

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

**REF** GXBCRABLP190-CE-10

Gebrauchsanweisung

**IVD**

## **Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben**

### **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>, das Cepheid-Logo, GeneXpert<sup>®</sup> und Xpert<sup>®</sup> sind Marken von Cepheid, die in den USA und anderen Ländern eingetragen sind.

Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

MIT DEM ERWERB DIESES PRODUKTS WIRD DEM KÄUFER DAS NICHT ÜBERTRAGBARE RECHT ZU SEINER VERWENDUNG ENTSPRECHEND DER VORLIEGENDEN GEBRAUCHSANWEISUNG GEWÄHRT. ES WERDEN KEINE ANDEREN RECHTE ÜBERTRAGEN, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH STILLSCHWEIGEND ODER DULDEND. DARÜBER HINAUS GEHT AUS DEM ERWERB DIESES PRODUKTS KEIN RECHT DES WEITERVERKAUFS HERVOR.

**© 2022–2023 Cepheid.**

Beschreibung der Änderungen siehe Abschnitt 26 Revisionsverlauf.

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

---

Zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.

## 1 Markenname

Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190

## 2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert BCR-ABL Ultra p190

## 3 Zweckbestimmung

### 3.1 Verwendungszweck

Der Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190-Test ist ein *In-vitro*-Diagnostiktest für eine Verwendung auf dem Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> Dx System zur Quantifizierung von BCR-ABL1-p190- und ABL1-mRNA-Transkripten in Peripherblutproben von Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie (CML) und akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) mit Expression des BCR-ABL1-Fusionstranskripts Typ e1a2 vorgesehen, bei denen das Philadelphia-Chromosom (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] diagnostiziert wurde. Der Test verwendet eine automatisierte, quantitative Echtzeit-Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR) und ist für die Messung des prozentualen Verhältnisses von BCR-ABL1-p190-mRNA zu ABL1-mRNA bei t(9;22)-positiven CML- oder ALL-Patienten während des Monitorings der Behandlung vorgesehen.

Der Test ist nicht zum Monitoring anderer aus t(9;22) resultierenden Fusionstranskripte und nicht für die Diagnose von CML oder ALL vorgesehen.

### 3.2 Vorgesehene Anwender/Umgebung

Der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Test ist zur Durchführung durch geschultes Personal im Labor vorgesehen.

