

# Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190

**REF** GXBCRABLP190-CE-10

Upute za upotrebu

**IVD**

## **Izjave o zaštitnom znaku, patentima i vlasničkim pravima**

### **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.

**© 2022–2023 Cepheid.**

See Section 26, Revision History for a description of changes.

Cepheid<sup>®</sup>, logotip Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> i Xpert<sup>®</sup> zaštitni su znakovi društva Cepheid, registriranog u SAD-u i drugim državama.

Svi ostali zaštitni znakovi vlasništvo su svojih odnosnih vlasnika.

KUPNJOM OVOG PROIZVODA KUPCU SE DODJELJUJE NEPRENOSIVO PRAVO NA NJEGOVU UPOTREBU U SKLADU S OVIM UPUTAMA ZA UPOTREBU. NIKAKVA SE DRUGA PRAVA NE DODJELJUJU IZRIČITO, IMPLICITNO ILI PREKLIZIJOM. NADALJE, KUPNJOM OVOG PROIZVODA NE DODJELJUJU SE NIKAKVA PRAVA NA PREPRODAJU.

**© 2022. – 2023. Cepheid.**

Pogledajte Odjeljak 26, Povijest revizija za opis promjena.

# Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190

---

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

## 1 Zaštićeni naziv

Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190

## 2 Uobičajeni ili ustaljeni naziv

Xpert BCR-ABL Ultra p190

## 3 Predviđena svrha

### 3.1 Namjena

Test Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190 test je *in vitro* dijagnostički test za upotrebu na sustavu Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> Dx System za kvantifikaciju transkripta mRNK BCR-ABL1 p190 i ABL1 u uzorcima periferne krvi bolesnika kojima je dijagnosticirana Philadelphia pozitivna (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] kronična mijeloična leukemija (CML) i akutna limfoblastična leukemija (ALL) koji izražava fuzijski transkript BCR-ABL1 tip e1a2. Test upotrebljava automatiziranu, kvantitativnu lančanu reakciju polimerazom reverzne transkriptaze u stvarnom vremenu (RT-qPCR) i namijenjen je za mjerenje postotnog omjera RNK transkripta BCR-ABL1 p190 u odnosu na mRNK gena ABL1 u bolesnika s CML-om ili ALL-om pozitivnih na t(9;22) tijekom nadzora liječenja.

Test ne nadzire ostale fuzijske transkripte koji proizlaze iz translokacije t(9;22) i nije namijenjen za dijagnozu CML-a ili ALL-a.

### 3.2 Predviđeni korisnik/okruženje

Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 trebaju upotrebljavati obučeni korisnici u laboratorijskom okruženju.

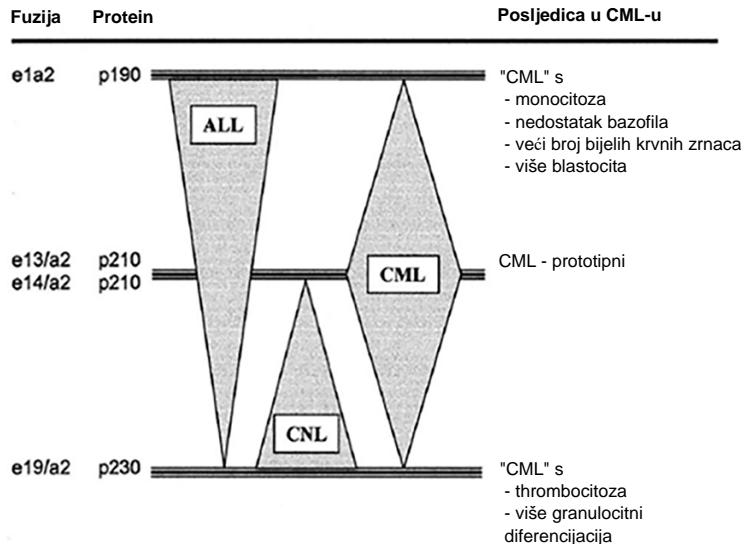
## 4 Sažetak i objašnjenje

**Philadelphia kromosom (Ph)** skraćeni je kromosom koji proizlazi iz translokacije 3' dijela gena ABL na kromosomu 9 u 5' dio gena BCR na kromosomu 22. Granična vrijednost gena ABL relativno je konstantna te se odvija na 5' kraju egzona a2, dok su granične vrijednosti gena BCR promjenjive, no većinom se okupljaju u 3 različita područja (regije skupina graničnih vrijednosti ili bcr). Ovisno o graničnoj vrijednosti na kromosomu 22, segmenti različitih veličina spojeni su s 3' sekvencama gena ABL. Postoje velike (M-bcr), manje (m-bcr) i mikro granične vrijednosti, a svaka daje različitu veličinu fuzijskih transkripata mRNK.<sup>1</sup>

Ph kromosom uočen je u više od 95 % bolesnika s kroničnom mijeloičnom leukemijom (CML) te u do 20 – 30 % odraslih osoba s akutnom limfoblastičnom leukemijom (ALL), 5 % djece s ALL-om te u 1 – 2 % bolesnika s akutnom mijeloičnom leukemijom (AML).<sup>1</sup>

Kod CML-a BCR-ABL p210 je prisutan u više od 95 % bolesnika te se ujedno nalazi i u otprilike 30 % bolesnika s ALL-om pozitivnih na Ph (Ph+). Od preostalih bolesnika s Ph+ ALL-om te u rijetkim slučajevima CML-a (1 – 3 %) prisutan je BCR-ABL p190. Kod CML-a BCR-ABL p210 i p190 mogu postojati zajedno. Fuzijski proteini p210 i p190 pokazuju povećanu aktivnost tirozin fosfokinaze u usporedbi s normalnim proteinom p145 c-abl.<sup>1,2</sup>

Kod bolesnika s Ph+ ALL-om oblik p190 uočen je kod otprilike 80 % Ph+ ALL-a kod djece te 20 – 40 % Ph+ ALL-a kod odraslih.<sup>1</sup> Nadalje, učestalost Ph kromosoma povećava se s godinama te je prisutna u 10 % u dobi 15 – 30, 25 % u dobi 40 – 49 te 20 – 40 % u bolesnika s ALL-om starijih od 50 godina.<sup>3-5</sup>



Akutna limfoblastična leukemija (ALL) hematološka je malignost kod koje dolazi do nakupljanja nezrelih, loše diferenciranih leukocita, limfoblasta u koštanoj srži, krvi i drugim tkivima. ALL se razvrstava kao rijedak oblik raka (broj rijetke bolesti ORPHA:513; GARD 522) s prevalencijom od 1,7/100 000. U Sjedinjenim Državama ALL je najčešći rak kod djece od rođenja do 15 godine te predstavlja 75 % svih slučajeva dječje leukemije.<sup>6, 7</sup>

Prisutnost Ph kromosoma kod bolesnika s ALL-om nakon konsolidacije značajan je predskazivač povratka bolesti i preporučuje se nadzor. No trenutačno ne postoje utvrđene smjernice koje definiraju učestalost nadzora bolesnika s ALL-om pomoću mjerenja transkripta BCR-ABL p190 za otkrivanje minimalne rezidualne bolesti (MRD). Smjernice Nacionalne sveobuhvatne mreže za rak (NCCN) imaju određene vremenske točke za nadzor transkripta BCR-ABL p210 kod bolesnika s CML-om, stoga se mjerenje transkripta BCR-ABL p190 za nadzor ALL-a provodi u sličnim vremenskim razmacima.<sup>5</sup>

Kroničnu mijeloičnu leukemiju (CML) karakterizira prisutnost Ph kromosoma uz > 95 % slučajeva koji se povezuju s transkriptom BCR-ABL p210 te samo 1 – 3 % slučajeva koji se povezuju s transkriptom BCR-ABL p190.<sup>2,3</sup>

Za razliku od međunarodnog standarda Svjetske zdravstvene organizacije (WHO IS) BCR-ABL za transkript p210, trenutačno ne postoji međunarodno priznata referencija koja se može koristiti za standardizaciju fuzijskog transkripta p190. Stoga trenutačni molekularni testovi za p190 obično otkrivaju fuzijski transkript i prijavljuju ga kao postotak u odnosu na ekspresiju gena unutarnje kontrole (npr. ABL).

## 5 Načelo postupka

Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 automatizirani je test za kvantifikaciju količine transkripta BCR-ABL1 p190 kao omjera BCR-ABL p190/ABL1. Test se provodi na sustavu Cepheid GeneXpert Dx System, koji automatizira i integrira pročišćavanje uzorka, amplifikaciju nukleinske kiseline i otkrivanje ciljne sekvence u jednostavnim ili složenim uzorcima pomoću testova RT-PCR u stvarnom vremenu i ugniježdenih testova PCR. Sustav se sastoji od instrumenta, računala i unaprijed instaliranog softvera za pokretanje testova i pregled rezultata. Sa sustavom je potrebno upotrebljavati jednokratne uloške GeneXpert koji primaju reagense za RT-PCR i ugniježdene reagense za PCR i provode postupke RT-PCR i ugniježdeni PCR. Za potpuni opis sustava proučite odgovarajući *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Uložak Xpert BCR-ABL Ultra p190 uključuje reagense za otkrivanje fuzijskih gena BCR-ABL1 p190 koji proizlaze iz manje granične vrijednosti, translokacije e1a2 i transkripta ABL1 kao endogene kontrole u uzorcima periferne krvi. Količina transkripta BCR-ABL1 p190 kvantificira se kao postotni omjer transkripta BCR-ABL1 p190/ABL1. Dvije kontrole uključene su u test Xpert BCR-ABL Ultra p190 – endogena kontrola (ABL1) i kontrola provjere sonde (PCC). Endogena kontrola za ABL1 normalizira cilj BCR-ABL1 p190 i osigurava da je u testu upotrijebljena dovoljna količina uzorka. PCC provjerava rehidraciju reagensa, napunjenost epruvete za PCR te da su sve sastavnice reakcije prisutne i funkcionalne u ulošku, uključujući sonde i boje.

## 6 Reagensi i instrumenti

### 6.1 Isporučeni materijali

Komplet testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 (GXBCRABLP190-CE-10) sadrži dovoljno reagensa za obradu 10 uzoraka ili uzoraka kontrole kvalitete. Komplet sadrži sljedeće:

Reagense **Xpert BCR-ABL Ultra**

**10 od svakog po kompletu**

<b>Proteinaza K (PK)</b>	<b>10 x 130 µl po bočici</b>
<b>Sastavnica</b>	<b>Sastojak reagensa</b>
Proteinaza K	< 5 %

<b>Reagens za lizu (LY) (gvanidin klorid)</b>	<b>10 x 5,3 ml po bočici</b>
<b>Sastavnica</b>	<b>Sastojak reagensa</b>
Gvanidin klorid	25 – 50 %
Ureja	25 – 50 %
Natrijev dodecil sulfat	< 2 %

<b>Reagens za pranje</b>	<b>10 x 2,9 ml po ampuli</b>
<b>Sastavnica</b>	<b>Sastojak reagensa</b>
Etanol	< 50 %
Gvanidin tiocijanat	< 50 %

<b>Xpert BCR-ABL Ultra p190 Uloške s ugrađenim reakcijskim epruvetama</b>		<b>10 po kompletu</b>
<b>Sastavnica</b>	<b>Sastojak reagensa</b>	<b>Količina</b>
Kuglicu 1 (osušenu zamrzavanjem)	Enzim: Taq DNK polimeraza < 50 U/kuglica dNTP-ovi < 0,05 %	1 po ulošku
Kuglicu 2 (osušenu zamrzavanjem)	Početnice i sonde < 0,005%	1 po ulošku
Kuglicu 3 (osušenu zamrzavanjem)	Početnice i sonde < 0,005%	1 po ulošku
Kuglicu 4 (osušenu zamrzavanjem)	Enzim: Taq DNK polimeraza < 50 U/kuglica dNTP-ovi < 0,05 %	1 po ulošku
Reagens za ispiranje	Kalijev klorid < 4 %	2 ml po ulošku
	Natrijev azid < 0,1 %	
	Polietilen glikol < 15 %	
	Polisorbat 20 < 0,2 %	
Reagens za eluiranje	Trizma baza < 0,3 %	2,5 ml po ulošku
	Trizma hidroklorid < 0,1 %	
	Natrijev azid < 0,05 %	

**CD****1 po kompletu**

- Datoteku definicije analize (ADF)
- Uputu za uvoz ADF-a u softver GeneXpert Dx
- Upute za upotrebu (Uputa)

**Bilješka** Goveđi serumski albumin (BSA) u kuglicama u ovom proizvodu proizveden je isključivo od goveđe plazme koja potječe iz Sjedinjenih Država. Životinje nisu hranjene proteinima preživača ili nekih drugih životinja; životinje su podvrgnute testiranju prije i nakon smrti. Tijekom obrade nije bilo miješanja materijala s drugim životinjskim materijalima.

**Bilješka** Potvrde o analizi i tehnički listovi sa specifikacijama serije dostupni su putem Tehničke podrške društva Cepheid.

## 6.2 Potrebni materijali koji nisu isporučeni

- GeneXpert Dx System (kataloški broj ovisi o konfiguraciji): Instrument GeneXpert, računalo, čitač crtičnih kodova i Korisnički priručnik.
- Za GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx verzija softvera 6.2 ili novija
- Pisač: Ako je potreban pisač, obratite se Tehničkoj podršci društva Cepheid da biste dogovorili kupnju preporučenog pisača.
- Vrtložna miješalica
- Mikrocentrifuga (najmanje 1000 x g)
- Pipete i vrhovi pipeta s aerosolnim filtrom
- Konusne epruvete od 50 ml
- Apsolutni etanol reagensijske čistoće

## 7 Čuvanje i rukovanje

- Čuvajte sadržaj kompleta Xpert BCR-ABL Ultra p190 na 2 – 8 °C do isteka roka valjanosti navedenog na etiketi.
- Ne otvarajte poklopac uloška dok niste spremni provesti test.
- Nemojte upotrebljavati uloške kojima je istekao rok valjanosti.
- Reagens za pranje proziran je, bezbojna tekućina. Nemojte upotrebljavati reagens za pranje ako se zamutio ili promijenio boju.
- Dvadeset (20) minuta prije početka postupka izvadite uzorak krvi, uložak i reagens za pripremu uzorka iz skladišta kako bi dosegli sobnu temperaturu (20 – 30 °C).

