

	<h2 style="margin: 0;">사용설명서</h2> <p style="margin: 0;">종양관련유전자검사시약 (Xpert BCR-ABL Ultra)</p>	문서번호	XP-BCRABL-PI11
		제. 개정번호	1
		제. 개정일자	2020. 12. 01

본 제품은 『체외진단의료기기』이며, 『일회용의료기기』로 『재사용 금지』

제품명 및 분류번호[등급] : Xpert BCR-ABL Ultra, 종양관련유전자검사시약 N02030.01 [3]

수입품목허가번호 : 체외 수허 17-562 호

수입업자 : (주) 진엑스, Tel. 02-3432-8555 FAX. 02-3432-8556

(영업소) 서울시 송파구 송파대로 201, 제비동 제2층 제비-209호 (문정동, 송파테라타워2)

(창고1, 시험실1) 서울시 송파구 백제고분로 130, 지하1층 일부(잠실동, 덕양빌딩)

수입업허가번호 : 체외 제 3039호

제조사 : Cepheid (미국, Caribbean drive, Sunnyvale, CA 94089)

제조번호 및 유효기간 : 제조원 표시사항 참고

표준코드(UDI) : 제조원 표시사항 참고

저장방법 : 2~8°C

포장단위 : 10 Test/Kit

사용목적 : 만성 골수성 백혈병(CML) 진단을 받은 환자들의 말초혈액으로부터 ABL 및 BCR-ABL1의 mRNA 전사체(e13a2/b2a2 또는 e14a2/b3a2)량을 실시간 중합 효소 연쇄반응법 (Real-time PCR)으로 정량하여 환자의 임상적 상태를 모니터링 하는데 도움을 주는 체외진단의료기기(단, BCR-ABL1의 mRNA 전사체 특정 유형을 판단할 수 없음.)

[사용방법]

1. 검체 준비 및 저장방법

- 가. Whole Blood 검체는 EDTA 또는 PAXgene Tube에 수집하며 절대 Plasma를 분리하지 않는다.
- 나. EDTA Tube의 검체는 2-8°C에서 72시간(3일), PAXgene Tube의 검체는 2-8°C에서 120시간(5일) 동안 보관한다.

2. 검사 전 준비 과정

검사 20분 전 보관중인 검체와 Sample Preparation Reagent를 꺼내 실온화 하며, Proteinase K (PK) 는 Microcentrifuge를 통해 약하게 Spin Down한다. 검사를 위해 6-color GeneXpert 및 4.4a 또는 그 이상의 소프트웨어가 필요하다.

중요 : 카트리지에 시약을 넣고 60분 이내에 검사를 시작해야 한다.

중요 : 검체를 준비하기 전 포장된 카트리지를 꺼낸다.

가. 검체 준비

1) EDTA Tube 수집 검체

- 가) 새 50ml Conical Tube에 PK (Proteinase K) 100 μ l을 넣는다.
- 나) 혈액 검체는 피펫팅 하기 직전 8번 위 아래로 흔들어 잘 섞어준다. Blood Collection Tube 제조사의 지침을 참조한다.
- 다) 가)Tube에 혈액 검체 4ml을 넣는다.
- 라) 3초간 높은 속도로 Vortexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 마) 상온에서 1분간 Incubation 한다.
- 바) Lysis Reagent(LY) 2.5ml을 넣는다.

주의 : 남아있는 Lysis Reagent(LY)는 이후 검사과정에 사용되므로 실온에 둔다.

- 사) 10초간 높은 속도로 Vortexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 아) 상온에서 5분간 Incubation 한다.
- 자) 10초간 높은 속도로 Vortexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 차) 상온에서 5분간 Incubation 한다.
- 카) 10초간 높은 속도로 Vortexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 타) 새 Conical Tube에 전 처리한 카) 검체 1ml을 넣는다.

주의 : 남아있는 11)번 검체는 2-8°C에서 1시간, -20°C이하에서 3주간 보관 할 수 있다.

- 파) 타) 시약에 바)번 과정 이후 남은 Lysis Reagent(LY) 1.5ml을 넣는다.
- 하) 10초간 높은 속도로 Vortexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 거) 상온에서 10분간 Incubation 한다.
- 너) 15)번 시약에 Absolute Ethanol 2ml을 넣는다.
- 더) 10초간 높은 속도로 Vortexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 러) 잔여 PK 또는 LY 시약은 버린다.

