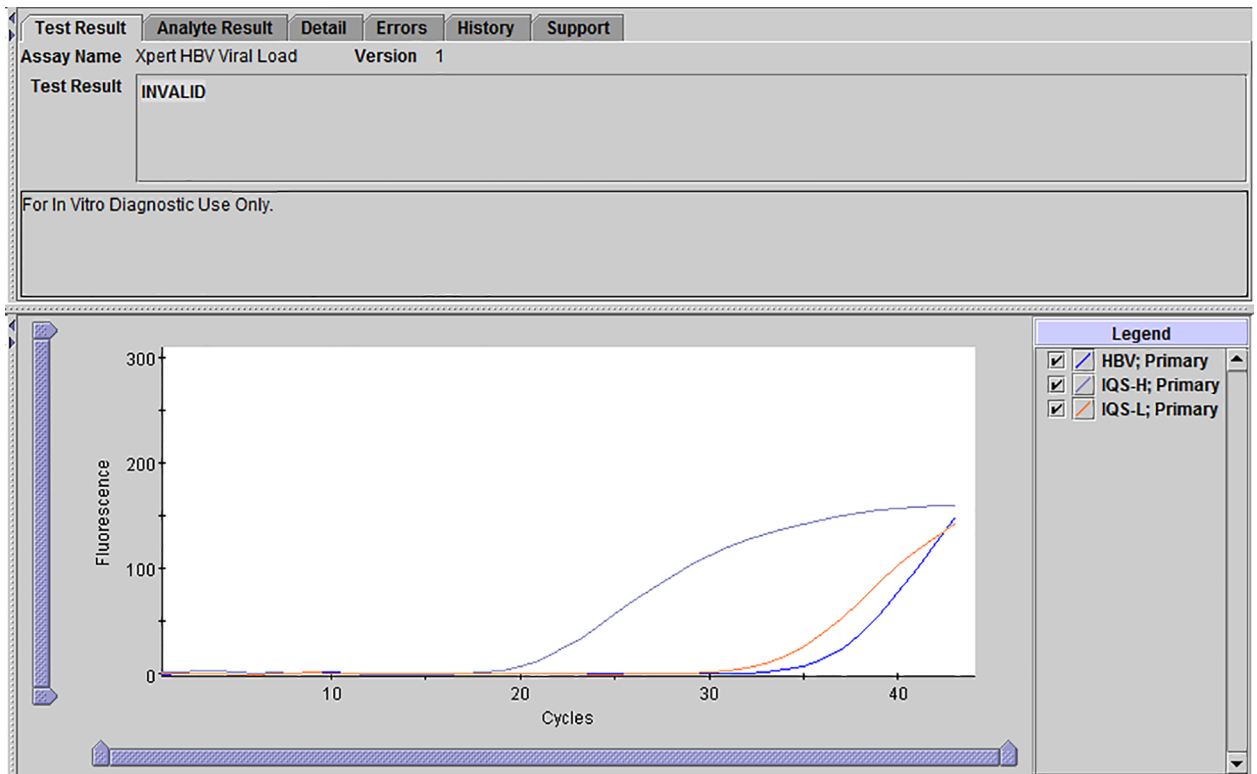
**Εικόνα 4. Αποτέλεσμα: Ανιχνεύτηκε HBV αλλά με τίτλο υψηλότερο από το ποσοτικό εύρος της εξέτασης**



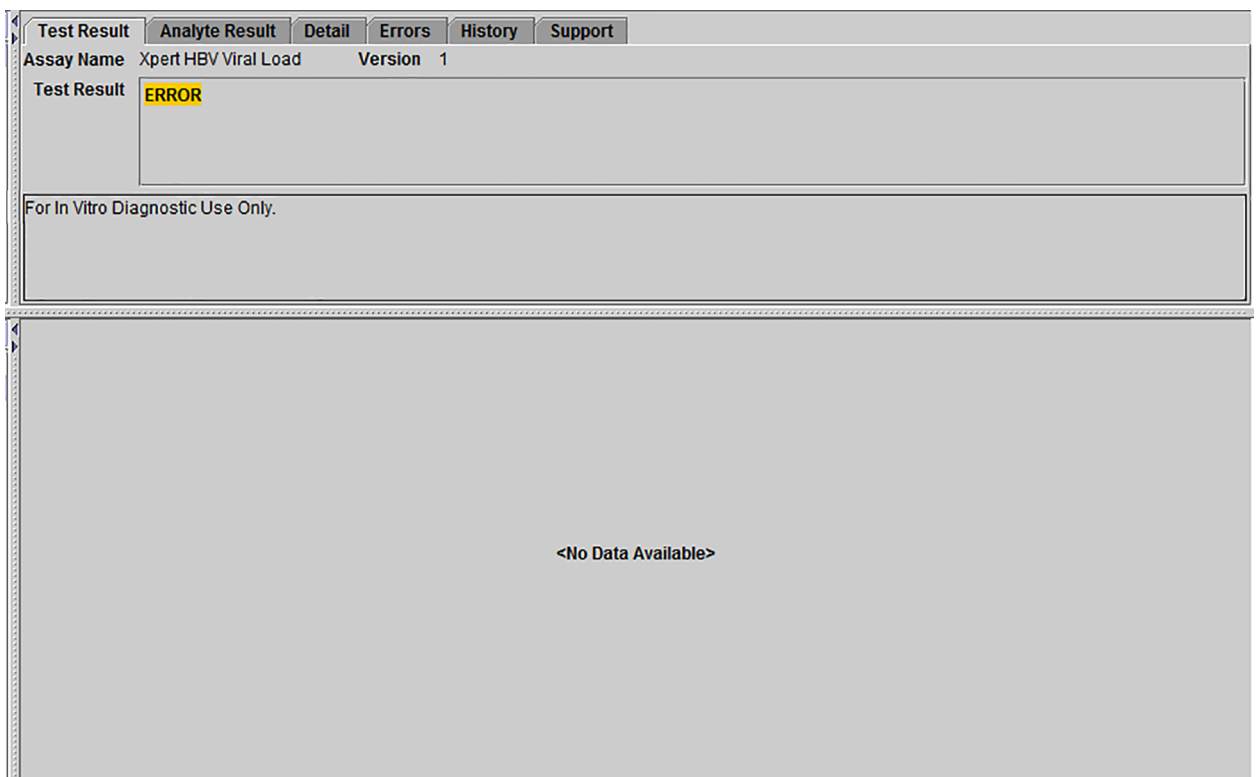
Εικόνα 5. Αποτέλεσμα: Ανιχνεύθηκε HBV αλλά με τίτλο χαμηλότερο από το ποσοτικό εύρος της εξέτασης



Εικόνα 6. Αποτέλεσμα: Δεν ανιχνεύθηκε HBV



Εικόνα 7. Αποτέλεσμα: Μη έγκυρο αποτέλεσμα



Εικόνα 8. Αποτέλεσμα: Σφάλμα

## 16 Επανεξετάσεις

### 16.1 Λόγοι για την επανάληψη της εξέτασης

Εάν παρουσιαστεί οποιοδήποτε από τα αποτελέσματα της εξέτασης που αναφέρονται παρακάτω, επαναλάβετε την εξέταση σύμφωνα με τις οδηγίες της ενότητας Ενότητα 16.2. Διαδικασία επαναληπτικής εξέτασης.