## 8 Upozorenja i mjere opreza

### 8.1 Općenito

- Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Sa svim biološkim uzorcima, uključujući iskorištene uloške i reagens, postupajte kao da mogu prenijeti uzročnike zaraznih bolesti. Budući da često nije moguće znati koji bi biološki uzorci mogli biti zarazni, sa svim biološkim uzorcima treba postupati primjenjujući standardne mjere opreza. Smjernice za rukovanje uzorcima dostupne su u Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti<sup>9</sup> i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde u SAD-u.<sup>10</sup>
- Slijedite sigurnosne procedure svoje ustanove za rad s kemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Karakteristike učinkovitost ovog testa utvrđene su samo pomoću krvi prikupljene u EDTA epruvete. Nije procijenjena učinkovitost ovog testa s drugim vrstama uzoraka ili uzorcima.
- Pouzdani rezultati ovise o odgovarajućem prikupljanju, prijevozu, čuvanju i obradi uzoraka. Pogrešni rezultati testa mogu se javiti zbog neodgovarajućeg prikupljanja, rukovanja ili skladištenja uzorka, tehničke pogreške, zamjene uzorka ili zbog toga što je ciljni transkript u uzorku ispod granice otkrivanja (LoD-a) testa. Da bi se izbjegli pogrešni rezultati, potrebno je pažljivo se pridržavati uputa iz ovog pakiranja i *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- Provedba testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 izvan preporučenih raspona temperature i vremena čuvanja kompleta ili uzorka može dati pogrešne ili nevažne rezultate.
- Biološki uzorci, prijenosni pribor i iskorišteni ulošci trebaju se smatrati sposobnima za prijenos uzročnika zaraznih bolesti te su potrebne standardne mjere opreza. Za pravilno odlaganje iskorištenih uložaka i neiskorištenih reagensa

slijedite postupke za upravljanje otpadom svoje ustanove. Ti materijali mogu pokazivati značajke opasnog kemijskog otpada, za što su potrebni posebni nacionalni ili regionalni postupci za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne pružaju jasne upute o pravilnom odlaganju, biološki uzorci i iskorišteni ulošci trebaju se odložiti prema smjernicama za rukovanje medicinskim otpadom i njegovo odlaganje Svjetske zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO).<sup>11</sup>

## 8.2 Uzorak

- Održavajte ispravne uvjete skladištenja tijekom prijevoza uzorka radi osiguranja cjelovitosti uzorka (pogledajte Odjeljak 10). Nije procijenjena stabilnost uzorka u nekim drugim uvjetima transporta osim onih preporučenih.
- Nemojte zamrzavati uzorke pune krvi.
- Ispravno prikupljanje uzorka, skladištenje i transport od ključne su važnosti za ispravne rezultate.


## 8.3 Test/reagens

- Nemojte zamjenjivati reagens Xpert BCR-ABL Ultra p190 drugim reagensima.
- Nemojte otvarati poklopac uloška Xpert BCR-ABL Ultra p190 osim radi dodavanja uzorka i reagensa za pranje.
- Nemojte upotrebljavati uložak koji vam je ispao nakon što ste ga izvadili iz pakiranja.
- Nemojte tresti uložak. Ako protresete uložak nakon otvaranja poklopca uloška ili vam ispadne, možete dobiti nevažne rezultate. Nemojte stavljati ID naljepnicu uzorka na poklopac uloška ili na naljepnicu s crtičnim kodom na ulošku.
- Nemojte upotrebljavati uložak s oštećenom naljepnicom s crtičnim kodom. Nemojte upotrebljavati uložak s oštećenom reakcijskom epruvetom.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 Ulošci moraju biti na sobnoj temperaturi (20 °C – 30 °C) kad se koriste za testiranje.
- Svaki uložak za jednokratnu upotrebu Xpert BCR-ABL Ultra p190 koristi se za obradu jednog testa. Nemojte ponovno upotrebljavati obrađene uloške.
- Nemojte višekratno upotrebljavati vrhove pipeta.
- Nemojte upotrebljavati uložak ako djeluje mokro ili ako vam se čini da je brtva na poklopcu potrgana.
- Nemojte upotrebljavati uložak Xpert BCR-ABL Ultra p190 ako je reagens dodan u neispravan otvor. Nemojte otvarati uloške Xpert BCR-ABL Ultra p190 nakon završetka testa.
- Odredite skup pipeta i reagensa isključivo za pripremu uzorka.
- Nosite čiste laboratorijske kute i rukavice. Promijenite rukavice između obrade svakog uzorka.
- U slučaju prolijevanja uzorka ili kontrole nosite rukavice i počistite prolivenu tekućinu upijajućim papirnatim ručnicima. Temeljito očistite i dezinficirajte sve radne površine u laboratoriju svježe pripremljenom otopinom 0,5 %-tnog natrijevog hipoklorita u destiliranoj ili deioniziranoj vodi (razrijedite razrjeđivač za kućanstva u omjeru 1:10). Konačna koncentracija aktivnog klora treba iznositi 0,5 %. Nakon što se radno područje osuši, prebrišite površinu 70 %-tnim etanolom. Slijedite preporuke proizvođača opreme za njezinu dekontaminaciju. Možete slijediti i standardne postupke svoje ustanove za slučajeve kontaminacije ili prolijevanja.
- Iskorišteni ulošci mogu sadržavati potencijalno zarazne materijale, kao i visoko amplificirane PCR ciljeve. Nemojte otvarati niti pokušavati izmijeniti bilo koji dio uloška radi odlaganja u otpad.

## 9 Kemijske opasnosti<sup>12,13</sup>

**Bilješka** Sigurnosno-tehnički listovi (SDS) dostupni su na stranici [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ili [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) pod karticom **PODRŠKA (SUPPORT)**.

**Bilješka** Informacije u nastavku odnose se na proteinazu K, reagens za lizu, pranje i ispiranje.

- Piktogram opasnosti prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija Ujedinjenih naroda (UN GHS): 
- Oznaka opasnosti: OPASNOST
- **Oznake upozorenja prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija Ujedinjenih naroda (UN GHS)**
  - Šetno ako se proguta H302
  - Lako zapaljiva tekućina i para H225
  - Uzrokuje nadraživanje kože H315

- Uzrokuje ozbiljno nadraživanje očiju H319
- Može izazvati pospanost ili vrtoglavicu H336
- Sumnja se da uzrokuje genetska oštećenja H341
- **Oznake obavijesti prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označavanja kemikalija Ujedinjenih naroda (UN GHS)**
  - **Prevenција**
    - Prije upotrebe proučite sigurnosno-tehnički list za posebne upute.
    - Nemojte upotrebljavati dok ne pročitate i shvatite sve sigurnosne mjere opreza.
    - Nosite osobnu zaštitnu opremu: rukavice, naočale, zaštitu za lice i zaštitnu odjeću.
    - Upotrebljavajte samo u prozračnim prostorima.
    - Držati podalje od topline, iskrenja, otvorenog plamena i/ili vrućih površina.
    - Izbjegavajte udisanje maglice, para ili raspršivača.
    - Nakon rukovanja proizvodom temeljito oprati ruke.
  - **Reakcija**
    - U slučaju POŽARA: upotrijebite odgovarajuće sredstvo za gašenje.
    - U SLUČAJU UDISANJA: premjestiti osobu na svježi zrak i postaviti ju u položaj koji olakšava disanje.
    - Ako se žrtva ne osjeća dobro, nazovite CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika.
    - U SLUČAJU PROLIJEVANJA: odmah skinuti svu kontaminiranu odjeću. U slučaju dodira s kožom ili kosom isprati vodom ili tuširanjem.
    - Ako dođe do NADRAŽIVANJA KOŽE: potražite savjet/liječničku pomoć.
    - U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: skinite kontaktne leće, ako ih nosite. Temeljito ispirati oči vodom nekoliko minuta. Ako nadraživanje oka ne prestaje: potražite savjet/liječničku pomoć.
    - Specifično liječenje: pogledajte dodatne mjere prve pomoći u sigurnosno-tehničkom listu.
    - U slučaju izloženosti ili razloga za zabrinutost: potražite savjet/liječničku pomoć.
  - **Skladištenje/odlaganje**
    - Čuvati u hlađenim uvjetima.
    - Držite spremnike čvrsto zatvorenima.
    - Odložite sadržaj i/ili spremnik u otpad u skladu s lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili međunarodnim propisima.

## 10 Prikupljanje, transport i čuvanje uzoraka

- Test zahtijeva prikupljanje uzoraka pune krvi u EDTA vakuumske epruvete. Uzorci se mogu čuvati do 72 sata na 2 – 8 °C prije upotrebe. Plazma se ne smije razdvajati od stanica.
- Ispravno prikupljanje, čuvanje i transport uzoraka od ključne su važnosti za funkciju testa.

## 11 Postupak

### 11.1 Prije početka

Dvadeset (20) minuta prije početka postupka izvadite uzorak krvi, reagense za pripremu uzorka i uloške iz hlađenog spremišta kako bi dostigli sobnu temperaturu. Kratko izdvojite proteinazu K (PK) centrifugiranjem u mikrocentrifugi.

---

**Važno** Prije pripreme uzorka izvadite uložak iz kartonskog pakiranja. (Pogledajte Odjeljak 11.2, Priprema uzorka.)

---

**Važno** Pokrenite test na instrumentu GeneXpert Dx u roku od sat vremena od dodavanja pripremljenog uzorka u uložak.

---



## 11.2 Priprema uzorka

### 11.2.1 Priprema uzorka s nepoznatim brojem leukocita ili uzoraka s manje od 30 milijuna leukocita/ml

1. Na dno nove konusne epruvete od 50 ml dodajte 100 µl proizvoda PK (proteinaza K).
2. Pobrinite se da se uzorak krvi dobro promiješa preokretanjem epruvete za prikupljanje krvi 8 puta neposredno prije pipetiranja. Pogledajte upute proizvođača za epruvetu za prikupljanje EDTA krvi.
3. U epruvetu koja već sadržava proteinazu K dodajte 4 ml uzorka krvi.
4. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 3 sekunde na najvećoj postavci.
5. Inkubirajte 1 minutu na sobnoj temperaturi.
6. U istu epruvetu dodajte 2,5 ml reagensa za lizu (LY).

**Bilješka** Sačuvajte preostali reagens za lizu za ponovnu upotrebu u koraku 13.

7. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 10 sekundi na najvećoj postavci.
8. Inkubirajte 5 minuta na sobnoj temperaturi.
9. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 10 sekundi na najvećoj postavci.
10. Inkubirajte 5 minuta na sobnoj temperaturi.
11. Promiješajte uzorak tako da deset puta lupnete dnom epruvete.
12. Prenesite 1 ml pripremljenog lizata u novu konusnu epruvetu od 50 ml.

**Bilješka** Preostali lizat može se upotrijebiti za ponovno testiranje. Čuvajte preostali lizat na 2 – 8 °C do 4 sata ili na temperaturi od – 20 °C ili nižoj do 24 tjedna.

13. U novu konusnu epruvetu koja sadržava lizat dodajte 1,5 ml sačuvanog reagensa za lizu (LY) iz koraka 6.
14. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 10 sekundi na najvećoj postavci.
15. Inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi.
16. U istu konusnu epruvetu dodajte 2 ml apsolutnog etanola reagensijske čistoće (koji osigurava korisnik).
17. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 10 sekundi na najvećoj postavci. Stavite sa strane.
18. Odložite u otpad preostale reagense za PK ili LY.

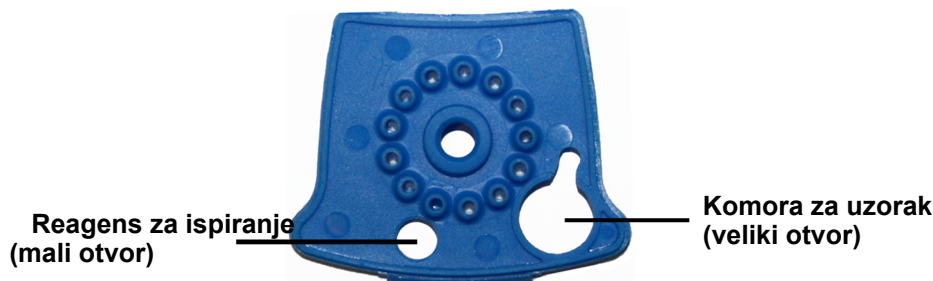
### 11.2.2 Priprema uzorka s brojem leukocita većim od 30 milijuna stanica/ml

1. Na dno nove konusne epruvete od 50 ml dodajte 100 µl proizvoda PK (proteinaza K).
2. Pobrinite se da se uzorak krvi dobro promiješa preokretanjem epruvete za prikupljanje krvi 8 puta neposredno prije pipetiranja. Pogledajte upute proizvođača za epruvetu za prikupljanje EDTA krvi.
3. U epruvetu koja već sadržava proteinazu K dodajte 50 µl uzorka krvi.
4. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 3 sekunde na najvećoj postavci.
5. Inkubirajte 1 minutu na sobnoj temperaturi.
6. U istu epruvetu dodajte 2,5 ml reagensa za lizu (LY).
7. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 10 sekundi na najvećoj postavci.
8. Inkubirajte 5 minuta na sobnoj temperaturi.
9. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 10 sekundi na najvećoj postavci.
10. Inkubirajte 5 minuta na sobnoj temperaturi.
11. U istu konusnu epruvetu dodajte 2 ml apsolutnog etanola reagensijske čistoće (koji osigurava korisnik).
12. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 10 sekundi na najvećoj postavci. Stavite sa strane.
13. Odložite u otpad preostale reagense za PK ili LY.