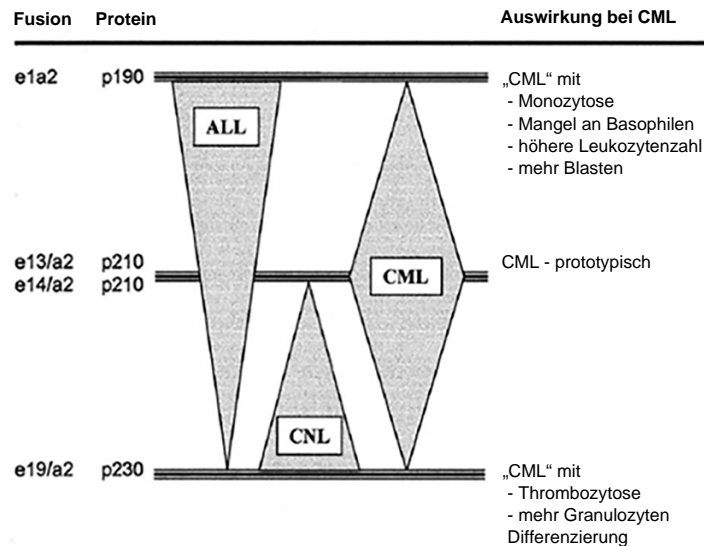
## 4 Zusammenfassung und Erklärung

**Das Philadelphia-Chromosom (Ph)** ist ein verkürztes Chromosom, das aus der Translokation des 3'-Teils des ABL-Gens auf dem Chromosom 9 auf den 5'-Teil des BCR-Gens auf dem Chromosom 22 resultiert. Der Breakpoint des ABL-Gens ist ziemlich konstant und tritt am 5'-Ende von Exon a2 auf, während der Breakpoint des BCR-Gens variabel ist und hauptsächlich in 3 verschiedenen Regionen (Breakpoint-Cluster-Regionen oder BCR) geclustert ist. Je nach Breakpoint auf dem Chromosom 22 werden unterschiedlich große Segmente mit den 3'-Sequenzen des ABL-Gens verknüpft. Es gibt Major(M-BCR)-, Minor(m-BCR)- und Mikro-Breakpoints, die jeweils zur Entstehung von mRNA-Fusionstranskripten mit unterschiedlichen Größen führen.<sup>1</sup>

Das Ph-Chromosom wird bei mehr als 95 % der Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie (CML) und bei bis zu 20–30 % der Erwachsenen mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL), bei 5 % der Kinder mit ALL und bei 1–2 % der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) beobachtet.<sup>1</sup>

Bei CML ist das BCR-ABL p210 bei mehr als 95 % der Patienten präsent und wird auch bei etwa 30 % der Ph-positiven (Ph+) ALL-Patienten gefunden. BCR-ABL p190 ist bei den übrigen Patienten mit Ph+ ALL und in seltenen Fällen von CML (1–3 %) präsent. Bei CML können die BCR-ABL p210 und p190 koexistieren. Sowohl das p210- als auch das p190-Fusionsprotein zeigen eine erhöhte Tyrosin-Phosphokinase-Aktivität im Vergleich zum normalen p145-c-ABL-Protein.<sup>1,2</sup>

Bei Patienten mit Ph+ ALL wird die p190-Form bei etwa 80 % der Ph+ ALL-Fälle im Kindesalter und 20–40 % der Ph+ ALL-Fälle im Erwachsenenalter nachgewiesen.<sup>1</sup> Darüber hinaus nimmt die Häufigkeit des Ph-Chromosoms mit dem Alter zu und ist bei 10 % der 15- bis 30-Jährigen, 25 % der 40- bis 49-Jährigen und 20–40 % der ALL-Patienten über 50 Jahren vorhanden.<sup>3-5</sup>



Akute lymphoblastische Leukämie (ALL) ist ein hämatologisches Malignom, bei dem es zu einer Ansammlung von unreifen, schlecht differenzierten weißen Blutkörperchen (WBC) oder Lymphoblasten im Knochenmark, Blut und anderen Geweben kommt. ALL ist mit einer Prävalenz von 1,7/100.000 als seltene Krebserkrankung (ORPHA-Kennnummer: 513; GARD 522) eingestuft. In den Vereinigten Staaten ist ALL die häufigste Krebserkrankung bei Kindern von der Geburt bis zum Alter von 15 Jahren und macht 75 % aller Leukämiefälle im Kindesalter aus.<sup>6,7</sup>

Das Vorhandensein des Ph-Chromosoms bei ALL-Patienten nach der Konsolidierung ist ein signifikanter Prädiktor für ein Rezidiv und es wird ein Monitoring empfohlen. Derzeit bestehen keine Richtlinien, die die Monitoringhäufigkeit von ALL-Patienten mit Messungen des BCR-ABL-p190-Transkripts zum Nachweis einer minimalen Resterkrankung (MRD) bestimmen. Die NCCN-Richtlinien haben bestimmte Zeitpunkte für das Monitoring von BCR-ABL p210 bei CML-Patienten, sodass die Messung von BCR-ABL p190 zum Zweck des Monitorings von ALL mit ähnlichen Häufigkeiten erfolgt.<sup>5</sup>

Chronische myeloische Leukämie (CML) wird durch das Vorhandensein des Ph-Chromosoms charakterisiert. Dabei werden > 95 % der Fälle mit BCR-ABL p210 und nur 1–3 % der Fälle mit BCR-ABL p190 assoziiert.<sup>2,3</sup>

Im Gegensatz zum internationalen Standard für BCR-ABL der Weltgesundheitsorganisation (WHO IS) für das p210-Transkript gibt es derzeit keine international anerkannte Referenz, die zur Standardisierung des p190-Fusionstranskripts verwendet werden kann. Derzeitige molekulare Tests für p190 können daher in der Regel das Fusionstranskript nachweisen und geben es als Prozentsatz relativ zur Expression eines internen Kontrollgens (z. B. ABL) an.