- Ένα **ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)** αποτέλεσμα υποδεικνύει ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω:
  - Οι τιμές Ct του IQS-H ή/και του IQS-L δεν βρίσκονται εντός του έγκυρου εύρους.
  - Το δείγμα δεν υποβλήθηκε σε σωστή επεξεργασία ή η PCR ανεστάλη.
- Ένα **ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)** υποδεικνύει ότι η εξέταση ματαιώθηκε. Στις πιθανές αιτίες συγκαταλέγονται οι εξής: προστέθηκε ανεπαρκής όγκος δείγματος, το σωληνάριο αντίδρασης δεν πληρώθηκε σωστά, ανιχνεύτηκε πρόβλημα με την ακεραιότητα ενός μάρτυρα αντιδραστηρίων ή έγινε υπέρβαση του μέγιστου ορίου πίεσης.
- Η ένδειξη **ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)** υποδεικνύει ότι συλλέχθηκαν ανεπαρκή δεδομένα. Για παράδειγμα, ο χειριστής διέκοψε μια εξέταση που βρισκόταν σε εξέλιξη ή παρουσιάστηκε διακοπή τροφοδοσίας.

### 16.2 Διαδικασία επαναληπτικής εξέτασης

Εάν το αποτέλεσμα μιας εξέτασης είναι είτε **ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)**, **ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)** ή **ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)**, χρησιμοποιήστε νέα φύσιγγα για την επανεξέταση του επηρεαζόμενου δείγματος (μην επαναχρησιμοποιείτε τη φύσιγγα).

1. Αφαιρέστε μια νέα φύσιγγα από το κιτ.
2. Ακολουθήστε τις διαδικασίες στην Ενότητα 12. Διαδικασία, συμπεριλαμβανομένων της Ενότητας 12.2. Προετοιμασία της φύσιγγας και της Ενότητας 12.3. Έναρξη μιας εξέτασης.

## 17 Περιορισμοί

- Για την αποτροπή της μόλυνσης των δειγμάτων ή των αντιδραστηρίων, συνιστάται η τήρηση των ορθών εργαστηριακών πρακτικών και η αλλαγή γαντιών μεταξύ των χειρισμών των δειγμάτων.
- Σπάνιες μεταλλάξεις εντός της περιοχής-στόχου της εξέτασης Xpert HBV VL μπορεί να επηρεάσουν την πρόσδεση εκκινητών ή ανιχνευτών, με αποτέλεσμα υποποσοτικοποίηση ή αδυναμία ανίχνευσης του ιού.
- Αυτή η εξέταση έχει επικυρωθεί μόνο για χρήση με πλάσμα και ορό με EDTA. Η εξέταση άλλων τύπων δειγμάτων μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα.
- Ένα αρνητικό αποτέλεσμα της εξέτασης δεν αποκλείει τη λοίμωξη από HBV. Επομένως, η εξέταση Xpert HBV VL δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται ως διαγνωστική εξέταση για την επιβεβαίωση της παρουσίας λοίμωξης από HBV.

## 18 Χαρακτηριστικά απόδοσης

### 18.1 Όριο ανίχνευσης

Το όριο ανίχνευσης (LOD) της εξέτασης Xpert HBV VL προσδιορίστηκε για τον γονότυπο A του HBV με την εξέταση διαδοχικών αραιώσεων του 4<sup>ου</sup> διεθνούς προτύπου του Π.Ο.Υ. για το DNA του HBV (Κωδικός NIBSC 10/266)<sup>4</sup> αραιωμένες σε αρνητικό για HBV πλάσμα και ορό με EDTA. Ομάδες έξι επιπέδων συγκέντρωσης και ένα αρνητικό εξετάστηκαν με τη χρήση είτε τεσσάρων είτε τριών παρτίδων αντιδραστηρίων για ομάδες πλάσματος και ορού με EDTA, αντίστοιχα. Κάθε μέλος της ομάδας εξετάστηκε επί τρεις ημέρες με 24 επαναληπτικά δείγματα ανά παρτίδα αντιδραστηρίου. Συνολικά εξετάστηκαν 96 επαναληπτικά δείγματα ανά μέλος της ομάδας πλάσματος και 72 επαναληπτικά δείγματα ανά μέλος της ομάδας ορού.

Τα αποτελέσματα για πλάσμα και ορό με EDTA παρουσιάζονται στον Πίνακα 2. Η μελέτη κατέδειξε ότι ο προσδιορισμός Xpert HBV VL ανίχνευσε DNA του HBV για το 4ο διεθνές πρότυπο του Π.Ο.Υ. σε συγκέντρωση 3,20 IU/ml σε πλάσμα με EDTA και συγκέντρωση 5,99 IU/ml σε ορό με ποσοστό θετικότητας 95%, όπως προσδιορίζεται με παλινδρόμηση PROBIT.