2) PAXgene Tube(서울수신14-1479호 및 서울수신13-2674호, 이하 생략) 수집 검체

- 가) EDTA Tube 수집된 검체의 검사과정 가)-마)까지 동일하게 진행한다.
- 나) 1N NaOH 500 μ l을 넣는다.
- 다) 3초간 높은 속도로 Vertexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 라) 상온에서 1분간 Incubation 한다.
- 마) EDTA Tube 수집된 검체의 검사과정 바)-리)까지 동일하게 진행한다.

3) 재검을 위한 검체 준비

- 가) 충분한 혈액 검체가 남아있는 경우 1) 또는 2) 과정을 다시 수행하여 재검을 수행한다. 만약 원 검체가 불충분 할 경우 1) 또는 2) 과정에서 전 처리된 혈액 검체를 사용한다.
- 나) 전 처리된 검체를 냉동 보관했을 경우, 실온에서 해동한다.
- 다) 전 처리된 검체를 10초간 높은 속도로 Vertex 한다.
- 라) 새 Conical Tube에 전 처리된 검체 1mL을 넣는다.
- 마) Lysis Reagent(LY) 1.5mL을 넣는다.
- 바) 10초간 높은 속도로 Vertexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 사) 상온에서 10분간 Incubation 한다.
- 아) 15)번 시약에 Absolute Ethanol 2mL을 넣는다.
- 자) 10초간 높은 속도로 Vertexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 차) 잔여 PK, LY 시약 및 전 처리된 검체를 버린다.

4) BCR-ABL 또는 ABL의 전사 level이 유효 Ct범위를 초과했거나, 카트리지 내부 압력이 설정된 한계를 초과한 경우 재검 방법

- 가) 새 50mL Conical Tube에 PK (Proteinase K) 100 μ l을 넣는다.
- 나) 혈액 검체는 피펫팅 하기 직전 8번 위 아래로 흔들어 잘 섞어준다. Blood Collection Tube 제조사의 지침을 참조한다.
- 다) Tube에 혈액 검체 50 μ l를 넣는다.
- 라) 3초간 높은 속도로 Vertexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 마) 상온에서 1분간 Incubation 한다.
- 바) Lysis Reagent(LY) 2.5mL을 넣는다.
- 사) 10초간 높은 속도로 Vertexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 아) 상온에서 10분간 Incubation 한다.
- 자) Absolute Ethanol 2mL을 넣는다.
- 차) 10초간 높은 속도로 Vertexing 하여 검체와 시약을 섞는다.
- 카) 시약 전체를 카트리지에 넣는다.
- 타) 잔여 PK 또는 LY 시약은 버린다.

나. 카트리지 준비

검체를 카트리지에 넣기 위해 ;

- 1) Kit에서 포장된 카트리지를 꺼낸다.
- 2) 카트리지에 상처가 있는지 확인한다. 만약 상처가 있다면 사용하지 않는다.
- 3) 카트리지 뚜껑을 열어 Wash Reagent (1)를 카트리지의 Wash Reagent Chamber (작은 Chamber)에 전량 넣는다.
(그림 1)

주의 : 13개의 작은 구멍은 얇은 플라스틱 망으로 덮여있다. 플라스틱 망을 제거하지 않는다.

- 4) 제공되는 피펫을 통해 전 처리한 검체를 Sample Chamber (큰 Chamber)에 넣는다.
- 5) 카트리지 뚜껑을 닫는다.

주의 : 카트리지에 Wash Reagent 및 전 처리된 검체를 넣은 후 1시간 이내 검사한다.