### 11.3 Priprema uložka

Da biste dodali uzorak u uložak Xpert BCR-ABL Ultra p190:

1. izvadite uložak iz kartonskog pakiranja.
2. Provjerite ima li na ulošku oštećenja. Nemojte ga upotrebljavati ako je oštećen.
3. Podignite poklopac uložka i prenesite cjelokupan sadržaj ampule s reagensom za pranje (1) u komoru za reagens za pranje (mali otvor). Pogledajte Slika 1.
4. Pipetirajte cjelokupan sadržaj pripremljenog uzorka u komoru za uzorak (veliki otvor). Pogledajte Slika 1.



Slika 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Uložak (pogled odozgo)

5. Zatvorite poklopac uložka. Pobrinite se da poklopac dobro škljocne na svoje mjesto. Pokrenite test (pogledajte Odjeljak 11.4, Pokretanje testa).

### 11.4 Pokretanje testa

Ovaj odjeljak navodi osnovne korake pokretanja testa. Za detaljne upute pogledajte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

**Važno** Prije nego što pokrenete test, provjerite da instrument radi s verzijom softvera GeneXpert Dx 6.2 ili novijom te da je u softver uvezena ispravna datoteka definicije analize (ADF).

**Bilješka** Koraci koje je potrebno slijediti mogu se razlikovati ako je administrator sustava promijenio zadani tijekom rada sustava.

1. Uključite instrument GeneXpert:
 

Ako upotrebljavate instrument GeneXpert Dx, prvo uključite instrument GeneXpert Dx, a zatim uključite računalo. Softver GeneXpert automatski će se pokrenuti. U suprotnom, dvaput kliknite na ikonu prečaca za softver GeneXpert Dx na radnoj površini sustava Windows®.
2. Prijavite se u softver sustava instrumenta GeneXpert svojim korisničkim imenom i lozinkom.
3. U prozoru **sustava GeneXpert** kliknite na **Izradi test (Create Test)** (GeneXpert Dx). Otvorit će se prozor **Izradi test (Create Test)**. Pojavljuje se dijaloški okvir **Očitajte crtični kod s ID oznakom bolesnika (Scan Patient ID barcode)**.
4. Očitajte ili upišite ID bolesnika (Patient ID). Ako upisujete ID bolesnika (Patient ID), pripazite da ga točno upišete. ID bolesnika povezan je s rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i svim izvješćima. Pojavljuje se dijaloški okvir **Očitajte crtični kod s ID oznakom uzorka (Scan Sample ID barcode)**.
5. Očitajte ili upišite ID uzorka. Ako upisujete ID uzorka (Sample ID), pripazite da ga točno upišete. ID uzorka povezan je s rezultatom testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** te u svim izvješćima. Pojavljuje se dijaloški okvir **Očitajte crtični kod uložka (Scan Cartridge barcode)**.
6. Očitajte crtični kod na ulošku. Pomoću informacija na crtičnom kodu softver će automatski ispuniti okvire za sljedeća polja: Odaberi test (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), Serijski broj uložka (Cartridge SN) i Rok valjanosti (Expiration Date).

**Bilješka** Ako nije moguće skenirati crtični kod uložka testa, ponovite test s novim uloškom. Ako ste očitali crtični kod uložka u softveru, a datoteka definicije analize (ADF) nije dostupna, pojavit će se zaslon koji označava da datoteka definicije analize (ADF) nije učitana u sustav. Ako se pojavi taj zaslon, obratite se Tehničkoj podršci društva Cepheid.

7. Kliknite na **Pokreni test (Start Test)**. U dijaloškom okviru koji se pojavi upišite svoju lozinku, prema potrebi.
8. Otvorite vrata modula instrumenta dok trepti zeleno svjetlo i postavite uložak.
9. Zatvorite vrata. Test se pokreće, a zeleno svjetlo prestaje treperiti. Kad test završi, svjetlo se gasi.
10. Prije nego što otvorite vrata modula, pričekajte da sustav otključa vrata. Zatim izvadite uložak.

11. Odložite iskorištene uloške u odgovarajuće spremnike za otpad od uzoraka u skladu sa standardnim praksama vaše ustanove.

## 12 Prikaz i ispis rezultata

Ovaj odsječak navodi osnovne korake za prikaz i ispis rezultata. Detaljnije upute o prikazu i ispisu rezultata potražite u *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Za prikaz rezultata kliknite ikonu **Prikaz rezultata (View Results)**.
2. Nakon završetka testa kliknite gumb **Izvešće (Report)** u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** za prikaz i/ili izradu PDF datoteke s izvješćem.

## 13 Kontrola kvalitete

Svaki test uključuje endogenu kontrolu (ABL) i kontrolu provjere sonde (PCC).

**Endogena kontrola za ABL** – endogena kontrola za ABL potvrđuje da je u testu upotrijebljena dovoljna količina uzorka. Uz to, ta kontrola otkriva inhibiciju testa PCR u stvarnom vremenu koja se povezuje s uzorkom. ABL zadovoljava ako ispunjava dodijeljene kriterije za prihvaćanje.

**Kontrola provjere sonde (PCC)** – prije početka reakcije PCR sustav GeneXpert mjeri fluorescentni signal iz sonde s ciljem praćenja rehidracije kuglica, punjenja reakcijske epruvete te provjere jesu li sve komponente reakcije funkcionalne u ulošku. PCC zadovoljava ako ispunjava dodijeljene kriterije za prihvaćanje.

## 14 Tumačenje rezultata

Kvantitativni izlazni podaci testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 navedeni su kao postotni omjer transkripta BCR-ABL1 p190/ABL1. Primjeri mogućih rezultata i tumačenja predstavljani su u Tablica 1.

Tablica 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Mogući rezultati i tumačenje

Provjera sonde*	Ct* za ABL	Ct* za e1a2	Xpert BCR-ABL Ultra p190 Rezultat testa	Bilješke	
ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	POZ	BCR-ABL p190 OTKRIVEN [##,## %] (BCR-ABL p190 DETECTED [##,##%])	Vrijednost izračunatog postotnog omjera je prijavljena. Pogledajte Slika 2.	
			BCR-ABL p190 OTKRIVEN [ispod LoD-a; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])	Izračunati postotni omjer je ispod granice otkrivanja i nije prijavljen. Pogledajte Slika 3.	
			BCR-ABL p190 OTKRIVEN [iznad gornjeg LoQ-a] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])	Izračunata postotna vrijednost je iznad granice kvantifikacije i nije prijavljena. Pogledajte Slika 4.	
	NEUSPJEŠAN (FAIL)	POZ, NEG ili NEVAŽEĆI (INVALID)	NEG	BCR-ABL p190 NIJE OTKRIVEN [dovoljno transkripta za ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])	Ct za e1a2 je nula ili je iznad praga prihvatanja. Pogledajte Slika 5.
			NEVAŽEĆI (INVALID)	NEVAŽEĆI [previsok transkript BCR-ABL p190] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])	Ct za e1a2 je ispod praga prihvatanja.
			NEVAŽEĆI [nema transkripta za ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])	Ct vrijednost za ABL je nula. Nije otkriven ABL. Pogledajte Slika 6.	
NEUSPJEŠAN (FAIL)	NEVAŽEĆI (INVALID)	NEVAŽEĆI [nedovoljno transkripta za ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Ct za ABL je iznad praga prihvatanja. Pogledajte Slika 7.		
		NEVAŽEĆI [previsok transkript za ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])	Ct za ABL je ispod praga prihvatanja.		
		NEVAŽEĆI [previsoki transkripti BCR-ABL p190 i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])	Ct vrijednosti za e1a2 i ABL Ct su ispod pragova prihvatanja. Pogledajte Slika 8.		
NEUSPJEŠAN (FAIL)	ZADOVOLJAVA ili NE ZADOVOLJAVA	POZ, NEG ili NEVAŽEĆI (INVALID)	POGREŠKA (ERROR)	Kontrola provjere sonde nije ispunila kriterije za prihvatanje. Pogledajte Slika 9.	
* Pogledajte karticu Rezultati analita u softveru sustava GeneXpert Dx za pojedinosti					

### Bilješka

Sustavi GeneXpert automatski izračunavaju rezultate na temelju vrijednosti *praga ciklusa* (Ct) koje je izradio test te parametara specifičnih za seriju koji se dodjeljuju tijekom proizvodnje. Softver primjenjuje sljedeći algoritam, pri čemu se vrijednost  $\Delta Ct$  (Delta Ct) dobiva iz Ct-a za ABL minus Ct-a za BCR-ABL p190, a učinkovitost ( $E$ ) i faktor razmjera ( $SF$ ) su vrijednosti specifične za seriju:

Postotni omjer = učinkovitost( $\Delta Ct$ ) x faktor razmjera x 100

**Bilješka**

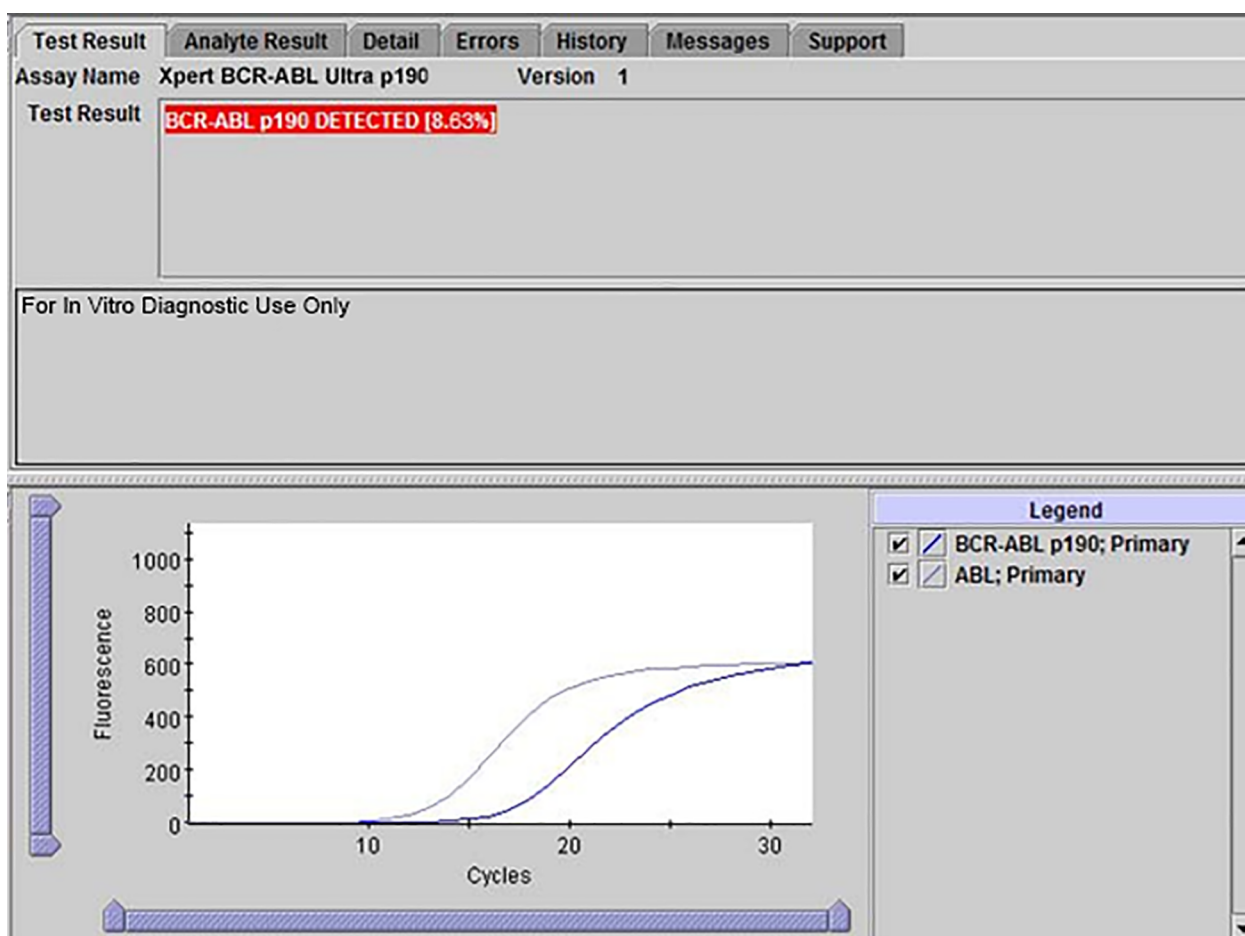
Vrijednosti učinkovitosti i faktora razmjera kalibriraju kvantifikaciju transkripata BCR-ABL1 p190 (e1a2) i ABL1 radi kopiranja brojeva *in vitro* transkribiranih primarnih standarda RNK (IVT-RNK) sintetskog RNK za BCR-ABL p190 i ABL1. Vrijednosti učinkovitosti i faktora razmjera ugrađene su u kritični kod svakog uložka. Tehnički listovi sa specifikacijama serije dostupni su putem Tehničke podrške društva Cepheid.

### 14.1 BCR-ABL p190 OTKRIVEN [#,#] % (BCR-ABL p190 DETECTED [#.#]%)

Za rezultat „BCR-ABL p190 OTKRIVEN [#,#] % (BCR-ABL p190 DETECTED [#.#]%)” BCR-ABL p190 može se otkriti uz Ct za BCR-ABL p190 veći ili jednak „8” te manji ili jednak graničnoj vrijednosti „32” te Ct za ABL veći ili jednak „8” te manji ili jednak „18”.