## 5 Verfahrensprinzip

Der Xpert BCR-ABL Ultra p190 ist ein automatisierter Test zur Quantifizierung der Menge von BCR-ABL1-p190-Transkripten als Verhältnis von BCR-ABL p190/ABL1. Der Test wird auf dem Cepheid GeneXpert Dx System durchgeführt, welches Probenreinigung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenz in einfachen oder komplexen Proben mithilfe von Real-Time-RT-PCR- und geschachtelten (nested) PCR-Tests automatisiert und vereint. Das System besteht aus einem Instrument, einem Computer und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests und zum Anzeigen der Ergebnisse. Das System erfordert GeneXpert-Einwegkartuschen, in denen die RT-PCR- und geschachtelte (nested) PCR-Reagenzien enthalten sind und die RT-PCR- und geschachtelten (nested) PCR-Prozesse ablaufen. Eine vollständige Beschreibung des Systems ist im jeweiligen *GeneXpert Dx System Operator Manual* zu finden.

Die Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kartusche enthält Reagenzien für den Nachweis von aus einem Minor-Breakpoint, der Translokation e1a2, und dem ABL1-Transkript als endogene Kontrolle in Peripherblutproben entstandenen BCR-ABL1-p190-Fusionsgenen. Die Anzahl der BCR-ABL1-p190-Transkripte wird als Verhältnis von BCR-ABL1-p190/ABL1 quantifiziert. Der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Test enthält zwei Kontrollen – die endogene Kontrolle (ABL1) und die Sondenprüfungskontrolle (PCC). Die endogene ABL1-Kontrolle normalisiert die BCR-ABL1-p190-Zielsequenz

und sorgt dafür, dass im Test ausreichend Probe verwendet wird. Mit der PCC werden die Rehydrierung der Reagenzien und die Befüllung des PCR-Röhrchens überprüft. Außerdem werden Vorhandensein und Funktionsfähigkeit aller Reaktionskomponenten in der Kartusche, einschließlich Sonden und Farbstoffen, bestätigt.

## 6 Reagenzien und Instrumente

### 6.1 Enthaltene Materialien

Das Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kit (GXBCRABLP190-CE-10) enthält ausreichend Reagenzien zur Verarbeitung von 10 Test- oder Qualitätskontrollproben. Das Kit enthält die folgenden Materialien:

Xpert BCR-ABL Ultra-Reagenzien		Je 10 pro Kit
<b>Proteinase K (PK)</b>		<b>10 x 130 µl pro Fläschchen</b>
<b>Komponente</b>	<b>Reagenzbestandteil</b>	
Proteinase K	< 5 %	
<b>Lysereagenz (LY) (Guanidiniumchlorid)</b>		<b>10 x 5,3 ml pro Fläschchen</b>
<b>Komponente</b>	<b>Reagenzbestandteil</b>	
Guanidiniumchlorid	25–50 %	
Harnstoff	25–50 %	
Natriumdodecylsulfat	< 2 %	
<b>Waschreagenz</b>		<b>10 x 2,9 ml pro Ampulle</b>
<b>Komponente</b>	<b>Reagenzbestandteil</b>	
Ethanol	< 50 %	
Guanidiniumthiocyanat	< 50 %	
<b>Xpert BCR-ABL Ultra p190 Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern</b>		<b>10 pro Kit</b>
<b>Komponente</b>	<b>Reagenzbestandteil</b>	<b>Betrag</b>
Kügelchen 1 (gefriergetrocknet)	Enzym: Taq DNA-Polymerase < 50 E/ Kügelchen	1 pro Kartusche
	dNTPs < 0,05 %	
Kügelchen 2 (gefriergetrocknet)	Primer und Sonden < 0,005 %	1 pro Kartusche
Kügelchen 3 (gefriergetrocknet)	Primer und Sonden < 0,005 %	1 pro Kartusche
Kügelchen 4 (gefriergetrocknet)	Enzym: Taq DNA-Polymerase < 50 E/ Kügelchen	1 pro Kartusche
	dNTPs < 0,05 %	
Spülreagenz	Kaliumchlorid < 4 %	2 ml pro Kartusche
	Natriumazid < 0,1 %	
	Polyethylenglykol < 15 %	