**Πίνακας 2. Όριο ανίχνευσης για τον προσδιορισμό Xpert HBV VL με τη χρήση του 4<sup>ου</sup> διεθνούς προτύπου του Π.Ο.Υ. για τον HBV**

| Γονότυπος | Υπόστρωμα | Ονομαστική συγκέντρωση HBV (IU/ml) | Αριθμός έγκυρων επαναληπτικών δειγμάτων | Αριθμός θετικών | Ποσοστό θετικότητας (%) | 95% LOD με PROBIT (95% διάστημα εμπιστοσύνης) |
|-----------|-----------|------------------------------------|---|-----------------|-------------------------|---|
| A         | Πλάσμα    | 10                                 | 95                                      | 95              | 100                     | 3,20 IU/ml<br>(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         | Ορός      | 10                                 | 72                                      | 70              | 97                      | 5,99 IU/ml<br>(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                       |   |

Το όριο ανίχνευσης για τους γονότυπους B έως H του HBV προσδιορίστηκε με εξέταση εξαμελών ή επταμελών ομάδων που παρασκευάστηκαν με ενοφθάλμιση θετικών για HBV δειγμάτων που αντιπροσωπεύουν κάθε γονότυπο (γονότυποι B έως G από τον Διεθνή Πίνακα Αναφοράς του Π.Ο.Υ., κωδικός PEI: 5086/08 και κλινικό δείγμα γονότυπου H) σε αρνητικό για HBV πλάσμα με EDTA. Κάθε μέλος της ομάδας εξετάστηκε για τρεις ημέρες με τη χρήση τριών παρτίδων αντιδραστηρίων για 24 συνολικά επαναληπτικά δείγματα ανά μέλος. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

**Πίνακας 3. Όριο ανίχνευσης για τους γονότυπους B έως H του HBV σε πλάσμα με EDTA**

| Γονότυπος | 95% LOD με PROBIT (IU/ml) | Διάστημα εμπιστοσύνης 95% (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                       |

Το όριο ανίχνευσης για τους γονότυπους B έως H του HBV επαληθεύτηκε σε ορό σύμφωνα με το CLSI EP17-A2<sup>10</sup> με τη χρήση 24 επαναληπτικών δειγμάτων. Στις περιπτώσεις που δεν επιτεύχθηκε ποσοστό θετικότητας > 85%, εξετάστηκε υψηλότερη συγκέντρωση. Βλ. Πίνακας 4 για αποτελέσματα.

**Πίνακας 4. Επαλήθευση LOD για γονότυπους B έως H σε ορό**

| Γονότυπος | Ονομαστική συγκέντρωση HBV (IU/ml) | Ποσοστό θετικότητας (%) |
|-----------|------------------------------------|-------------------------|
| B         | 1,34                               | 88                      |
| C         | 3,25                               | 96                      |
| D         | 3,96                               | 96                      |
| E         | 3,77                               | 96                      |

| Γονότυπος | Ονομαστική συγκέντρωση HBV (IU/ml) | Ποσοστό θετικότητας (%) |
|-----------|------------------------------------|-------------------------|
| F         | 2,39                               | 92                      |
| G         | 1,21                               | 88                      |
| H         | 3,84                               | 100                     |

Η απόδοση του προσδιορισμού Xpert HBV VL αξιολογήθηκε επίσης με μετάλλαγμα προπυρηνικής περιοχής εξετάζοντας ένα κλινικό δείγμα HBV σε αλληλούχιση που περιλάμβανε τις δύο προπυρηνικές μεταλλάξεις (C1858T και G1896A) και τις δύο μεταλλάξεις υποκινητή βασικού πυρήνα (A1762T και G1764A), αραιωμένο σε συγκέντρωση 10 IU/ml σε πλάσμα και ορό με EDTA με μία παρτίδα αντιδραστηρίων. Επιτεύχθηκε ποσοστό θετικότητας 100% για καθένα από τα 24 επαναληπτικά δείγματα που εξετάστηκαν σε κάθε υπόστρωμα.

## 18.2 Κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης (LLOQ)

Το κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης (LLOQ) ορίζεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση του DNA του HBV που ποσοτικοποιήθηκε με αποδεκτή ακρίβεια και αληθότητα και προσδιορίζεται με τη χρήση του συνολικού αναλυτικού σφάλματος (TAE) και μια προσέγγιση που βασίστηκε στη διαφορά μεταξύ των δύο μετρήσεων. Το LLOQ αξιολογήθηκε με τέσσερα ανεξάρτητα δείγματα, που αντιπροσωπεύουν τους γονότυπους A έως D του HBV, σε πλάσμα EDTA κοντά στο όριο ανίχνευσης της εξέτασης. Κάθε δείγμα εξετάστηκε χρησιμοποιώντας τέσσερις παρτίδες αντιδραστηρίων με 8-24 επαναληπτικά δείγματα ανά παρτίδα. Το TAE εκτιμήθηκε σύμφωνα με το μοντέλο Westgard, βάσει της κατευθυντήριας οδηγίας του CLSI EP17-A2<sup>10</sup> με το κριτήριο,  $[(\text{Απόλυτη μεροληψία}) + 2 \text{ SD} \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$ . Η προσέγγιση της διαφοράς μεταξύ δύο μεθόδων αξιολογήθηκε με το κριτήριο,  $[(2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{SD}) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$ .

Οι αναλύσεις LLoQ για κάθε δείγμα παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Προσδιορισμός του LLOQ για την εξέταση Xpert HBV VL

| Γονότυπος HBV | Παρτίδα (Lot) | N  | Συγκέντρωση HBV ( $\log_{10}$ IU/ml) |               | Μεροληψία | Συνολικό SD | Συνολικό αναλυτικό σφάλμα <sup>a</sup> | Προσέγγιση δύο μετρήσεων <sup>b</sup> |
|---------------|---------------|----|--------------------------------------|---------------|-----------|-------------|--|---------------------------------------|
|               |               |    | Αναμενόμενη                          | Παρατηρούμενη |           |             |  |                                       |
| 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                                  |

<sup>a</sup> Το TAE υπολογίστηκε σύμφωνα με το μοντέλο Westgard όπου  $[\text{TAE} = |\text{Μεροληψία}| + (2 \times \text{SD}) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$ , διασφαλίζοντας ότι υπάρχει πιθανότητα 95% η μέτρηση να είναι μικρότερη από  $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$  από την πραγματική τιμή.



<sup>b</sup> Η προσέγγιση δύο μετρήσεων [ $2 \times (\text{SQRT}(2) \times \text{SD}) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ ] υποδεικνύει ότι μια διαφορά μικρότερη από  $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$  μπορεί να επεξηγηθεί από ένα τυχαίο σφάλμα μέτρησης.

Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η εξέταση Xpert HBV-VL μπορεί να ποσοτικοποιήσει 10 IU/ml DNA του HBV με αποδεκτή αληθότητα και ακρίβεια.

### 18.3 Ακρίβεια/Αναπαραγωγιμότητα

Η ακρίβεια/αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης Xpert HBV VL αξιολογήθηκε σε πλάσμα με K<sub>2</sub>EDTA με τη χρήση ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA) για την εκτίμηση της συνολικής διακύμανσης.