**Primjer:** Ct za ABL = 11,4; Ct za BCR-ABL p190 = 15,6 ;  $\Delta Ct = -4,2$   
 $E_{\Delta Ct}$  specifičan za seriju = 2,05;  $SF = 1,76$   
 Postotni omjer =  $2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63 \%$

**Rezultat:** **BCR,-ABL p190 OTKRIVEN [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])**. Pogledajte Slika 2.



**Slika 2. GeneXpert DxProzor Prikaz rezultata (View Results): BCR-ABL p190 OTKRIVEN [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])**

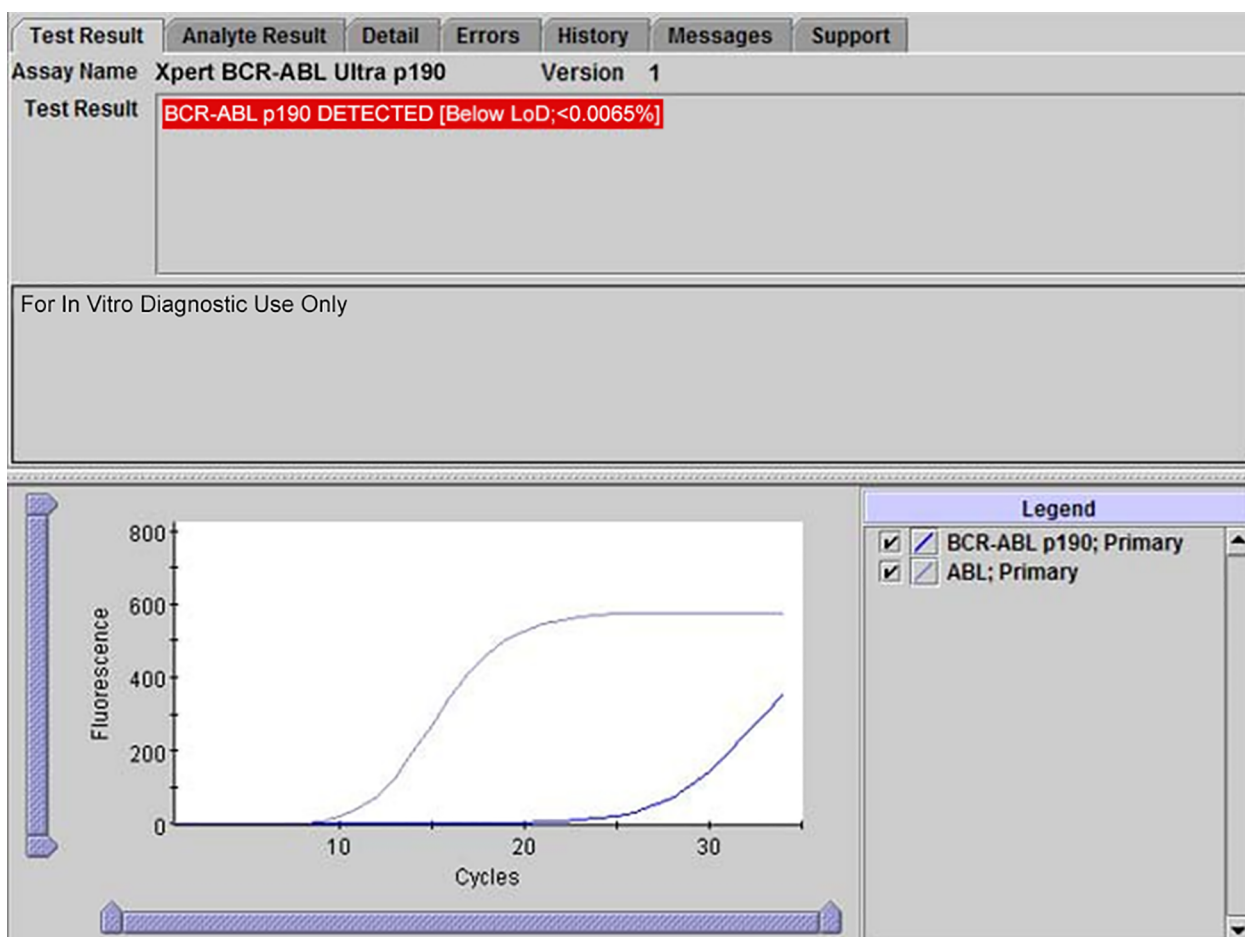
## 14.2 BCR-ABL p190 OTKRIVEN [ispod LoD-a; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

BCR-ABL p190 je otkriven na razini < 0,0065 %.

Za rezultat „**BCR-ABL p190 OTKRIVEN [ispod LoD-a; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**” BCR-ABL p190 može se otkriti uz Ct za BCR-ABL p190 veći ili jednak „8” te manji ili jednak graničnoj vrijednosti „32” te Ct za ABL veći ili jednak „8” i manji ili jednak „18”.

**Primjer:** Ct za ABL = 10,1; Ct za BCR-ABL p190 = 24,8;  $\Delta Ct = -14,8$   
 $E_{\Delta Ct}$  specifičan za seriju = 2,05; SF = 1,76  
 Postotni omjer =  $2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044 \%$  je manji od definiranog LoD-a testa pri 0,0065 %

**Rezultat:** **BCR-ABL p190 OTKRIVEN [ispod LoD-a; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**. Pogledajte Slika 3.



Slika 3. Prozor Prikaz rezultata (View Results) u GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 OTKRIVEN [ispod LoD-a; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

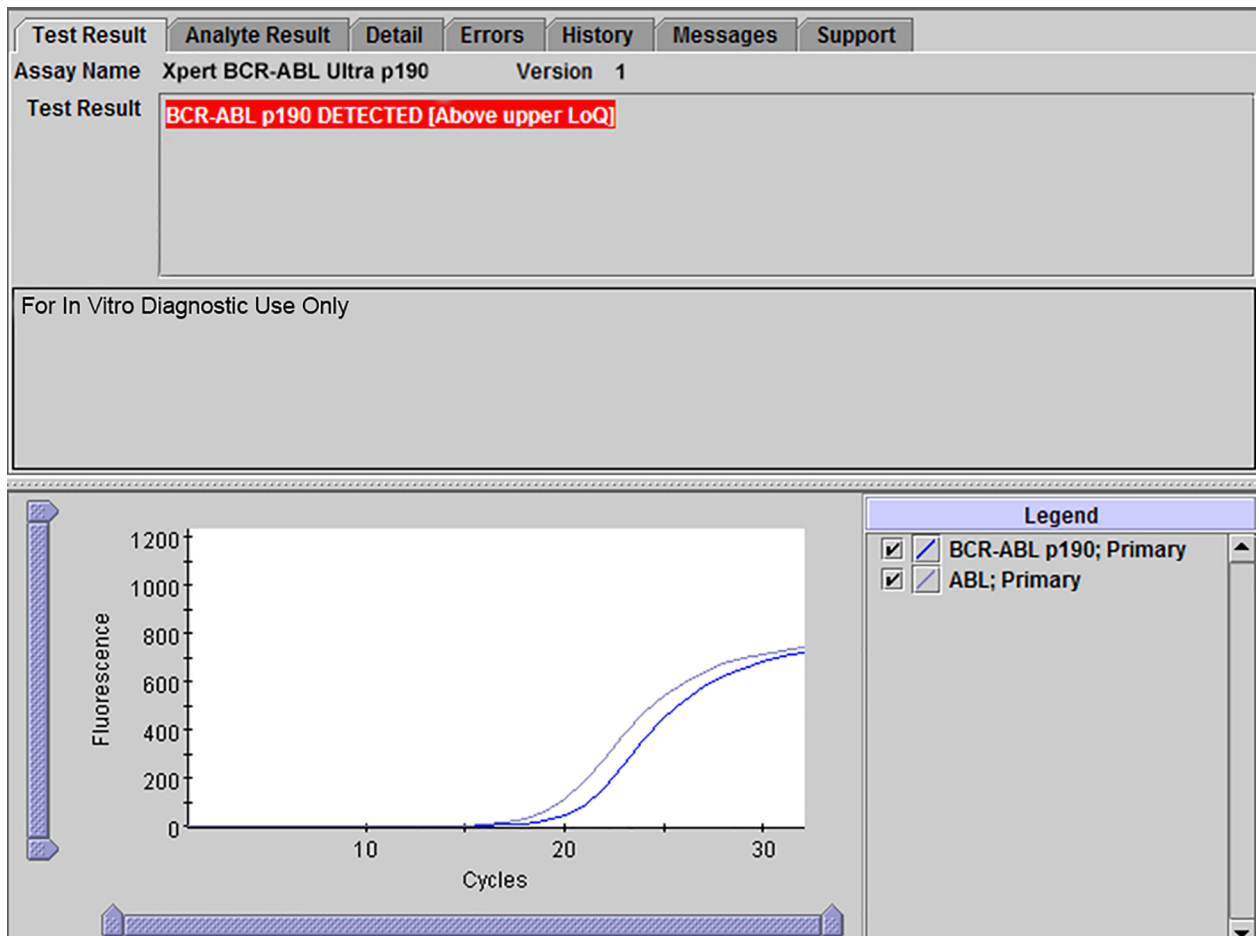
### 14.3 BCR-ABL p190 OTKRIVEN [iznad gornjeg LoQ-a] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

BCR-ABL p190 je otkriven na razini > 25 %.

Za rezultat „**BCR-ABL p190 OTKRIVEN [iznad gornjeg LoQ-a] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**” BCR-ABL p190 može se otkriti uz Ct za BCR-ABL p190 veći ili jednak „8” te manji ili jednak graničnoj vrijednosti „32” te Ct za ABL veći ili jednak „8” te manji ili jednak „18”.

**Primjer:** Ct za ABL = 17,2; BCR-ABL p190 Ct = 18,7;  $\Delta Ct = -1,6$   
 $E_{\Delta Ct}$  specifičan za seriju = 2,05; SF = 1,76  
 Postotni omjer =  $2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6$  % veći je od definiranog gornjeg LoQ-a testa pri 25 %

**Rezultat:** **BCR-ABL p190 OTKRIVEN [iznad gornjeg LoQ-a] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**. Pogledajte Sliku 4.



Slika 4. Prozor Prikaz rezultata (View Results) u GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 OTKRIVEN [iznad gornjeg LoQ-a] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

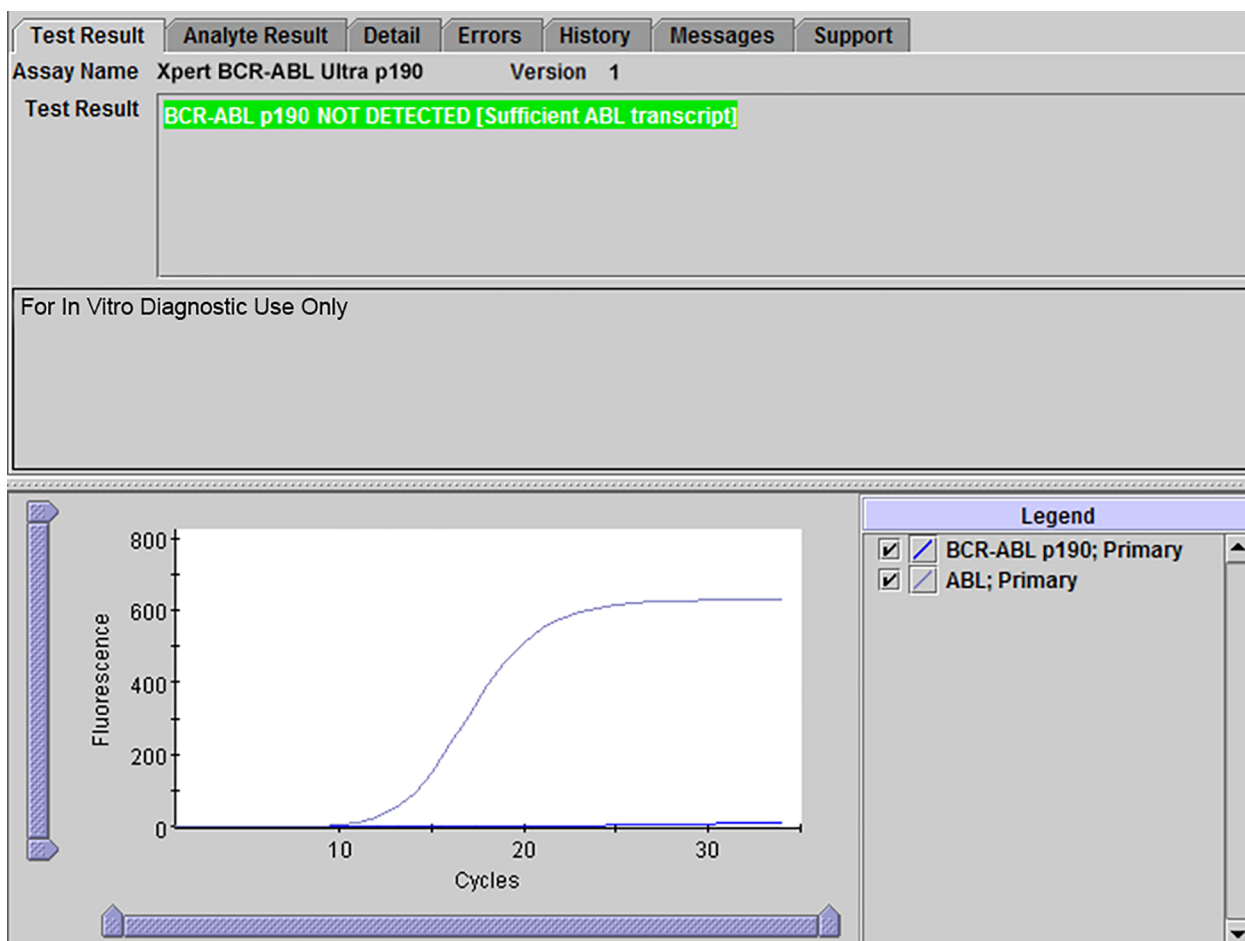
## 14.4 BCR-ABL p190 NIJE OTKRIVEN [dovoljno transkripta za ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 nije otkriven uz Ct za BCR-ABL p190 jednak „0” ili veći od granične vrijednosti „32” te Ct za ABL veći od „8” te manji ili jednak „18”.