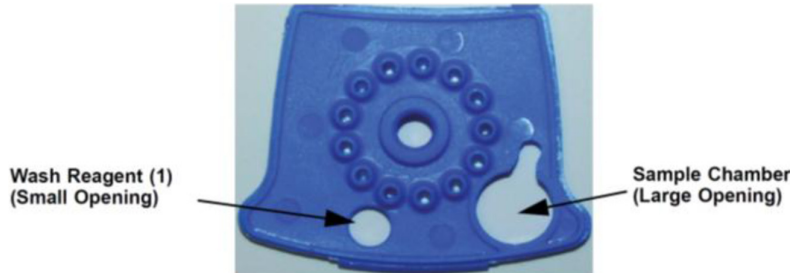


그림 1. Xpert BCR-ABL Ultra Cartridge (Top View)

3. 검사과정

중요 : 이 섹션에서는 검사의 기본 단계를 설명한다. 자세한 내용은 GeneXpert Dx System 또는 GeneXpert Infinity System의 사용자 매뉴얼을 참조한다.

주의 : 시스템 관리자가 시스템의 Workflow를 변경한 경우 검사 방법은 변경될 수 있다.

가. GeneXpert 장비를 켜다.

- GeneXpert Dx 장비를 사용한다면, 가장 먼저 GX Dx장비를 켜 후, 컴퓨터를 켜다. GeneXpert Software는 자동으로 실행된다. 필요할 경우 Windows® desktop에 있는 GeneXpert Dx 바로가기 아이콘을 두 번 클릭한다.
- GeneXpert Infinity 장비를 사용한다면, 기계의 전원을 켜다. Xpertise software는 자동으로 실행된다. 필요할 경우 Windows® desktop에 있는 GeneXpert Dx 바로가기 아이콘을 두 번 클릭 한다.

나. 사용자 이름 및 암호를 넣어 GeneXpert System 소프트웨어에 로그인 한다.

다. GeneXpert System에서, Create Tes(GeneXpert Dx) 또는 Orders 및 Order Test(Infinity)를 클릭한다.

라. Patient ID를 스캔한다.(선택) 만약 수기로 작성을 할 경우 정확하게 입력 하였는지 확인한다. Patient ID는 실험결과와 연관되고 결과 보기 창 및 모든 보고서에 표시된다.

마. Sample ID를 스캔 하거나 수기로 입력한다. 만약 수기로 작성을 할 경우 정확하게 입력 하였는지 확인한다. Sample ID는 실험결과와 연관되고 결과 보기 창 및 모든 보고서에 표시된다.

바. 카트리지 바코드를 스캔한다. 바코드 정보를 사용하여 시약의 Lot ID, 카트리지 일련번호, 유통기한 등이 자동으로 입력된다.


주의 : 카트리지가 바코드가 스캔 되지 않은 경우, 재검사 절차에 따라 새로운 검사를 설정한다.

- 사. Start Test(GeneXpert Dx) 또는 Submit (Infinity) 버튼을 클릭한다. 필요한 경우 비밀번호를 입력한다.
- 아. GeneXpert Infinity인 경우, 컨베이어벨트에 카트리지를 놓는다. 카트리지가 자동으로 로드 되어 검사가 진행된다.
검사 후 사용된 카트리는 폐기물용기에 버려진다.
- GeneXpert Dx인 경우
- 1) 모듈에 불이 깜빡일 때 문을 열고 카트리지를 올려둔다.
 - 2) 모듈 문을 닫는다. 검사가 시작되면 불의 깜박임이 멈추며, 검사가 끝나면 모듈의 불이 꺼진다.
 - 3) 모듈 문을 열기 전에 모듈 문의 잠금 장치가 해제될 때까지 기다려야한다. 문이 열릴 때, 카트리지를 제거한다.
 - 4) 사용한 카트리는 실험실 폐기물 처리 방침에 따라 처리한다.

4. 결과 해석

GeneXpert DX 장비에서 측정된 형광신호와 내장된 프로그램의 알고리즘을 통해 해석한 결과는 "View Result" 창에서 확인 할 수 있다. 보고 가능한 결과를 표1에서 보여준다.