Αυτή η μελέτη ήταν μια πολυκέντρική (3 κέντρα, 2 εξωτερικά και 1 εσωτερικό) τυφλή μελέτη για την αξιολόγηση των κύριων συνιστωσών διακύμανσης της εξέτασης Xpert HBV VL με τη χρήση ομάδας οκτώ μελών που περιλάμβανε οκτώ θετικά στον HBV μέλη. Τα θετικά για HBV μέλη παρασκευάστηκαν με αραιώση είτε ενός καλά χαρακτηρισμένου πλασμιδίου HBV είτε ενός θετικού στον HBV κλινικού δείγματος σε ανθρώπινο πλάσμα με EDTA. Δύο χειριστές, ένας με προηγούμενη εμπειρία PCR και ένας χωρίς, σε καθένα από τα τρία κέντρα της μελέτης, εξέτασαν μία ομάδα εις διπλούν, δύο φορές την ημέρα (που ισοδυναμεί με οκτώ επαναληπτικά δείγματα την ημέρα) σε έξι ημέρες εξετάσεων για συνολικά 144 επαναληπτικά δείγματα ανά μέλος της ομάδας. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις παρτίδες φυσιγγίων της εξέτασης Xpert HBV VL, με κάθε παρτίδα να αντιπροσωπεύει δύο ημέρες εξέτασης. Η ακρίβεια και η αναπαραγωγιμότητα αξιολογήθηκαν σύμφωνα με τα CLSI EP05-A3<sup>11</sup> και CLSI EP15-A3.<sup>12</sup>

Η αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης Xpert HBV VL αξιολογήθηκε με τη χρήση ιεραρχικής ανάλυσης ANOVA με όρους για το κέντρο/τον αναλυτή, την παρτίδα, την ημέρα, τον χειριστή/τη σειρά αναλύσεων και των εντός σειράς αναλύσεων. Υπολογίστηκε η τυπική απόκλιση και το ποσοστό διακύμανσης λόγω κάθε συστατικού μέρους των μετασχηματισμένων  $\log_{10}$  συγκεντρώσεων HBV, όπως εικονίζεται στο Πίνακα 6).

**Πίνακας 6. Ακρίβεια και αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης Xpert HBV VL**

| Συγκέντρωση DNA του HBV (Log <sub>10</sub> IU/ml) |                   |     | Συμβολή στο SD συνολικής διακύμανσης (CV%) |                  |               |                  |       |                  |                            |                  |                        |                  | Συνολική ακρίβεια |                     |
|---|-------------------|-----|--|------------------|---------------|------------------|-------|------------------|----------------------------|------------------|------------------------|------------------|-------------------|---------------------|
|   |                   |     | Κέντρο/ Αναλυτής                           |                  | Παρτίδα (Lot) |                  | Ημέρα |                  | Χειριστής/ σειρά αναλύσεων |                  | Εντός σειράς αναλύσεων |                  |                   |                     |
| Αναμενόμενη                                       | Παρατηρούμενη     | 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> Το (%) είναι η συμβολή της διακύμανσης του συστατικού μέρους στη συνολική διακύμανση

<sup>b</sup>

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

“CV” είναι το CV φυσικού λογαρίθμου, όπως προκύπτει από τον τύπο:

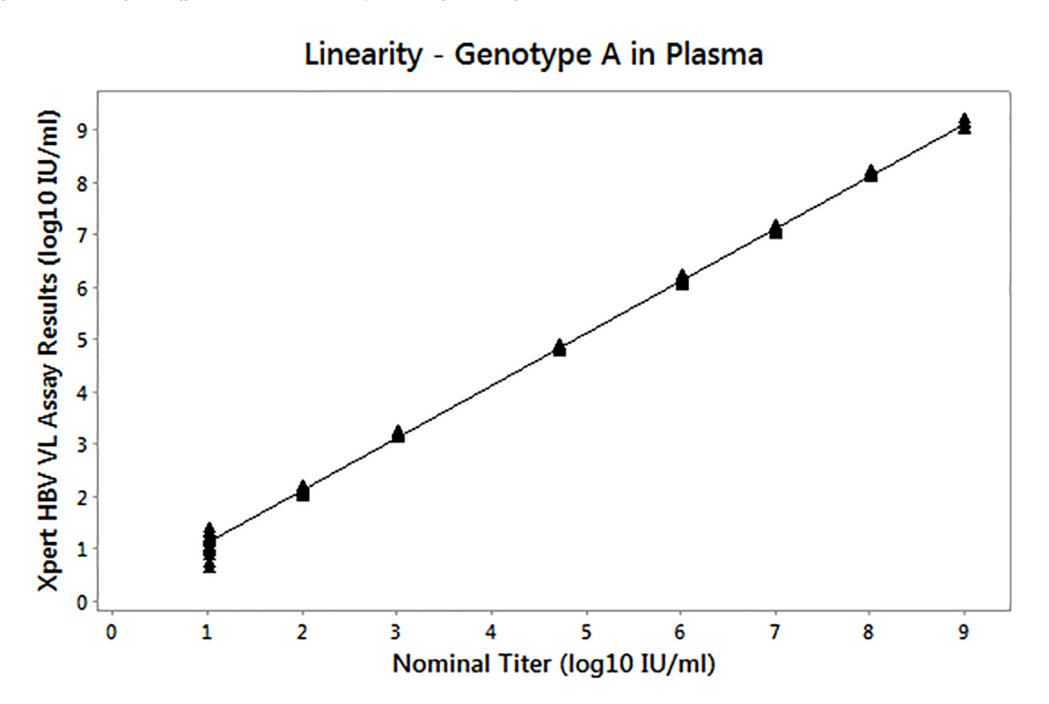
<sup>c</sup> Η παρατηρούμενη τιμή είναι πάνω από το ποσοτικό εύρος της εξέτασης Xpert HBV VL.