Kad se BCR-ABL p190 ne može otkriti uz Ct za BCR-ABL p190 jednak „0” ili veći od granične vrijednosti „32”, softver GeneXpert prvo traži Ct za ABL kako bi potvrdio da je Ct za ABL veći ili jednak „8” te manji ili jednak „18” kako bi se osiguralo „dovoljno transkripta za ABL (Sufficient ABL transcript)”. Pogledajte Tablica 2.

**Primjer:** Ct za BCR-ABL p190 = 0; Ct za ABL = 11,6 je manji od „18”.

**Rezultat:** **BCR-ABL p190 NIJE OTKRIVEN [dovoljno transkripta za ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Pogledajte Slika 5.



Slika 5. Prozor Prikaz rezultata (View Results) u GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 NIJE OTKRIVEN [dovoljno transkripta za ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])



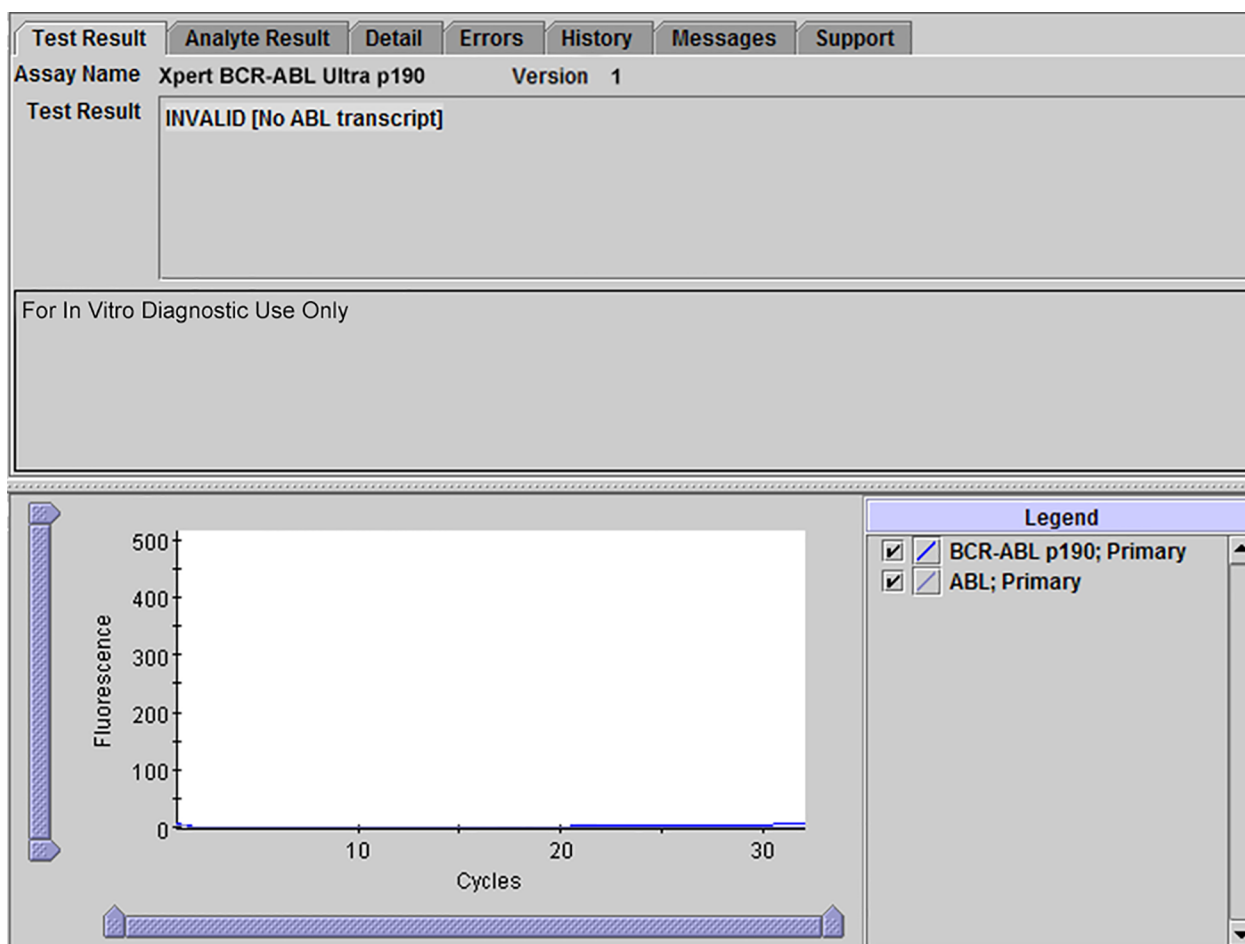
## 14.5 NEVAŽEĆI [nema transkripta za ABL] (INVALID [No ABL transcript])

BCR-ABL p190 nije otkriven uz Ct za ABL jednak „0”.

Kada se BCR-ABL p190 otkrije ili se ne otkrije, softver GeneXpert prvo traži Ct za ABL kako bi potvrdio je li Ct za ABL manji ili jednak „18” kako bi osigurao „dovoljno transkripta za ABL (Sufficient ABL transcript)”. Proučite Odjeljak 16, Vodič za otklanjanje poteškoća.

**Primjer:** Ct za BCR-ABL p190 = 0; Ct za ABL = 0.

**Rezultat:** **NEVAŽEĆI [nema transkripta za ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Pogledajte Slika 6.



Slika 6. Prozor Prikaz rezultata (View Results) u GeneXpert Dx:  
NEVAŽEĆI [nema transkripta za ABL] (INVALID [No ABL transcript])

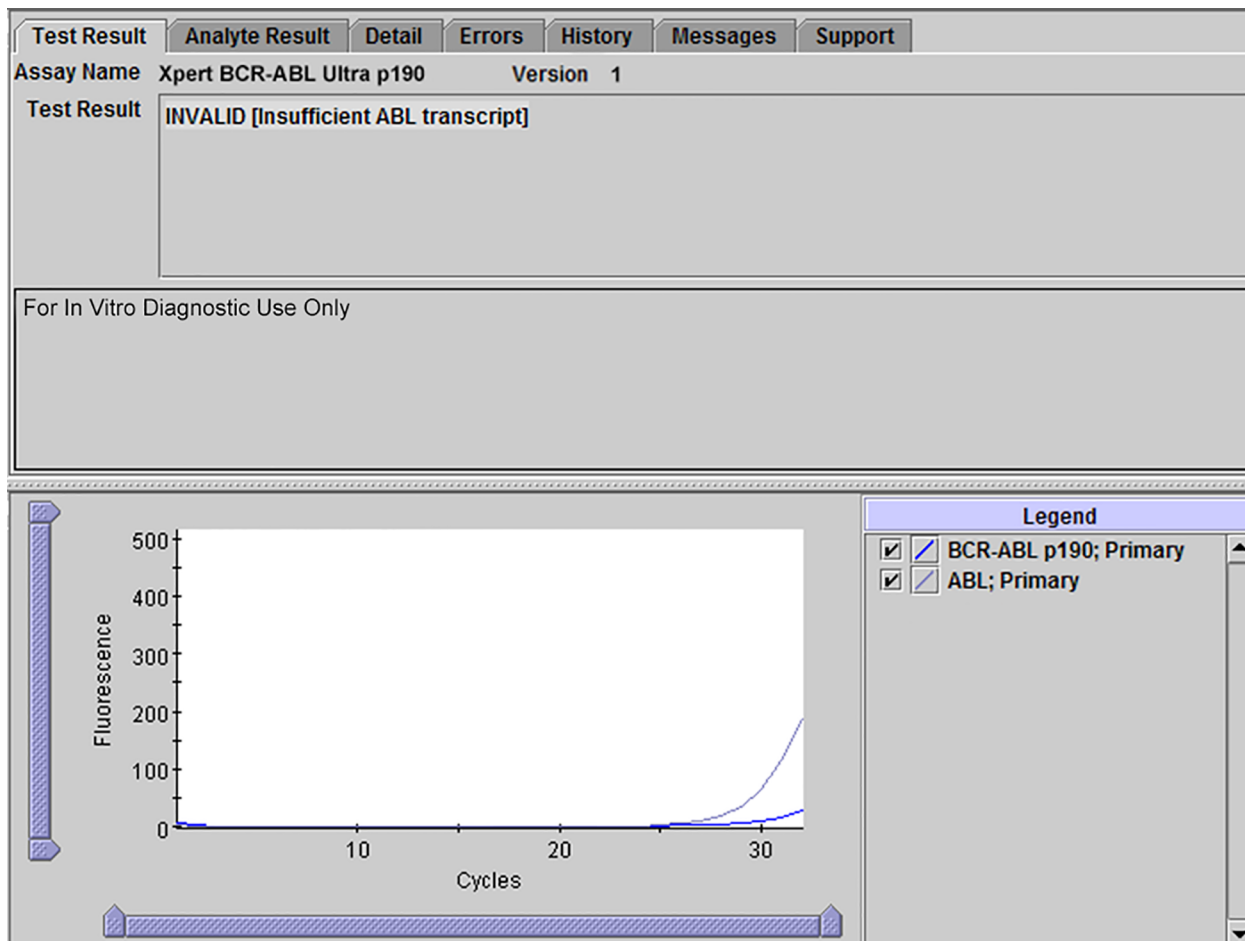
## 14.6 NEVAŽEĆI [nedovoljno transkripta za ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 nije otkriven uz Ct za ABL veći od „18”.

Kada se BCR-ABL p190 otkrije ili se ne otkrije, softver GeneXpert prvo traži Ct za ABL kako bi potvrdio je li Ct za ABL manji ili jednak „18” kako bi osigurao „dovoljno transkripta za ABL (Sufficient ABL transcript)”. Proučite Odjeljak 16, Vodič za otklanjanje poteškoća.

**Primjer:** Ct za BCR-ABL p190 = 31,2; Ct za ABL = 28 je veći od „18”.

**Rezultat:** **NEVAŽEĆI [nedovoljno transkripta za ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).**  
Pogledajte Slika 7.



Slika 7. Prozor Prikaz rezultata (View Results) u GeneXpert Dx: NEVAŽEĆI [nedovoljno transkripta za ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

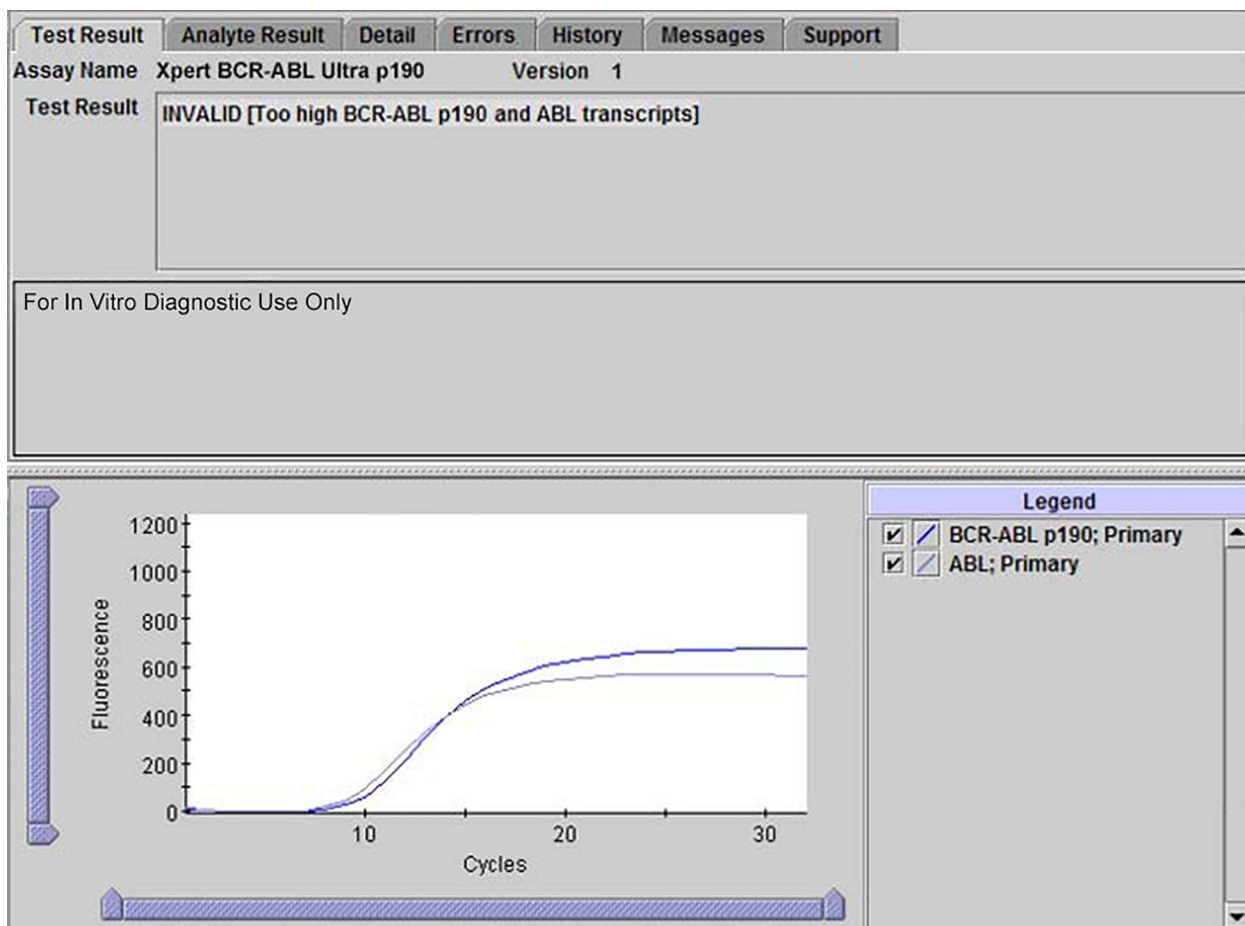
## 14.7 NEVAŽEĆI [previsoki transkripti BCR-ABL p190 i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

BCR-ABL p190 je otkriven uz Ct-ove za BCR-ABL p190 i ABL manje od „8”.