결과	해석
BCR-ABL has been detected; 그림 2	<p>BCR-ABL 전사체가 검출되었다.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● BCR-ABL has been detected-BCR-ABL 전사체가 검출되었으며, Ct 값이 유효한 범위 안에 존재하며 Endpoints 가 설정된 최소 값보다 높다. ● ABL Ct 값이 15보다 작을 경우 최소 32,000 ABL Copy 수가 존재한다. ● ABL Ct 값이 13.5보다 작을 경우 최소 100,000 ABL Copy 수가 존재한다. ● ABL: PASS; ABL 전사체가 검출되었으며, Ct 값이 유효한 범위 안에 존재하며 Endpoints 가 설정된 최소값보다 높다. ● Probe Check: PASS; 모든 Probe Check 결과는 통과다.
BCR-ABL has been not detected; 그림 3	<p>BCR-ABL 전사체가 검출되지 않았다.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● BCR-ABL has been not detected-BCR- 유효한 Ct 값 범위 안에 ABL 전사체가 검출되지 않았으며, Endpoints 가 설정된 최소 값보다 높다. ● ABL Ct 값이 15보다 작을 경우 최소 32,000 ABL Copy 수가 존재한다. ● ABL Ct 값이 13.5보다 작을 경우 최소 100,000 ABL Copy 수가 존재한다. ● ABL: PASS; ABL 전사체가 검출되었으며, Ct 값이 유효한 범위 안에 존재하며 Endpoints 가 설정된 최소값보다 높다. ● Probe Check: PASS; 모든 Probe Check 결과는 통과다.
BCR-ABL INVALID	<ul style="list-style-type: none"> ● INVALID : 검체 내 BCR-ABL 또는 ABL 의 전사체가 허용 기준을 초과하여 BCR-ABL 전사량을 확인할 수 없다. Troubleshooting Guide 를 참조한 후 재검한다. ● ABL: FAIL; Ct 값이 유효 범위를 벗어났거나 Endpoints 가 설정된 최소 값보다 낮다. Troubleshooting Guide 를 참조한 후 재검한다. ● Probe Check: PASS; 모든 Probe Check 결과는 통과다.

	<h1>사용설명서</h1> <p>종양관련유전자검사시약 (Xpert BCR-ABL Ultra)</p>	문서번호	XP-BCRABL-PI11
		제. 개정번호	1
		제. 개정일자	2020. 12. 01
ERROR	<p>BCR-ABL 전사량을 확인할 수 없다. Troubleshooting Guide 를 참조한 후 재검한다.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● BCR-ABL : NO RESULT ● ABL : NO RESULT ● Probe Check: PASS*/FAIL; 모든 Probe Check 결과는 통과 또는 실패다. <p>* 모든 Probe Check 결과가 통과 일 경우, 카트리지 내 허용된 압력을 벗어났거나, 시스템상의 문제로 Error가 발생했다.</p>		
NO RESULT	<p>BCR-ABL 전사량을 확인할 수 없다. 실험 결과가 불충분 할 때 나타난다. 예를 들어 검사자가 검사를 중단시키거나 정전이 발생하여 검사가 중단된 경우에 나타난다.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● BCR-ABL : NO RESULT ● ABL : NO RESULT ● Probe Check: NA (Not Application) 		

5. 정량 검사

분석의 인증서는 모든 Kit에서 제공하며, Lot 별 특정 표준곡선과 효율 값(EΔCt)을 포함한다. 각 카트리지 바코드는 효율 값(EΔCt) 및 Internal Scale(IS)로 정량 결과값을 통일한 Scaling Factor (SF)정보를 포함하고 있으며 자세한 효율 값(EΔCt)계산은 인증서에 포함되어 있다.

가. BCR-ABL has been detected at a level of N% (IS)

“BCR-ABL has been detected” 결과는 GeneXpert Dx 소프트웨어가 ABL Ct값 - BCR/ABL Ct값을 통해 얻어진 ΔCt 값을 이용한 아래의 계산식을 통해 BCR-ABL의 % (IS)를 계산 한 것이다.

: % BCR-ABL/ABL IS = EΔCt(ΔCt) x 100 x Scaling Factor (SF)

예] Lot-specific EΔCt = 1.96, SF = 1.22

검사 결과 : ABL Ct값 - 11.3, BCR/ABL Ct값 - 27.4, ΔCt = 11.3-27.4 = -16.1

% BCR-ABL/ABL IS = 1.96(-16.4) x 100 x 1.22 = 0.0024% (IS)

결과 보고 : **BCR-ABL has been detected at a level of 0.0024% (IS).** (그림 2.)