	Tween-20 < 0,2 %	
Elutionsreagenz	Trizma-Base < 0,3 %	2,5 ml pro Kartusche
	Trizma-Hydrochlorid < 0,1 %	
	Natriumazid < 0,05 %	

**CD****1 pro Kit**

- Assay-Definitionsdatei (ADF)
- Anweisungen zum Importieren der ADF in die GeneXpert Dx-Software
- Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)

**Anmerkung**

Das bovine Serumalbumin (BSA) in den Kügelchen dieses Produkts wurde ausschließlich aus bovinem Plasma gewonnen und hergestellt, das aus den USA stammt. Die Tiere erhielten keinerlei Wiederkäuer- oder anderes Tierprotein mit dem Futter und wurden ante- und post-mortem Tests unterzogen. Bei der Verarbeitung wurde das Material nicht mit anderen Tiermaterialien vermischt.

**Anmerkung**

Analysezertifikate und Datenblätter mit Chargenspezifikationen sind über den technischen Kundendienst von Cepheid erhältlich.

## 6.2 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx System (Bestellnummer variiert je nach Konfiguration): GeneXpert Instrument, Computer, Barcodescanner und Benutzerhandbuch.
- Für GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx Softwareversion 6.2 oder höher
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- Vortex-Mixer
- Mikrozentrifuge (mindestens 1000 X g)
- Pipetten und Aerosolfilter-Pipettenspitzen
- Konische 50-ml-Röhrchen
- Reines Ethanol in Reagenzqualität

## 7 Aufbewahrung und Handhabung

- Den Inhalt des Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kits bei 2–8 °C bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum aufbewahren.
- Den Deckel der Kartusche erst öffnen, wenn Sie bereit sind, die Testung durchzuführen.
- Keine Kartuschen mit abgelaufenem Verfallsdatum verwenden.
- Das Waschreagenz ist eine klare, farblose Flüssigkeit. Wenn das Waschreagenz trübe oder verfärbt ist, darf es nicht verwendet werden.
- Zwanzig (20) Minuten vor Testbeginn Blutprobe, Kartusche und die Reagenzien zur Probenvorbereitung aus dem Lagerort entnehmen und auf Zimmertemperatur (20 °C–30 °C) kommen lassen.

## 8 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

### 8.1 Allgemeines

- Zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.
- Alle biologischen Proben und auch die gebrauchten Kartuschen und Reagenzien sind als potenziell infektiös zu behandeln. Da es oft unmöglich ist, potenziell infektiöse Proben zu erkennen, sind alle biologischen Proben gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln. Richtlinien zur Probenhandhabung sind von den US-amerikanischen Organisationen Centers for Disease Control and Prevention<sup>9</sup> und Clinical and Laboratory Standards Institute erhältlich.<sup>10</sup>