### 18.4 Γραμμικό εύρος

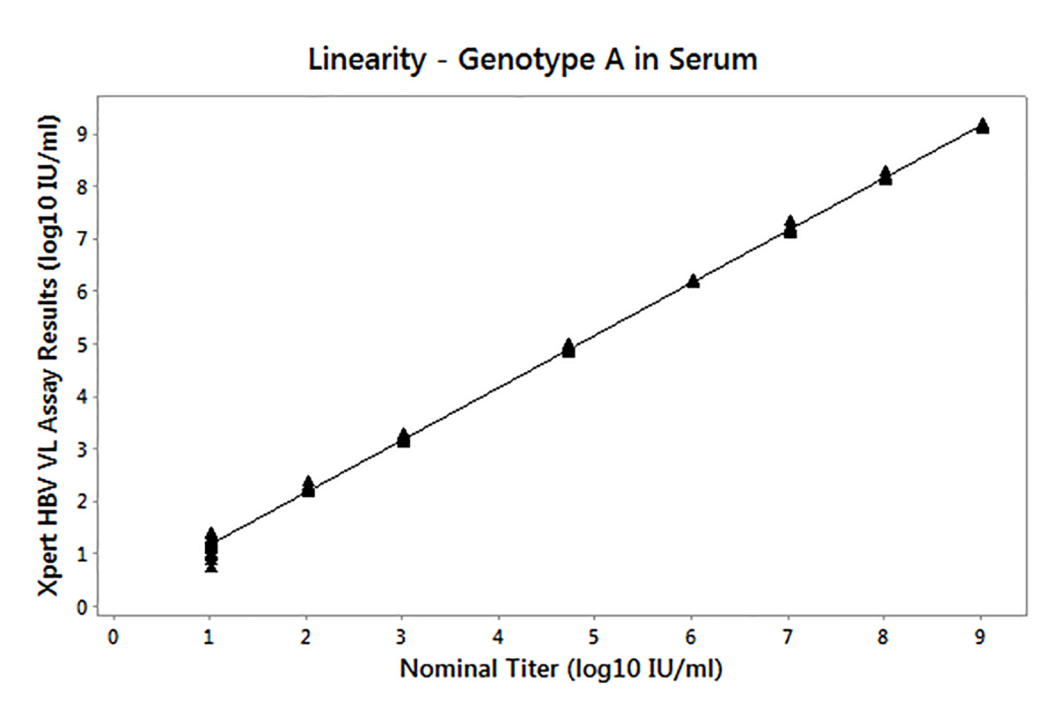
#### Γονότυπος A

Το γραμμικό εύρος της εξέτασης Xpert HBV VL προσδιορίστηκε με ανάλυση μιας ομάδας οκτώ μελών που καλύπτει εύρος συγκέντρωσης HBV από 1,00 – 9,00  $\log_{10} \text{ IU/ml}$ . Οι ομάδες παρασκευάστηκαν με ενοφθάλμιση κλινικού δείγματος γονότυπου A του HBV ή αποθέματος DNA πλασμιδίου HBV υψηλού τίτλου σε αρνητικό για HBV πλάσμα και ορό με

EDTA. Κάθε μέλος της ομάδας αναλύθηκε σε επαναληπτικά δείγματα των οκτώ ανά παρτίδα αντιδραστηρίων, εκτός από τις χαμηλότερες αραιώσεις που αναλύθηκαν σε επαναληπτικά δείγματα των δεκαέξι ανά παρτίδα αντιδραστηρίων, με τη χρήση δύο παρτίδων αντιδραστηρίων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Εικόνα 9 και τον Εικόνα 10.



Εικόνα 9. Γραμμικότητα για την εξέταση Xpert HBV VL σε πλάσμα με EDTA



Εικόνα 10. Γραμμικότητα για την εξέταση Xpert HBV VL σε ορό με EDTA

Γονότυποι B-H

Για την επιβεβαίωση της γραμμικότητας, παρασκευάστηκαν ομάδες αραιώσης που αντιπροσωπεύουν τους γονότυπους Β έως Η του HBV για να καλυφθεί όσο το δυνατόν ευρύτερο εύρος μέτρησης, με αραιώση κλινικού δείγματος που αντιπροσωπεύει κάθε γονότυπο σε αρνητικό για HBV πλάσμα με EDTA. Τα μέλη της ομάδας αναλύθηκαν με τον ίδιο αριθμό επαναληπτικών δειγμάτων όπως για τον γονότυπο Α του HBV με τη χρήση μίας παρτίδας αντιδραστηρίων.

Η γραμμικότητα καταδείχθηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια οδηγία CLSI EP06-A<sup>13</sup> για τους γονότυπους Α-Η με  $R^2 > 0,99$ . Η εξέταση Xpert HBV VL είναι γραμμική στο εύρος 1,00 – 9,00  $\log_{10}$  IU/ml για τον γονότυπο Α και σε όλο το εύρος που εξετάστηκε για τους γονότυπους Β έως Η (βλ. Πίνακας 7).

**Πίνακας 7. Γραμμικότητα της εξέτασης Xpert HBV VL ανά γονότυπο**

| Γονότυπος  | Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης | R <sup>2</sup> | Εύρος τίτλων που εξετάστηκαν (Log <sub>10</sub> IU/ml) |
|------------|---------------------------------|----------------|--|
| A (Πλάσμα) | $y = 1,005x + 0,093$            | 0,999          | 1,00 – 9,00  |
| A (Ορός)   | $y = 1,000x + 0,167$            | 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 Αναλυτική ειδικότητα (έλλειψη παρεμπόδισης)

Η αναλυτική ειδικότητα της εξέτασης Xpert HBV VL αξιολογήθηκε με την προσθήκη μικροοργανισμών που προκαλούν δυνητική διασταυρούμενη αντιδραστικότητα σε συγκέντρωση  $1 \times 10^6$  CFU/ml για μικροοργανισμούς ή  $1 \times 10^5$  αντίγραφα/ml ή TCID<sub>50</sub>/ml για ιούς σε αρνητικό για HBV πλάσμα με EDTA και πλάσμα με EDTA που περιέχει 30 IU/ml υλικό αναφοράς HBV (4<sup>ο</sup> διεθνές πρότυπο του Π.Ο.Υ. για τον HBV, κωδικός NIBSC: 10/266)<sup>4</sup>. Οι μικροοργανισμοί που εξετάστηκαν αναφέρονται στον Πίνακα 8. Κανένας από τους εξεταζόμενους μικροοργανισμούς δεν παρουσίασε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα ή παρεμπόδιση με την ποσοτικοποίηση της εξέτασης Xpert HBV VL.