Kada se BCR-ABL p190 otkrije ili se ne otkrije, softver GeneXpert prvo traži Ct za ABL kako bi potvrdio je li Ct za ABL manji ili jednak „18” kako bi osigurao „dovoljno transkripta za ABL (Sufficient ABL transcript)”. Proučite Odjeljak 16, Vodič za otklanjanje poteškoća.

**Primjer:** Ct za BCR-ABL p190 = 7,9; Ct za ABL = 7,6 je manji od „8”.

**Rezultat:** **NEVAŽEĆI [previsoki transkripti BCR-ABL p190 i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])**. Pogledajte Slika 8.



Slika 8. Prozor Prikaz rezultata (View Results) u GeneXpert Dx: NEVAŽEĆI [previsoki transkripti BCR-ABL p190 i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

## 14.8 POGREŠKA (ERROR)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Messages	Support
Assay Name	Xpert BCR-ABL Ultra p190		Version 1			
Test Result	<b>ERROR</b>					
For In Vitro Diagnostic Use Only						
<No Data Available>						

Slika 9. Prozor Prikaz rezultata (View Results) u GeneXpert Dx: POGREŠKA (ERROR)

## 15 Ograničenja

- Proizvod je namijenjen samo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Test nije namijenjen za upotrebu s vanjskim kalibratorima.
- Test nije namijenjen za određivanje prekida liječenja inhibitorima TKI niti za nadzor nakon prekida.
- Učinkovitost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 potvrđena je pomoću procedura isporučenih samo u ovim uputama za upotrebu. Izmjene ovih procedura mogu izmijeniti učinkovitost testa.
- Ovaj je proizvod potvrđen za prikupljanje krvi u EDTA epruvete.
- Nemojte upotrebljavati heparin kao antikoagulans jer može inhibirati reakciju PCR.
- Nisu potvrđeni natrijev citrat (Na citrat), puferski sloj i vrste uzoraka s koštanom srži.
- Pogrešni rezultati testa mogu se javiti zbog neodgovarajućeg prikupljanja uzorka, rukovanja uzorkom i njegova skladištenja ili miješanja uzoraka. Potrebno je strogo se pridržavati Uputa za upotrebu da bi se izbjegli pogrešni rezultati.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 osmišljen je samo za otkrivanje fuzijskog transkripta p190 BCR-ABL e1a2. Sposobnost otkrivanja drugih fuzijskih transkripata nije procijenjena izvan onih opisanih u ovim uputama za upotrebu. Test ne otkriva velike ili mikro granične vrijednosti, mikrobrisanja ili mutacije.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 nije predviđen za otkrivanje transkripata e13a2/b2a2 i e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) ili ostalih manjih translokacija koje mogu biti prisutne u uzorku periferne krvi bolesnika s leukemijom.
- Neki uzorci s vrlo visokim brojem leukocita (više od 30 milijuna stanica/ml), Xpert BCR-ABL Ultra p190 mogu prijaviti rezultate **NEVAŽEĆI (INVALID)** (tip 2) zbog previsokih razina transkripta BCR-ABL p190 ili ABL u uzorku. Pogledajte Tablica 2 za dodatne informacije.
- Neki uzorci s vrlo niskim razinama transkripta za ABL ili s brojem leukocita manjim od 150 000 stanica/ml mogu se prijaviti kao **NEVAŽEĆI (INVALID)** (tip 1). Neodređeni rezultat ne isključuje prisutnost vrlo niskih razina stanica leukemije kod bolesnika.
- Transkript CML p230 s mikro graničnom vrijednosti za e19a2 može prijaviti pozitivan rezultat za BCR-ABL ispod LoD-a testa (0,0065 %) kada se testira pri visokim ciljnim razinama (> 3,52 logaritama iznad LoD-a).

- Mutacije ili polimorfizmi u regijama vezivanja početnice ili sonde mogu utjecati na otkrivanje novih ili nepoznatih varijanti te dovesti do lažno negativnog rezultata.
- Neki bolesnici s vrlo niskim razinama transkripta BCR-ABL1 (tj., ispod LoD-a 0,0065 %) mogu se prijaviti kao **BCR-ABL p190 NIJE OTKRIVEN [dovoljno transkripta za ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Stoga neotkriveni rezultat ne isključuje prisutnost niskih razina stanica leukemije kod bolesnika.
- Test je potvrđen za upotrebu na sustavu GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

## 16 Vodič za otklanjanje poteškoća

Tablica 2. Vodič za otklanjanje poteškoća

Rezultat testa	Mogući uzroci	Prijedlozi
<b>NEVAŽEĆI (INVALID)</b>	Tip 1: Kvar endogene kontrole ABL: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Loša kvaliteta uzorka</li> <li>• Inhibicija reakcije RT-PCR</li> <li>• Ako je Ct za ABL &gt; 18, i/ili krajnja točka &lt; 200</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Provjerite kvalitetu uzorka (npr. premašen zahtjev za čuvanje uzorka, uključujući vrijeme i temperaturu).</li> <li>• Ponovite test s izvornim uzorkom (ako je dostupan) ili iz sačuvanog lizata i s novim uloškom pridržavajući se postupka opisanog u odjeljku Odjeljak 17.1, Postupak ponovnog testiranja za rezultate POGREŠKA (ERROR) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 1).</li> </ul>
	Tip 2: Razina transkripta BCR-ABL ne može se odrediti jer uzorak sadržava previše transkripta BCR-ABL p190 i/ili ABL (Ct < 8)	Ponovite test s izvornim uzorkom (ako je dostupan) ili iz sačuvanog lizata i s novim uloškom pridržavajući se postupka opisanog u odjeljku Odjeljak 17.2, Postupak ponovnog testiranja za rezultate POGREŠKA (ERROR) (šifra 2008) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 2).
<b>POGREŠKA (ERROR) (šifra 2008)</b>	Premašeno ograničenje tlaka (poruka o pogrešci 2008)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Provjerite kvalitetu uzorka</li> <li>• Provjerite je li broj leukocita izrazito povišen</li> <li>• Ponovite test s izvornim uzorkom (ako je dostupan) ili iz sačuvanog lizata i s novim uloškom pridržavajući se postupka opisanog u odjeljku Odjeljak 17.2, Postupak ponovnog testiranja za rezultate POGREŠKA (ERROR) (šifra 2008) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 2).</li> </ul>
<b>POGREŠKA (ERROR) (šifra 5006, 5007, 5008 i 5009)<sup>a</sup></b>	Kvar provjere sonde	Ponovite test s izvornim uzorkom (ako je dostupan) ili iz sačuvanog lizata i s novim uloškom pridržavajući se postupka opisanog u odjeljku Odjeljak 17.1, Postupak ponovnog testiranja za rezultate POGREŠKA (ERROR) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 1).
<b>NEMA REZULTATA (NO RESULT)</b>	Neuspješno prikupljanje podataka. Na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku ili je došlo do nestanka napajanja.	Ponovite test s izvornim uzorkom (ako je dostupan) ili iz sačuvanog lizata i s novim uloškom pridržavajući se postupka opisanog u odjeljku Odjeljak 17.1, Postupak ponovnog testiranja za rezultate POGREŠKA (ERROR) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 1).

<sup>a</sup> Ovo nije cjelokupan popis šifri POGREŠKA (ERROR).

## 17 Ponovno testiranje

### 17.1 Postupak ponovnog testiranja za rezultate POGREŠKA (ERROR) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 1)

Ponovno testirajte uzorke s rezultatima **POGREŠKA (ERROR)** ili **NEVAŽEĆI (INVALID)** jer je prag ciklusa (Ct) za ABL premašio maksimalnu važeću graničnu vrijednost Ct-a (Ct > 18) ili je krajnja točka ispod postavke praga (< 200). Proučite i Tablica 2.

1. Izmjerite volumen uzorka krvi:

- ako je dostupno *dovoljno* volumena uzorka krvi, provedite ponovno testiranje iz izvorne epruvete za prikupljanje uzorka krvi pridržavajući se postupka navedenog u Odjeljak 11.2.1.
- ILI-
- Ako volumen uzorka krvi *nije dovoljan*, može se provesti ponovno testiranje sa sačuvanim lizatom iz koraka 12 Odjeljak 11.2.1.
  - a. Ako se sačuvani lizat iz koraka 12 Odjeljak 11.2.1 čuva zamrznut, odmrznite ga na sobnu temperaturu prije upotrebe.
  - b. Osigurajte dobro miješanje lizata kontinuiranim miješanjem uzorka u vrtložnoj miješalici na najvišoj postavci 10 sekundi i ostavite ga sa strane 3 minute da se mjehurići slegnu. Prijedite na 2. korak.
- 2. Prenesite 1 ml sačuvanog lizata u novu konusnu epruvetu od 50 ml.
- 3. U novu konusnu epruvetu koja sadržava lizat dodajte 1,5 ml reagensa za lizu (LY).
- 4. Slijedite korake 14 – 17 u Odjeljak 11.2.1 kako biste proizveli konačni lizat.
- 5. Otvorite uložak podizanjem poklopca uloška i prenesite cjelokupan sadržaj ampule reagensa za pranje (1) u komoru s reagensom za pranje (sa malim otvorom). Pogledajte Slika 1.
- 6. Pipetirajte cjelokupan sadržaj pripremljenog uzorka u komoru za uzorak (veliki otvor). Pogledajte Slika 1.
- 7. Zatvorite poklopac uloška. Pokrenite test (pogledajte Odjeljak 11.4).

### 17.2 Postupak ponovnog testiranja za rezultate POGREŠKA (ERROR) (šifra 2008) ili NEVAŽEĆI (INVALID) (tip 2)

Ponovno testirajte uzorke s razinama transkripta BCR-ABL i/ili ABL ispod važeće najmanje granične vrijednosti Ct-a (Ct < 8) i/ili ako je premašeno ograničenje tlaka. Proučite i Tablica 2.

1. Na dno nove konusne epruvete od 50 ml dodajte 100 µl proizvoda PK (proteinaza K).

2. Izmjerite volumen uzorka krvi:

- Ako je dostupno *dovoljno* volumena uzorka krvi, provedite ponovno testiranje iz izvorne epruvete za prikupljanje uzorka krvi. Pobrinite se da se uzorak krvi dobro promiješa preokretanjem epruvete za prikupljanje krvi 8 puta neposredno prije pipetiranja. Prijedite na 3. korak.
- ILI-
- Ako volumen uzorka krvi *nije dovoljan*, može se provesti ponovno testiranje iz sačuvanog lizata iz koraka 12 Odjeljak 11.2.1.
  - a. Ako se sačuvani lizat iz koraka 12 Odjeljak 11.2.1 čuva zamrznut, odmrznite ga na sobnu temperaturu prije upotrebe. Ako se koristi lizat iz hladnjaka, pustite da postigne sobnu temperaturu prije upotrebe.
  - b. Osigurajte dobro miješanje lizata kontinuiranim miješanjem uzorka u vrtložnoj miješalici na najvišoj postavci 10 sekundi i ostavite ga sa strane 3 minute da se mjehurići slegnu. Prijedite na 3. korak.
- 3. U epruvetu koja već sadržava proteinazu K dodajte 50 µl izvornog uzorka krvi, ako je dostupan, ili 80 µl preostalog lizata iz koraka 12 Odjeljak 11.2.1.
- 4. Kontinuirano miješajte uzorak u vrtložnoj miješalici 3 sekunde na najvećoj postavci.
- 5. Inkubirajte 1 minutu na sobnoj temperaturi.
- 6. Slijedite korake 6 – 13 u Odjeljak 11.2.2 kako biste proizveli konačni lizat.
- 7. Otvorite uložak podizanjem poklopca uloška i prenesite cjelokupan sadržaj ampule reagensa za pranje (1) u komoru s reagensom za pranje (sa malim otvorom). Pogledajte Slika 1.
- 8. Pipetirajte cjelokupan sadržaj pripremljenog uzorka u komoru za uzorak (veliki otvor). Pogledajte Slika 1.
- 9. Zatvorite poklopac uloška. Pokrenite test (pogledajte Odjeljak 11.4).

## 18 Očekivane vrijednosti

Raspon testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 obuhvaća ključne točke kliničke odluke za nadzor CML-a i ALL-a. Očekivane vrijednosti izražavaju se kao postotni omjer mRNK transkripta BCR-ABL p190 (e1a2) i mRNK ABL-a te se kreću u rasponu od 0,0065 % do 25 %. Mjerenja ispod tog raspona prijavljuju se kao neotkrivena ili ispod granice otkrivanja (LoD-a). Mjerenja iznad tog raspona prijavljuju se kao iznad granice kvantifikacije (LoQ-a). Proučite Odjeljak 14 za pojedinosti.