- Die in der jeweiligen Einrichtung geltenden Sicherheitsvorkehrungen für den Umgang mit Chemikalien und biologischen Proben sind zu befolgen.
- Die Leistungsmerkmale dieses Tests wurden ausschließlich mit in EDTA-Röhrchen entnommenem Blut ermittelt. Die Leistung dieses Tests bei Verwendung anderer Probenarten oder Proben wurde nicht untersucht.
- Verlässliche Ergebnisse hängen vom sachgemäßen Vorgehen bei Entnahme, Transport, Aufbewahrung und Bearbeitung der Patientenprobe ab. Falsche Testergebnisse können bei unsachgemäßer Entnahme, Handhabung oder Lagerung der Probe, technischen Fehlern oder Probenverwechslung oder bei einem Zieltranskript in der Probe unter der Nachweisgrenze (LoD) des Tests ausgegeben werden. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist die sorgfältige Einhaltung der Anweisungen in der Packungsbeilage sowie im *GeneXpert Dx System Operator Manual* erforderlich.
- Wenn der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Test mit Kits oder Proben durchgeführt wird, die außerhalb des für die Aufbewahrung empfohlenen Temperaturbereichs und Zeitraums gelagert wurden, kann er falsche oder ungültige Ergebnisse ausgeben.
- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben. Bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien sind die Umweltschutzvorschriften der jeweiligen Einrichtung einzuhalten. Diese Materialien können chemischen Sondermüll darstellen, der gemäß bestimmten nationalen oder regionalen Vorgehensweisen entsorgt werden muss. Falls die Vorschriften des jeweiligen Landes oder der jeweiligen Region keine klaren Anweisungen zur ordnungsgemäßen Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien der WHO (Weltgesundheitsorganisation) zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen entsorgt werden.<sup>11</sup>

## 8.2 Probe

- Während des Transports der Proben sind die vorgeschriebenen Lagerbedingungen einzuhalten, um die Unversehrtheit der Probe zu gewährleisten (siehe Abschnitt 10). Die Probenstabilität unter anderen als den empfohlenen Transportbedingungen wurde nicht untersucht.
- Vollblutproben nicht einfrieren.
- Eine sachgemäße Vorgehensweise bei Entnahme, Aufbewahrung und Beförderung der Proben ist für korrekte Ergebnisse unabdingbar.

## 8.3 Test/Reagenz

- Keine Xpert BCR-ABL Ultra p190-Reagenzien durch andere Reagenzien ersetzen.
- Der Deckel der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kartusche darf nur für die Zugabe von Probe und Waschreagenz geöffnet werden.
- Keine Kartuschen verwenden, die nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.
- Die Kartusche nicht schütteln. Wenn die Kartusche nach dem Öffnen des Kartuschendeckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig. Das Etikett mit der Proben-ID nicht auf den Kartuschendeckel oder über das Barcode-Etikett der Kartusche kleben.
- Kartuschen mit beschädigtem Barcode-Etikett dürfen nicht verwendet werden. Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Wenn Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kartuschen zum Testen verwendet werden, sollten sie Zimmertemperatur haben (20 °C–30 °C).
- Jede Xpert BCR-ABL Ultra p190-Einweg-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests. Verbrauchte Kartuschen nicht wiederverwenden.
- Pipettenspitzen nicht wiederverwenden.
- Kartuschen, die nass aussehen oder deren Deckelversiegelung aufgebrochen zu sein scheint, dürfen nicht verwendet werden.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kartuschen nicht verwenden, wenn ein Reagenz in die falsche Öffnung gegeben wurde. Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kartuschen nach Abschluss des Tests nicht öffnen.
- Einen Pipetten- und Reagenziensatz bestimmen, der ausschließlich für die Probenvorbereitung verwendet wird.
- Saubere Laborkittel und Handschuhe verwenden. Die Handschuhe nach jeder Probe wechseln.
- Falls Proben oder Kontrollen verschüttet wurden, Handschuhe tragen und die verschüttete Flüssigkeit mit Papiertüchern aufsaugen. Alle Laborarbeitsflächen mit einer frisch in destilliertem oder deionisiertem Wasser zubereiteten Lösung aus 0,5 % Natriumhypochlorit (1:10 verdünnte Haushaltsbleiche) gründlich reinigen und desinfizieren. Die Endkonzentration an aktivem Chlor sollte bei 0,5 % liegen. Sobald der Arbeitsbereich trocken ist, die Oberfläche mit 70 % Ethanol abwischen. Im Falle von kontaminierten Geräten die Herstellerempfehlungen zur Dekontamination

des jeweiligen Geräts befolgen. Oder im Falle von Kontamination die Standardverfahren der jeweiligen Einrichtung befolgen.