**Πίνακας 8. Μικροοργανισμοί αναλυτικής ειδικότητας**

| Ιούς                      | Βακτήρια                          | Ζυμομύκητες             |
|---------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Ανθρώπινος ιός πολυόμα ΒΚ | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | <i>Candida albicans</i> |
| Κυτταρομεγαλοϊός          | <i>Staphylococcus aureus</i>      |                         |
| Ιός Epstein-Barr          |                                   |                         |
| Ιός ηπατίτιδας Α          |                                   |                         |
| Ιός ηπατίτιδας C          |                                   |                         |
| Ιός απλού έρπη 1          |                                   |                         |
| Ιός απλού έρπη 2          |                                   |                         |
| Ανθρώπινος ερπητοϊός 6    |                                   |                         |
| Ανθρώπινος ερπητοϊός 8    |                                   |                         |

## 18.6 Ουσίες που ενδέχεται να προκαλούν δυνητική παρεμπόδιση

Αξιολογήθηκε η ευαισθησία της εξέτασης Xpert HBV VL σε παρεμπόδιση λόγω αυξημένων επιπέδων ενδογενών ουσιών, από δείκτες αυτοάνοσων νοσημάτων και από φάρμακα που συνταγογραφούνται για ασθενείς που έχουν μολυνθεί από τον HBV. Οι ανασταλτικές επιδράσεις αξιολογήθηκαν τόσο παρουσία όσο και απουσία περίπου 30 IU/ml υλικού αναφοράς DNA του HBV (4<sup>ο</sup> διεθνές πρότυπο του Π.Ο.Υ. για τον HBV, κωδικός NIBSC: 10/266).<sup>4</sup>

Αυξημένα επίπεδα των ενδογενών ουσιών που αναφέρονται στον Πίνακα 9 καταδείχθηκε ότι δεν παρεμβαίνουν στην ποσοτικοποίηση της εξέτασης Xpert HBV VL με τον μέσο τίτλο  $\log_{10}$  καθενός από τα θετικά για HBV δείγματα που περιέχουν δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες εντός  $\pm 0,10 \log_{10}$  IU/ml του θετικού μάρτυρα. Ελήφθησαν αρνητικά αποτελέσματα για όλα τα δείγματα χωρίς στόχο HBV, αποδεικνύοντας ότι δεν υπήρχε καμία επίδραση στην ειδικότητα του προσδιορισμού.

### Ενδογενείς ουσίες

**Πίνακας 9. Ενδογενείς ουσίες και συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν**

| Ουσία         | Συγκέντρωση που εξετάστηκε |
|---------------|----------------------------|
| Αλβουμίνη     | 9 g/dl                     |
| Χολερυθρίνη   | 20 mg/dl                   |
| Αιμοσφαιρίνη  | 500 mg/dl                  |
| Ανθρώπινο DNA | 0,4 mg/dl                  |
| Τριγλυκερίδια | 3000 mg/dl                 |

### Φάρμακα

Τα συστατικά των φαρμάκων που παρουσιάζονται στον Πίνακα 10 καταδείχθηκε ότι δεν προκαλούν παρεμπόδιση στην ποσοτικοποίηση της εξέτασης Xpert HBV VL, κατά την εξέταση σε συγκέντρωση τριπλάσια από το μέγιστο επίπεδο ( $C_{max}$ ), παρουσία και απουσία DNA του HBV.

**Πίνακας 10. Δεξαμενές φαρμάκων που εξετάστηκαν**

| Δεξαμενή | Φάρμακα  |
|----------|--|
| 1        | Ζιδοβουδίνη, Σακουιναβίρη, Κλαριθρομυκίνη, Ιντερφερόνη-άλφα-2b, Ριτοναβίρη, Ομπιτασβίρη, Παριταπρεβίρη, Ντασαμπουβίρη, Διδανασίνη          |
| 2        | Θειική αβακαβίρη, φοσαμπρεναβίρη, πεγκιντερφερόνη-άλφα-2α, ριμπαβίρη, εντεκαβίρη, αδεφοβίρη διπιβοξίλη                                     |
| 3        | Φουμαρική δισοπροξιλική τενοφοβίρη, λαμβουδίνη, θειική ινδιναβίρη γκανσικλοβίρη, Valganciclovir HCl, ακυκλοβίρη, παροξετίνη, τελμπιβουδίνη |
| 4        | Σταβουδίνη, εφαβιρένζη, λοπιναβίρη, ενφουβιρτίδη, σιπροφλοξασίνη φλουοξετίνη   |
| 5        | Νεβιραπίνη, νελφίναβίρη, αζιθρομυκίνη, βαλακυκλοβίρη, σετραλίνη, τενοφοβίρη, αλαφεναμίδη   |

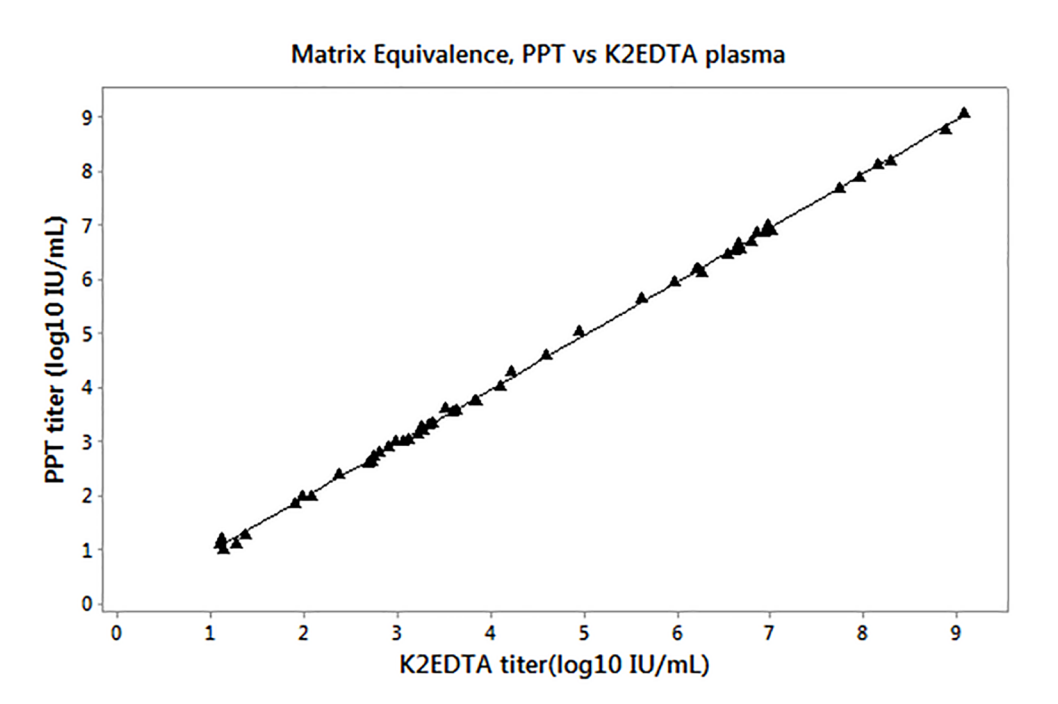
### Δείκτες αυτοάνοσων νοσημάτων

Η εξέταση δειγμάτων πλάσματος με K<sub>2</sub>EDTA από πέντε άτομα θετικά για καθέναν από τους δείκτες αυτοάνοσων νοσημάτων συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ), αντιτυρινικό αντίσωμα (ANA) ή ρευματοειδή παράγοντα (ΡΠ) δεν έδειξαν παρεμβολή στην απόδοση της εξέτασης Xpert HBV VL. Οι μέσες συγκεντρώσεις  $\log_{10}$  δειγμάτων που ενοφθαλμίστηκαν με DNA του HBV ήταν εντός του  $\pm 0,10 \log_{10}$  IU/ml του θετικού μάρτυρα. Ελήφθησαν αρνητικά αποτελέσματα για όλα τα δείγματα χωρίς στόχο HBV, αποδεικνύοντας ότι δεν υπήρχε καμία επίδραση στην ειδικότητα του προσδιορισμού.