## 19 Klinička učinkovitost

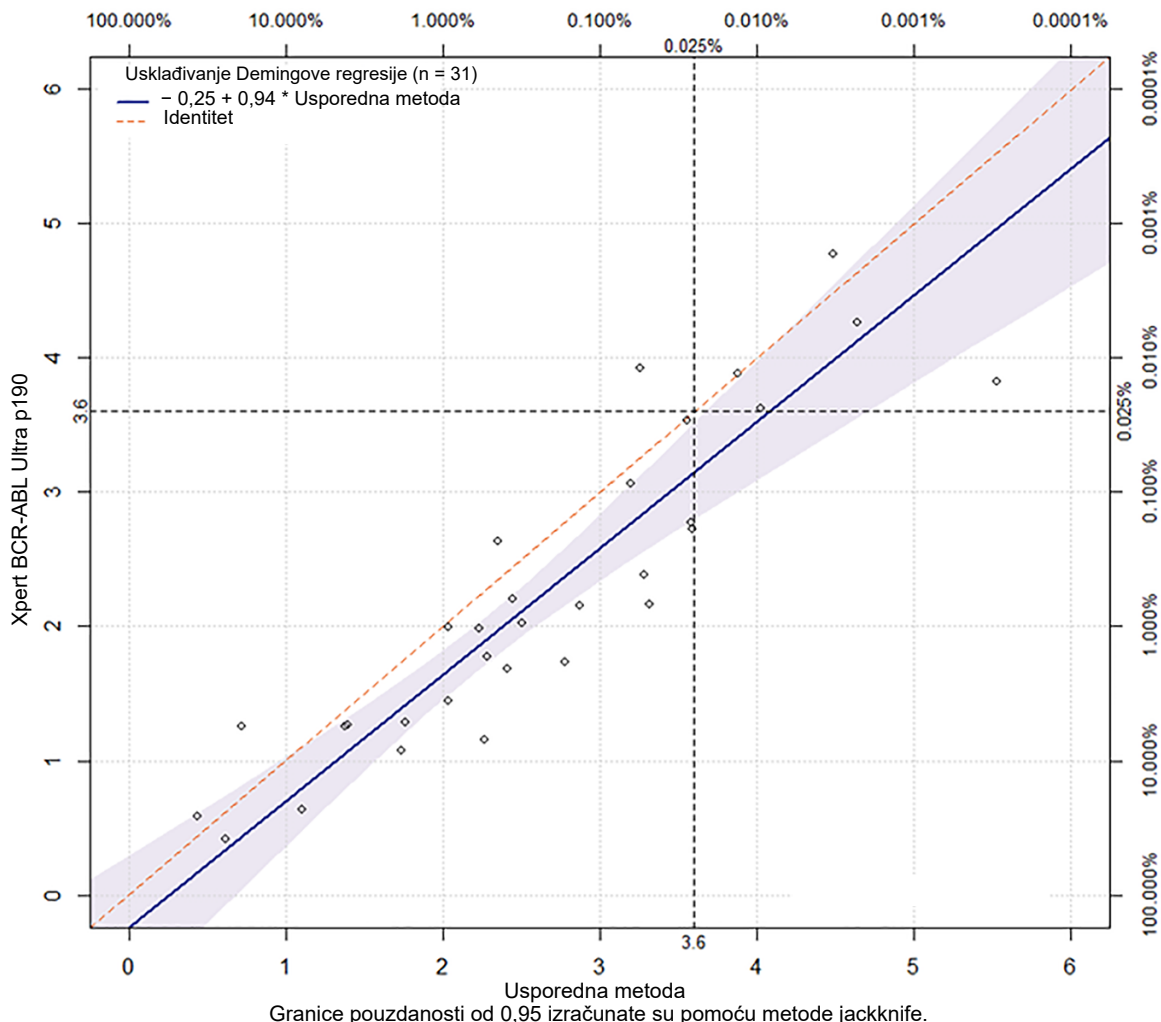
Klinička učinkovitost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 procijenjena je u tri ustanove u SAD-u u sklopu multicentričnog kliničkog ispitivanja. Ispitivanje je provedeno pomoću prospektivno prikupljenih uzoraka EDTA periferne krvi (PB) bolesnika s akutnom limfoblastičnom leukemijom (ALL) i kroničnom mijeloičnom leukemijom (CML) tijekom nadzora liječenja. Nadalje, ispitivanje je uključivalo preostale uzorke koji su skladišteni kao zamrznuti klinički lizati koji su pripremljeni iz EDTA periferne krvi iz iste populacije bolesnika. Učinkovitost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 uspoređena je s molekularnim testom koji otkriva i kvantificira transkripte mRNK za bolesnike s CML-om i ALL-om pozitivne na p190 [t(9;22)(q34;q11)] koji izražava fuzijski transkript BCR-ABL1 tip e1a2 i upotrebljava ABL kao endogeni kontrolni transkript za mRNK.

U to je ispitivanje upisano ukupno 47 uzoraka. Od tih 47 uzoraka, 9 je imalo RNK < 100 ng/ml i isključeni su iz analiza. Isključeno je ukupno 9 uzoraka, a preostalih 38 uzoraka uključeni su u konačni skup podataka. Važno je napomenuti da je svih 9 uzoraka koji su isključeni dalo valjane rezultate testa Xpert BCR-ABL Ultra p190.

Dob i spol prikupljeni su za 38 uzoraka uključenih u to ispitivanje. Uzorci su prikupljeni od 25 muškaraca (65,8 %) i 13 žena (34,2 %). Svi su uzorci dolazili od bolesnika u dobi od 20 do 88 godina, uz prosječnu dob od 54,5 godina. Dvadeset i tri (61 %) uzorka prikupljena su od bolesnika kojima je dijagnosticiran ALL, a 15 (39 %) uzoraka prikupljeno je od bolesnika kojima je dijagnosticiran CML.

Od 38 prihvatljivih uzoraka, sedam (7) uzoraka isključeno je iz Demingove regresije jer su bili negativni na najmanje jednom od testova. Trideset i jedan uzorak unutar kvantitativnih raspona oba testa uključen je u analizu Demingove regresije.

Rezultati analize Demingove regresije za postotni omjer (PR) pokazuju dobru korelaciju između testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 i mjerenja usporednom metodom po pitanju mjerenja PR-a. Sjecište je iznosilo 0,01, a pad 1,08; oboje su ispunjavali kriterije za prihvaćanje. Pearsonov r iznosio je 0,814. Logaritamsko smanjenje (LR) provedeno je da bi se normalizirala raspodjela podataka o PR-u. Provedena je analiza Demingove regresije pomoću mjerenja LR-a i predstavljena je u Slika 10 u nastavku.



Slika 10. Demingova regresija za LR

Slika 10 pokazuje visoku korelaciju između testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 i testova usporednom metodom za mjerenja LR-a. Demingova regresija ima pad od 0,94, a sjecište od -0,25. Rezultati Demingove regresije za vrijednosti LR također su ispunjavale kriterije za prihvaćanje za sjecište i pad. Ukupna korelacija (Pearson) za  $r = 0,904$  bila je visoka.

Pozitivno predviđeno odstupanje od 0,01 u postotnom prijavljivanju (LR: -0,39), kao i raspodjela ukazuju da za većinu uzoraka za test Xpert mjeri višu koncentraciju transkripta p190 u odnosu na usporedni test. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 pokazao je visoku korelaciju od 0,904 s usporednim testom i imao je nisko odstupanje upotrebom mjerenja LR-a. Postotak neodređenih rezultata uočenih u ovom ispitivanju iznosio je 0 % te su ujedno ispunjeni i kriteriji za prihvaćanje neodređenih rezultata od  $\leq 5$  %. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 pokazao je prihvatljivo slaganje s usporednim testom kako je prikazano padom i nagibom u analizi Demingove regresije.

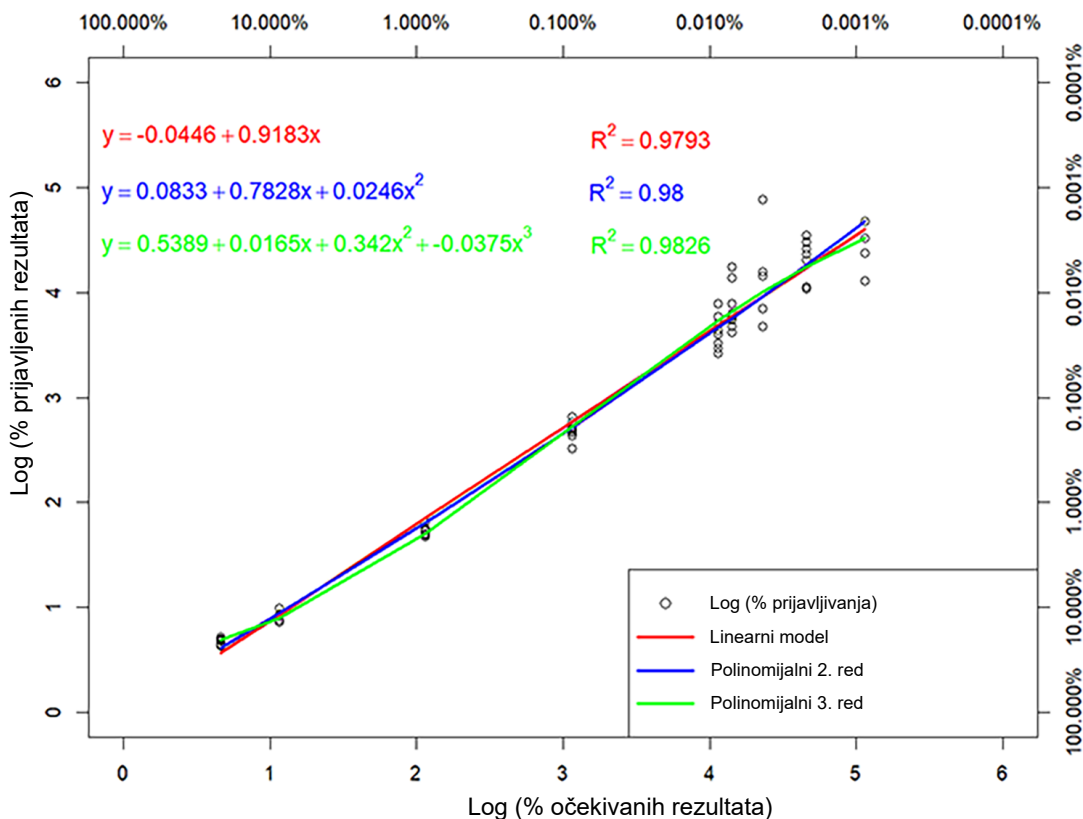
## 20 Analitička učinkovitost

### 20.1 Linearnost/dinamički raspon

Linearnost je procijenjena za manju graničnu vrijednost, e1a2, pomoću ukupnog RNK iz stanične linije ALL SUP-B15. Ukupan RNK iz transkripta BCR-ABL p190 razrijeđen je u pozadinskom lizatu pripremljenom iz kliničkog uzorka negativnog na ALL u ciljne raspone od ~25 % do 0,001 % (LR [logaritamsko smanjenje] 0,60 u LR5). Članovi panela, uključujući negativnu razinu, testirani su u dvije serije kompleta testa u četiri ponavljanja po seriji kompleta.



Testiranje i statističke analize provedene su u skladu s dokumentom EP06-A Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (CLSI). Analize linearne regresije provedene su za polinome prvog, drugog i trećeg reda. Rezultat za graničnu vrijednost e1a2 smatrao se linearnim ako su koeficijenti polinomijalne regresije bili beznačajni (p-vrijednosti > 0,05). Krivulja linearne regresije prikazana je u Slika 11 u nastavku.



Slika 11. Krivulje linearne regresije za graničnu vrijednost transkripta e1a2

Procijenjena sjecišta, padovi i vrijednosti R<sup>2</sup> regresije iz linearnog modela prikazani su u Tablica 3.

Tablica 3. Koeficijenti regresije iz linearnog modela

Granična vrijednost	Sjecište	Pad	R <sup>2</sup>
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Kolektivno, podaci podupiru uočavanje linearnosti od ~25 %/LR 0,60 do 0,001 %/LR5 s maksimalnim standardnim odstupanjem od 0,26. Raspon koji se mora prijaviti kreće se od granica linearnosti na 25 %/LR0,6 do LOQ-a na 0,0065 %/LR4,19.

## 20.2 Analitička osjetljivost (granica otkrivanja, granica kvantifikacije, granica slijepe probe)

Granica otkrivanja (LoD) procijenjena je za graničnu vrijednost e1a2 testiranjem serijskih razrjeđivanja kliničkih uzoraka pozitivnih na ALL [> 10 %]. Sakupljeni su podaci o razrjeđivanjima, a LoD je procijenjen pomoću analize regresije probit. Dobivena analiza dala je procijenjeni LoD od 0,0070 % za graničnu vrijednost e1a2.

LoD je potvrđen prilagodbom ne-parametarske metode koja je opisana u dokumentu sa smjernicama Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (CLSI) EP17-A2 (Tablica 4). Tri jedinstvena uzorka pozitivna na ALL koja predstavljaju graničnu vrijednost e1a2 razrijeđena su na ciljnu razinu od 0,0065 %. Četiri rukovatelja testirala su dvije stotine i petnaest ponavljanja u tri serije kompleta testova tijekom tri dana.

Tablica 4. Potvrđena granica otkrivanja u %

Granična vrijednost	Pozitivni rezultati/ Ponavljanja	% pozitivnih rezultata	Prosječni postotni omjer
e1a2	206/215	96,0 %	0,0065 %

Xpert BCR-ABL Ultra p190 LoD za e1a2 iznosi 0,0065 %.