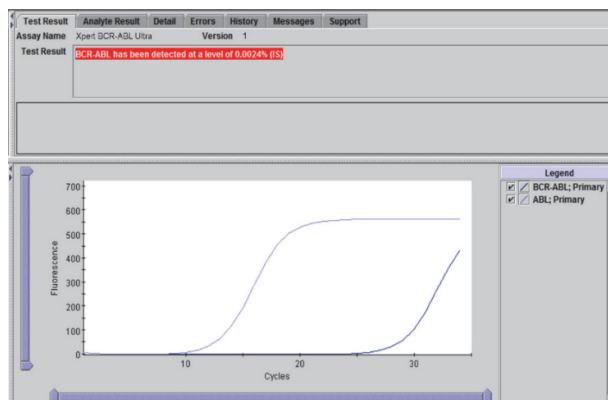


그림 2. BCR-ABL Has Been Detected

나. BCR-ABL was not detected at a detection limit of level of N% (IS)

BCR-ABL이 검출되지 않는 경우, GeneXpert 소프트웨어는 먼저 검사의 ABL Ct값에 32를 뺀으로써, 이론적인 ΔCt를 계산한다. View Result의 Analyte Result 탭에 ABL Ct값이 보고된다. 이를 이용하여, 소프트웨어는 BCR-ABL Ct값이 32로 측정이 되었을 경우 보고되는 BCR-ABL/ABL %(IS)보다 미만한 이론적인 BCR-ABL/ABL %(IS)을 계산한다.

예] Lot-specific EΔCt = 1.96, SF = 1.22

검사 결과 : ABL Ct값 - 12.2

이론적인 ΔCt : 12.2-32 = -19.8

% BCR-ABL/ABL IS = 1.96(-19.8) x 100 x 1.22 = 0.0002% (IS)

결과 보고 : **BCR-ABL was not detected at a detection limit of 0.0002% (IS).** (그림 3.)

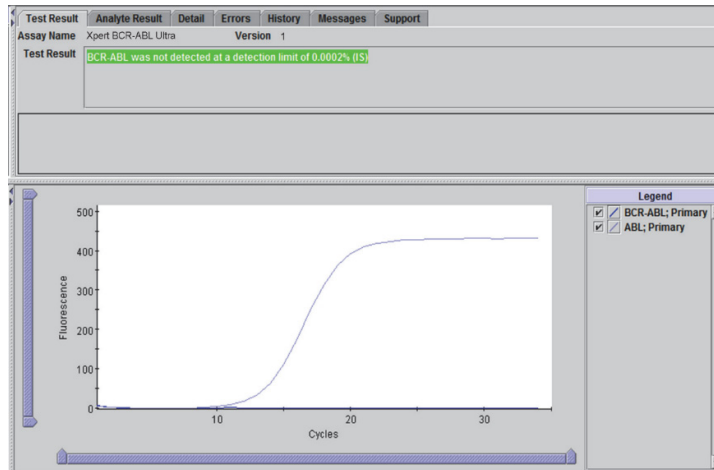


그림 3. BCR-ABL Was Not Detected

6. Troubleshooting Guide

Test Result	원인	해결방안
Invalid	검체 내 BCR-ABL 또는 ABL의 전사체가 허용 기준을 초과하여 BCR-ABL 전사량을 확인할 수 없다.	2.-4)의 재검 방법에 따라 전 처리한 검체와 새 카트리지를 이용하여 재검 한다.
	내부대조균인 ABL이 검출되지 않은 경우 <ul style="list-style-type: none"> ● 검체의 양이 부족하다. ● RT-PCR이 억제되었다. ● ABL Ct값이 18 이상이거나 Endpoint가 200이하일 경우 	<ul style="list-style-type: none"> ● 검체의 양을 확인한다. ● 가능하면 2.-3)의 재검 방법에 따라 전 처리한 검체와 새 카트리지를 이용하여 재검한다.