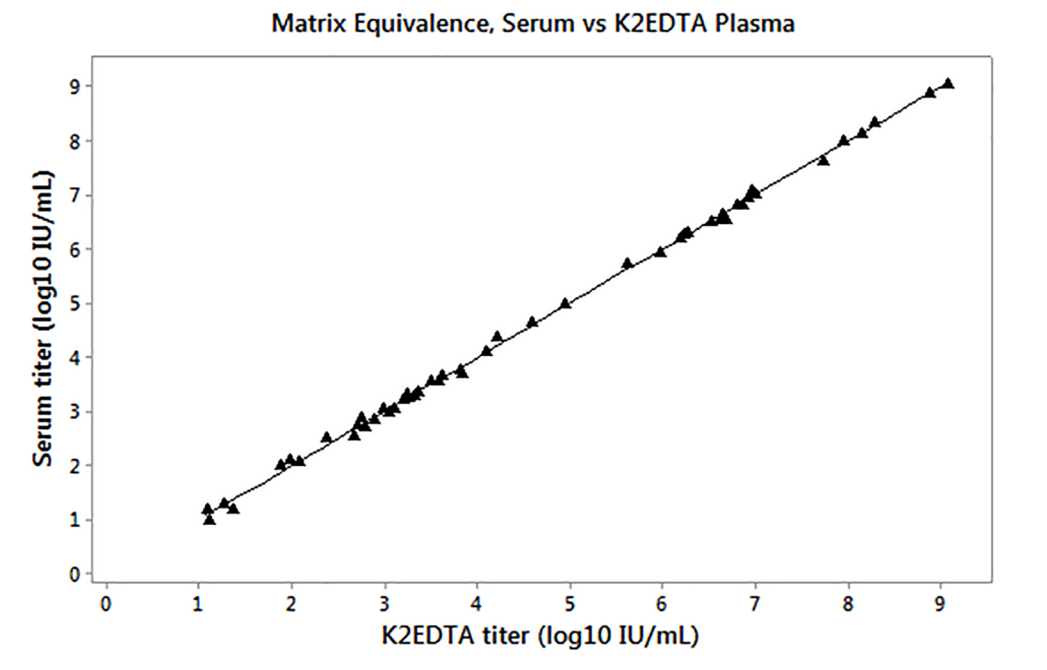
### 18.7 Ισοδυναμία μήτρας (πλάσμα με K<sub>2</sub>EDTA, PPT-EDTA και ορός)

Η ισοδυναμία υποβάθρου για την εξέταση Xpert HBV VL διεξήχθη με 32 αντιστοιχισμένα θετικά για HBV κλινικά δείγματα και 23 αντιστοιχισμένα αρνητικά για κλινικά δείγματα που συλλέχθηκαν σε σωληνάρια συλλογής πλάσματος με K<sub>2</sub>EDTA, πλάσματος και ορού με PPT-EDTA. Τα 23 αντιστοιχισμένα αρνητικά για HBV κλινικά δείγματα ενοφθαλμίστηκαν με υλικό θετικό για HBV, από κλινικά δείγματα που αντιπροσωπεύουν τους γονότυπους B έως G του HBV και ένα πλασμίδιο DNA που εκφράζει την αλληλουχία στόχο του γονότυπου A του HBV, με τίτλους σε όλο το γραμμικό εύρος.

Καταδείχθηκε ισοδυναμία υποστρώματος στα δείγματα που εξετάστηκαν όπως εικονίζεται στο Εικόνα 11 και στο Εικόνα 12.



Εικόνα 11. Γράφημα γραμμικής παλινδρόμησης πλάσματος με PPT-EDTA έναντι πλάσματος με K<sub>2</sub>EDTA



**Εικόνα 12. Γράφημα γραμμικής παλινδρόμησης ορού έναντι πλάσματος με K<sub>2</sub>EDTA**

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η εξέταση Xpert HBV VL αποδίδει ισοδύναμα σε πλάσμα με K<sub>2</sub>-EDTA, πλάσμα και ορό με PPT-EDTA για δείγματα στο εύρος του 1,0-9,0 log<sub>10</sub> IU/ml περίπου.

## 18.8 Συνολική αστοχία του συστήματος

Το συνολικό ποσοστό αστοχίας του συστήματος για τον προσδιορισμό HBV VL προσδιορίστηκε με την εξέταση 100 επαναληπτικών δειγμάτων πλάσματος με EDTA που ενοφθαλμίστηκαν με το 4ο διεθνές πρότυπο του Π.Ο.Υ. για το DNA του HBV (κωδικός NIBSC 10/266)<sup>4</sup>, δείγμα γονότυπου A. Τα ενοφθαλμισμένα δείγματα εξετάστηκαν σε συγκέντρωση στόχο περίπου 3 x LLOQ (30 IU/ml).

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης κατέδειξαν ότι όλα τα επαναληπτικά δείγματα ήταν έγκυρα και θετικά για τον HBV - στόχο, με αποτέλεσμα συνολικό ποσοστό αστοχίας του συστήματος 0,0%

## 18.9 Επιμόλυνση λόγω μεταφοράς δείγματος

Εξετάστηκε ένα δείγμα θετικό HBV με υψηλό τίτλο (>1 x 10<sup>7</sup> IU αντίγραφα/ml), ακολουθούμενο αμέσως από την εξέταση ενός δείγματος αρνητικού για HBV, στην ίδια υπομονάδα αναλυτή GeneXpert. Η διαδικασία επαναλήφθηκε είκοσι (20) φορές σε δύο υπομονάδες. Το ποσοστό μεταφοράς δείγματος της εξέτασης Xpert HBV VL ήταν 0%.