Granica kvantifikacije (LoQ) procijenjena je pomoću podataka dobivenih iz LoD-a i ispitivanja linearnosti. Prosječno i standardno odstupanje za postotne vrijednosti za BCR-ABL p190/ABL izračunato je za ponavljanja na razinama jednakima LoD-u ili većima uz pozitivnost veću ili jednaku 95 %. LoQ se prijavljuje kao minimalno postotno prijavljivanje transkripta BCR-ABL p190/ABL koje se može pouzdano kvantificirati te ispunjava cilj preciznosti za otkrivanje transkripta e1a2 uz pozitivnost veću ili jednaku 95 %, uz standardno odstupanje logaritamskog smanjenja (LR) od  $\leq 0,36$  LR. LoQ testa ograničen je LoD-om testa; stoga je određeno da je LoQ jednak LoD-u, 0,0065 %. Rezultati su procijenjeni i prema kriterijima za prihvaćanje za standardno odstupanje (SD)  $\leq 0,36$  LR-a i bili su unutar kriterija za prihvaćanje.

Ispitivanje granice slijepe probe (LoB) provedeno je kako bi se procijenio najviši postotni omjer za BCR-ABL p190/ABL koji će se vjerojatno otkriti u  $\geq 95$  % uzoraka EDTA pune krvi negativne na p190. LoB testa određen je iz 387 valjanih podatkovnih točaka u necenzuriranoj ne-parametarskoj analizi, kako opisuje dokument Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (CLSI) EP17-A2 za procjenu LoB-a od 0,00032 % transkripta BCR-ABL p190/ABL.

### 20.3 Analitička specifičnost

Analitička specifičnost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 procijenjena je testiranjem uzoraka EDTA pune krvi dvadeset (20) zdravih darivatelja (koji nemaju CML i ALL). Svaki je uzorak testiran u četiri ponavljanja.

Signal za BCR-ABL p190 uočen je u jednom od 80 ponavljanja, pokazujući da je test Xpert BCR-ABL Ultra p190 imao analitičku specifičnost za transkript BCR-ABL p190 od 98,8 %.

### 20.4 Prenosivost kontaminacije

Provedeno je ispitivanje kako bi se dokazalo da jednokratni, autonomni ulošci GeneXpert sprječavaju prenosivost kontaminacije iz uzastopno pokrenutih uložaka u istom modulu. Da bi se to dokazalo, negativni uzorci pokrenuti su nakon vrlo visoko pozitivnih uzoraka u istom modulu GeneXpert. Ovo se ispitivanje sastojalo od obrade **NEGATIVNOG (NEGATIVE)** EDTA normalnog uzorka (krv negativna na ALL) u istom modulu GeneXpert odmah nakon visoko **POZITIVNOG (POSITIVE)** uzorka (simulirana krv pozitivna na ALL) uz nabađanje stanica SUP-B15 u krv negativnu na ALL kako bi se dobilo  $\geq 10$  %. Shema testiranja ponovljena je 10 puta za svaki uzorak, počevši i završivši s negativnim uzorkom, na dva modula GeneXpert, čime je dobiven 21 negativan rezultat i 20 pozitivnih rezultata po modulu. Svih dvadeset uzoraka pozitivnih na BCR- ABL p190 ispravno su prijavljeni kao **BCR-ABL p190 OTKRIVEN [#,#%]** (**BCR-ABL p190 DETECTED [#.#%]**), dok su svi od dvadeset i jednog uzorka negativnog na BCR-ABL p190 ispravno prijavljeni kao **BCR-ABL p190 NIJE OTKRIVEN [dovoljno transkripta za ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

## 20.5 Potencijalno ometajuće tvari

Ovo je ispitivanje procijenilo pet tvari koje mogu biti prisutne u uzorcima EDTA pune krvi te mogu ometati učinkovitost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190. Testirani sastojci i razine (pogledajte Tablica 5) temeljili su se na smjernicama iz dokumenta Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (CLSI) EP07-A2. Ometajuće tvari testirane su u pozadini uzoraka EDTA za ALL, izrađenih pomoću stanica ALL SUP-B15, koje predstavljaju tri razine s pet uzoraka po razini: >1 %, 0,1 – 0,02 % i negativna. Kontrole testa sastojale su se od stanica SUP-B15 u EDTA punoj krvi na odgovarajućoj razini transkripta BCR-ABL p190 bez ometajuće tvari. Svaki uzorak za ALL testiran je u odsutnosti i prisutnosti pet pojedinačnih ometajućih tvari uz četiri ponavljanja po uvjetu.

Smatralo se da neka tvar nije ometajuća ako je u njezinoj prisutnosti uočen prosječni postotni omjer bio unutar trostruke razlike, u usporedbi s kontrolom.

Nisu uočeni klinički značajni inhibicijski učinci na test Xpert BCR-ABL Ultra p190 ni sa kojom od ometajućih tvari procijenjenih u ovom ispitivanju. Iako su uočene neke varijabilnosti i statistički značajne razlike ( $p$ -vrijednost < 0,05) u nekim testiranim uvjetima, prijavljeni postotni omjeri testnih i kontrolnih uvjeta bili su unutar prihvatljivog trostrukog raspona.

**Tablica 5. Potencijalno ometajuće tvari testirane testom Xpert BCR-ABL Ultra p190**

Ometajuće tvari	Testirana koncentracija
Nekonjugirani bilirubin	20 mg/dl
Kolesterol, ukupni	500 mg/dl
Trigliceridi, ukupni (lipidi)	3000 mg/dl
Heparin	3500 U/L
EDTA (epruveta male zapremnine)	900 mg/dl

## 21 Reproducibilnost i preciznost

Reproducibilnost i preciznost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 procijenjena je u multicentričnom ispitivanju u skladu s dokumentima Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (CLSI) EP05-A3, „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline” i EP15- A3, „User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline.”

Tablica 6 prikazuje panel od pet uzoraka koji su pripremljeni i uključeni u ovo ispitivanje.

**Tablica 6. Panel reproducibilnosti za Xpert BCR-ABL Ultra p190**

Broj uzorka	Opis panela	BCR-ABL p190/ABL razina otkrivena (postotni omjer) (BCR-ABL p190/ABL Level Detected (percent ratio))
1	LR1: e1a2	~ 10 %
2	LR2: e1a2	~ 1 %
3	LR3: e1a2	~ 0,1 %
4	LR3.7: e1a2	~ 0,02 %
5	Negativan	Nije otkriven

Dva različita korisnika testirala su svaki od pet članova panela u dva ponavljanja dvaput na dan tijekom šest različitih dana na tri različite lokacije. Upotrijebljene su tri serije kompleta Xpert BCR-ABL Ultra p190, a svaki je korisnik proveo testiranje jednom serijom (3 lokacije x 2 korisnika x 3 serije x 2 dana (2 dana testiranja po seriji uloška) x 2 pokretanja testa x 2 ponavljanja = 144 ponavljanja/član panela).

Tablica 7. Standardno odstupanje i koeficijent varijacije (CV) s postotnim omjerom (PR)

Član panela	N	Prosjek	Lokacija		Op		Serija		Dan		Pokretanje testa		Unutar testa		Ukupan	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (~ 10 %-tni omjer)	144	14,04	0,20	1,44	0,00	0,00	3,14	22,35	0,55	3,94	0,00	0,00	1,63	11,60	3,58	25,53
LR2: e1a2 (~ 1 %-tni omjer)	144	1,65	0,14	8,58	0,00	0,00	0,61	36,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	19,35	0,70	42,45
LR3: e1a2 (~ 0,1 %-tni omjer)	144	0,16	0,01	6,15	0,00	0,00	0,08	50,18	0,01	5,26	0,00	0,00	0,04	24,42	0,09	56,39
LR3.7: e1a2 (~ 0,02 %-tni omjer)	143 <sup>a</sup>	0,03	0,00	6,60	0,00	0,00	0,02	62,48	0,00	11,43	0,00	0,00	0,01	43,56	0,02	77,30

<sup>a</sup> Jedan je uzorak dao neodređeni rezultat prilikom testiranja i ponovljenog testiranja.

Ukupan koeficijent varijacije (CV%) postotnog omjera kojim se prijavljuju kvantitativne vrijednosti kretao se od 25,53 do 77,30 za pozitivne uzorke. Komponenta varijance za PR kojim se prijavljuju vrijednosti nije premašivala 50 % ukupne varijance testa za sljedeće faktore: među lokacijama, među korisnicima, među danima i među pokrenutim testovima. Analiza varijance iznad prosječne PR kvantitativne vrijednosti dala je slične rezultate.

Tablica 8. Standardno odstupanje i koeficijent varijacije (CV) logaritamskog smanjenja (LR)

Član panela	N	Prosjek	Lokacija		Op		Serija		Dan		Pokretanje testa		Unutar testa		Ukupan	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (~ 10 %-tni omjer)	144	0,86	0,01	1,47	0,00	0,00	0,10	11,17	0,02	2,53	0,00	0,00	0,05	5,87	0,11	26,17
LR 2: e1a2 (~ 1 %-tni omjer)	144	1,81	0,03	1,93	0,00	0,00	0,15	8,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	3,64	0,17	40,75
LR 3: e1a2 (~ 0,1 %-tni omjer)	144	2,84	0,03	1,06	0,00	0,00	0,22	7,60	0,01	0,51	0,00	0,00	0,09	3,34	0,24	59,16
LR 3.7: e1a2 (~ 0,02 %-tni omjer)	143 <sup>a</sup>	3,66	0,04	1,19	0,00	0,00	0,27	7,26	0,04	1,12	0,03	0,86	0,19	5,06	0,33	88,68

<sup>a</sup> Jedan je uzorak dao neodređeni rezultat prilikom testiranja i ponovljenog testiranja.

Ukupan postotak koeficijenta varijacije (CV) za LR kojim se prijavljuju kvantitativne vrijednosti kretao se od 26,17 do 88,68 za pozitivne uzorke.

## 22 Reference

1. Faderl S. et al. Clinical Significance of Cytogenetic Abnormalities in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*. 1998; 91 (11): 3995-4019.
2. Dushyant, V. et al. Chronic myeloid leukemia (CML) with p190 BCR-ABL: analysis and characteristics, outcomes and prognostic significance. *Blood*. 2009; 114: 2232-2235.
3. Moorman, A. V. et al. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115:206-214.
4. Burmeister T. et al. Patient's age and BCR-ABL frequency in adult B-precursor ALL: A retrospective analysis from the GMALL study group. *Blood*. 2008; 112:918-919.
5. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology Acute Lymphoblastic Leukemia v2.2019.
6. Leukemia - Acute Lymphocytic Leukemia (ALL). National Cancer Institute | Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/aly1.html>
7. Bondi, A., Chiesa, R. Citterio, C., Conter, V., Rizzari, C., Sala, A. Acute lymphoblastic leukemia. *Orphanet encyclopedia*. August 2007. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=EN&Expert=513](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=513).
8. White H. E. et al. Establishment of the First World Health Organization international genetic reference panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood*. 2010; 116:e111-e117.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokument M29 (proučite najnovije izdanje).
11. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. UREDBA (EZ) br. 1272/2008 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 16. prosinca 2008. o razvrstavanju, označivanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Direktive 67/548/EEZ i Direktive 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.
13. Propisi o sigurnosti i zdravlju na radu, Priopćavanje opasnosti, Otrovne i opasne tvari (26. ožujka 2012.) (29 C.F.R., str. 1910, podtočka Z).

## 23 Lokacije glavnih sjedišta tvrtke Cepheid

### Glavno sjedište

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

### Europsko sjedište

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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

## 24 Tehnička pomoć

Prije nego što se obratite Tehničkoj podršci tvrtke Cepheid, prikupite sljedeće podatke:

- Naziv proizvoda
- Broj serije
- Serijski broj instrumenta
- Poruke o greškama (ako postoje)
- Verzija softvera i, ako je primjenjivo, broj servisne oznake računala

### Sjedinjene Države




















Telefon: + 1 888 838 3222  
E-pošta: techsupport@cepheid.com

### Francuska

Telefon: + 33 563 825 319  
E-pošta: support@cepheideurope.com

Podaci o kontaktu za sve urede tvrtke Cepheid za tehničku podršku dostupni su na našoj internetskoj stranici:  
[www.cepheid.com/en\\_US/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en_US/support/contact-us).

## 25 Tablica simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	Oznaka CE – sukladnost s europskim propisima
	<i>In vitro</i> dijagnostički medicinski proizvod
	Kod serije
	Ne upotrebljavati višekratno
	Rok valjanosti
	Upozorenje
	Proučite upute za upotrebu
	Proizvođač
	Država proizvodnje
	Sadrži dovoljno za $n$ testova
	Kontrola
	Ograničenje temperature
	Biološki rizici
	Zapaljive tekućine
	Reproduktivna i razvojna toksičnost
	Ovlašteni predstavnik u Europskoj zajednici
	Ovlašteni predstavnik u Švicarskoj
	Uvoznik



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Telefaks: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefon: + 33 563 825 300

Telefaks: + 33 563 825 301



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



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





## 26 Povijest revizija

Opis promjena: 302-6673, Rev. B do Rev. C

Svrha: ažuriranje Uputa za upotrebu

Odjeljak	Opis promjene
8.3	Dodana izjava upozorenja da se ulošci ne smiju otvarati niti preinačiti radi odlaganja u otpad.
11.2.1	Ažurirana napomena o preostalom lizatu.
17	Ažurirane upute o ponovnom testiranju i ispravljene referencije na odjeljke.
19	Ažurirane oznake dijagrama u slici 10.
21	Ažuriran sadržaj o Reproducibilnosti i Preciznosti.
25	Dodan predstavnik za Švicarsku i simboli uvoznika te definicije u tablici simbola. Dodan predstavnik za Švicarsku i informacije o uvozniku s adresom u Švicarskoj.
26	Ažurirana tablica Povijest revizija.