Error (Code2008)	카트리지가 내부 압력이 설정된 허용 범위를 초과한 경우	<ul style="list-style-type: none"> ● 검체의 양을 확인한다. ● WBC 농도가 증가했는지 확인한다. ● 2.-4)의 재검 방법에 따라 전 처리한 검체와 새 카트리지를 이용하여 재검한다.
Error (Code5006, 5007, 5008 및 5009)	Probe Check 실패	<ul style="list-style-type: none"> ● 가능하면 2.-3)의 재검 방법에 따라 전 처리한 검체와 새 카트리지를 이용하여 재검 한다.
No result	<ul style="list-style-type: none"> ● 충분한 Data 수집 실패 ● 온도센서, Valve 위치와 같은 GeneXpert 장비 문제로 인한 검사 실패 (사용자 매뉴얼을 참조한다.) 	<ul style="list-style-type: none"> ● 가능하면 2.-3)의 재검 방법에 따라 전 처리한 검체와 새 카트리지를 이용하여 재검 한다.

※ **검사의 한계**

- 검사 방법의 변경은 검사 성능을 변경 할 수 있다.
- Xpert BCR-ABL Ultra는 e1a2 (p190), e19a2 (P230), 또는 백혈병 환자의 말초 혈액 검체에 존재할 수 있는 다른 전좌를 검출하지 않는다.
- Xpert BCR-ABL Ultra는 e13a2 (b2a2)전좌를 검출하지 않는다.
- PCR 반응을 억제할 수 있기 때문에 항응고제인 헤파린을 사용하지 않는다.
- 구연산 나트륨(질산염), Buffy-coat 및 골수 검체에 대한 검사 유효성은 확인되지 않았다.

7. 정도관리 (Quality Control)

모든 검사는 내부대조군인 ABL 및 Probe Check Control 에 대한 검사를 함께 수행한다. 외부 대조군은 필요하지 않다.

	<h1>사용설명서</h1> <p>종양관련유전자검사시약 (Xpert BCR-ABL Ultra)</p>	문서번호	XP-BCRABL-PI11
		제. 개정번호	1
		제. 개정일자	2020. 12. 01

[사용 시 주의사항]

1. 체외진단용으로만 사용한다.
2. 모든 생물학적 검체는 전파될 수 있는 감염성 병원체로 취급되어야 한다. 모든 사람 검체는 각 기관의 안전 수칙에 따라 처리해야 한다. WHO 또는 각 국가의 질병관리센터의 검체 처리에 대한 가이드라인을 사용할 수 있다.
3. 사용한 카트리지와 시약의 처리를 위해 각 지역 환경 폐기물 담당자에게 문의한다. 본 제품 처리는 특정 요구사항이 있을 수 있으므로 각 지역의 의료폐기물 처리 요구 사항을 확인한다.
4. Xpert BCR-ABL Ultra 시약을 다른 시약으로 대처하지 않는다.
5. 사용자 매뉴얼의 사용 방법과 실험 조건을 따르지 않거나 제공되지 않은 시약의 사용은 잘못된 결과 또는 부작용을 초래할 수 있다.
6. 화학 물질 작업 및 생물학적 표본 처리는 기관의 안전 절차를 따른다.
7. 지나치게 높은 백혈구 수는 카트리지에 높은 압력을 줄 수 있으므로 검사가 중단 될 수 있다.
8. 전용 피펫 및 시약 세트를 사용하여 샘플을 전처리한다.
9. 검체 및 시약을 넣을 때를 제외하고 Xpert BCR-ABL Ultra 카트리지의 뚜껑을 열지 않는다.
10. 시약을 잘못 넣은 Xpert BCR-ABL Ultra 카트리지는 사용하지 않는다.
11. Xpert BCR-ABL Ultra 카트리지를 흔들지 않는다.
12. Xpert BCR-ABL Ultra 카트리지는 일회용이므로, 사용한 카트리지는 재사용하지 않는다.
13. 떨어뜨린 Xpert BCR-ABL Ultra 카트리지 또는 반응튜브가 손상된 Xpert BCR-ABL Ultra 카트리지는 사용하지 않는다.
14. 검사가 끝난 후 Xpert BCR-ABL Ultra 카트리지의 뚜껑을 열지 않는다.
15. 검사가 끝난 후, 해당 기관의 절차에 따라 Xpert BCR-ABL Ultra 카트리지를 버린다.

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert® and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

PAXgene® is a registered trademark of the QIAGEN Group.

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

Copyright © 2020 Cepheid