## 19 Κλινική απόδοση

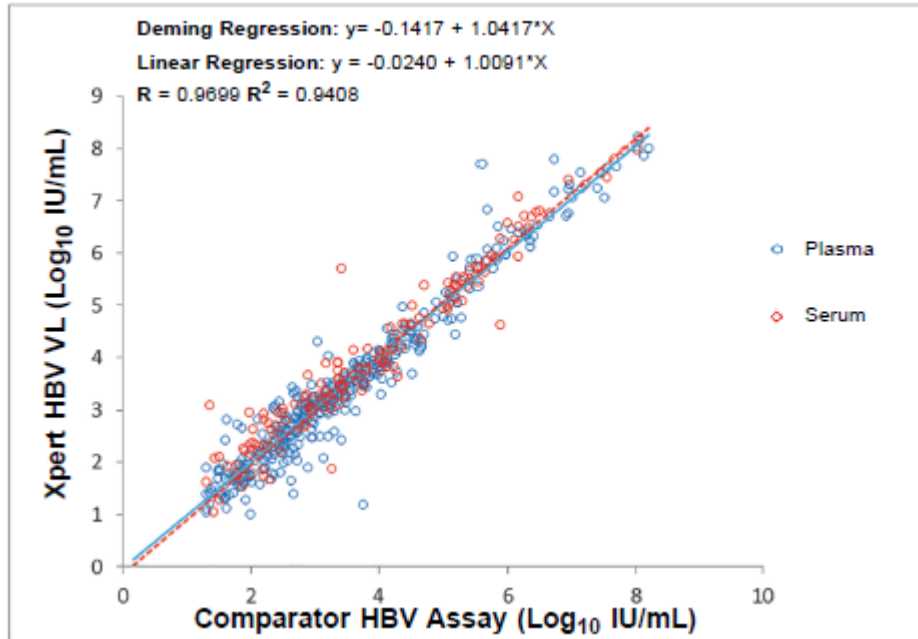
### 19.1 Ειδικότητα σε φυσιολογικούς, υγιείς αιμοδότες

Η ειδικότητα της εξέτασης Xpert HBV VL αξιολογήθηκε με τη χρήση 99 παρασκευασμάτων ορού και 100 πλάσματος με EDTA από αρνητικούς για HBV αιμοδότες. Η ειδικότητα της εξέτασης Xpert HBV VL ήταν 100,0% [95% CI: 98,1-100,0 (199/199)].

## 19.2 Συσχέτιση μεθόδων

Διεξήχθη πολυκεντρική μελέτη για την αξιολόγηση της απόδοσης της εξέτασης Xpert HBV VL σε σύγκριση με μια μέθοδο ποσοτικής σύγκρισης του DNA του HBV χρησιμοποιώντας υπολειπόμενα καθιερωμένης φροντίδας δείγματα ορού και πλάσματος με EDTA από άτομα που ήταν γνωστό ότι είχαν μολυνθεί με HBV.

Από τα 876 επιλέξιμα άτομα, τα 351 (40,1%) ήταν γυναίκες και τα 489 (55,8%) ήταν άνδρες. Η μέση ηλικία ήταν  $47,2 \pm 15,9$  έτη, με εύρος από 18 έως 89 έτη. Από αυτά τα 876 δείγματα, τα 560 βρίσκονταν εντός του ποσοτικού εύρους τόσο του προσδιορισμού HBV VL όσο και του συγκριτικού προσδιορισμού. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων παλινδρόμησης Deming και απλής γραμμικής παλινδρόμησης παρουσιάζονται στον Εικόνα 13.



Εικόνα 13. Συσχέτιση της εξέτασης Xpert HBV VL έναντι της συγκριτικής μεθόδου με χρήση δειγμάτων ορού και πλάσματος με EDTA

## 20 Βιβλιογραφία

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. Διαθέσιμο σε: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. Απρίλιος 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. Προσελάστηκε στις 20 Απριλίου 2018 στη διεύθυνση [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/wastemanag/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/).
8. ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 16ης Δεκεμβρίου 2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, την τροποποίηση και την κατάργηση του καταλόγου των δηλώσεων προφύλαξης, των οδηγιών 67/548/ΕΟΚ και 1999/45/ΕΚ (τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 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 Θέσεις κεντρικών γραφείων της Cepheid

### Κεντρικά γραφεία της εταιρείας

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Αρ. τηλεφώνου: + 1 408 541 4191  
Αρ. φαξ: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Κεντρικά γραφεία της Ευρώπης

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Αρ. τηλεφώνου: + 33 563 825 300  
Αρ. φαξ: + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 22 Τεχνική βοήθεια

Προτού επικοινωνήσετε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Cepheid, συλλέξτε τις παρακάτω πληροφορίες:

- Όνομα προϊόντος
- Αριθμός παρτίδας
- Αριθμός σειράς του αναλυτή
- Μηνύματα σφαλμάτων (εάν υπάρχουν)
- Έκδοση λογισμικού και, εάν είναι διαθέσιμο, αριθμός ετικέτας σέρβις του υπολογιστή
















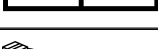

### Πληροφορίες επικοινωνίας

Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής  
Αρ. τηλεφώνου: + 1 888 838 3222  
Email: techsupport@cepheid.com

Γαλλία  
Αρ. τηλεφώνου: + 33 563 825 319  
Email: support@cepheideurope.com

Πληροφορίες επικοινωνίας για όλα τα γραφεία τεχνικής υποστήριξης της Cepheid διατίθενται στην ιστοσελίδα μας: [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

## 23 Πίνακας συμβόλων

| Σύμβολο   | Σημασία   |
|---|---|
|    | Αριθμός καταλόγου                                   |
|    | <i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν |
|    | Μην επαναχρησιμοποιείτε                             |
|    | Κωδικός παρτίδας                                    |
|    | Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης                   |
|    | Κατασκευαστής                                       |
|    | Χώρα κατασκευής                                     |
|    | Περιέχει επαρκή ποσότητα για <i>n</i> εξετάσεις     |
|    | Μάρτυρας  |
|  | Ημερομηνία λήξης                                    |
|  | Σήμανση CE – Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση                   |
|  | Περιορισμός θερμοκρασίας                            |
|  | Βιολογικοί κίνδυνοι                                 |
|  | Προσοχή   |
|  | Προειδοποίηση                                       |
|  | Уповноважений представник у Швейцарії               |
|  | импортер  |



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