- Gebrauchte Kartuschen können sowohl potenziell infektiöse Materialien als auch hochamplifizierte PCR-Zielsequenzen enthalten. Die Kartusche darf zur Entsorgung nicht geöffnet oder verändert werden.


## 9 Chemische Gefahren<sup>12,13</sup>

### Anmerkung

Sicherheitsdatenblätter (SDB) sind auf den Webseiten [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) oder [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) unter dem Register **SUPPORT** erhältlich.

### Anmerkung

Die nachstehenden Informationen gelten für Proteinase-K-, Lyse-, Wasch- und Spülreagenzien.

- UN-GHS-Gefahrenpiktogramm: 
- Signalwort: GEFÄHR
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise**
  - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken H302
  - Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar H225
  - Verursacht Hautreizungen H315
  - Verursacht schwere Augenreizung H319
  - Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen H336
  - Kann vermutlich genetische Defekte verursachen H341
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
  - **Prävention**
    - Siehe Sicherheitsdatenblatt für besondere Anweisungen vor Gebrauch.
    - Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
    - Persönliche Schutzausrüstung verwenden: Handschuhe, Augenschutz, Gesichtsschutz und Schutzkleidung.
    - Nur in gut belüfteten Bereichen verwenden.
    - Von Hitze, Funken, offenen Flammen und/oder heißen Oberflächen fernhalten.
    - Einatmen von Nebel, Dampf oder Sprühnebel vermeiden.
    - Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
  - **Reaktion**
    - BEI BRAND: Geeignete Mittel zum Löschen verwenden.
    - BEI EINATMEN: Die betroffene Person an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
    - Bei Unwohlsein der Person GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
    - BEI VERSCHÜTTUNG: Kontaminierte Kleidung sofort ausziehen. Bei Berührung mit der Haut oder dem Haar mit Wasser abspülen/duschen.
    - BEI HAUTREIZUNG: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
    - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Eventuell vorhandene Kontaktlinsen entfernen. Augen mehrere Minuten lang gründlich mit Wasser ausspülen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
    - Besondere Behandlung: siehe ergänzende Erste-Hilfe-Maßnahmen im Sicherheitsdatenblatt.
    - Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.
  - **Lagerung/Entsorgung**
    - Unter Kühlbedingungen lagern.
    - Behälter dicht verschlossen halten.
    - Entsorgen von Inhalten und/oder Behälter in Übereinstimmung mit den örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften.



## 10 Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Proben

- Der Test erfordert in EDTA-Vakuumröhrchen entnommene Vollblutproben. Proben können vor deren Bearbeitung für bis zu 72 Stunden bei 2–8 °C gelagert werden. Plasma und Zellen sollten nicht separiert werden.
- Eine sachgemäße Vorgehensweise bei Entnahme, Aufbewahrung und Beförderung der Proben ist für korrekte Ergebnisse unabdingbar.

## 11 Verfahren

### 11.1 Bevor Sie beginnen

Zwanzig (20) Minuten vor Testbeginn Blutprobe, Reagenzien zur Probenvorbereitung und Kartusche aus dem Kühlschrank entnehmen und auf Raumtemperatur kommen lassen. Proteinase K (PK) kurz in einer Mikrozentrifuge zentrifugieren.

**Wichtig** Die Kartusche vor Vorbereitung der Probe aus der Kartonverpackung nehmen. (Siehe Abschnitt 11.2, „Vorbereitung der Probe“.)

**Wichtig** Den Test auf dem GeneXpert Dx-Instrument innerhalb einer Stunde nach Zugabe der vorbereiteten Probe zur Kartusche starten.

### 11.2 Vorbereitung der Probe

#### 11.2.1 Eine Probe mit unbekannter Leukozytenzahl (WBC) oder Proben mit weniger als 30 Millionen Leukozyten/ml vorbereiten

1. Auf den Boden eines konischen 50-ml-Röhrchens 100 µl PK (Proteinase K) hinzufügen.
2. Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem das Blutentnahmeröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8 Mal invertiert wird. Siehe Hinweise des Herstellers des EDTA-Blutentnahmeröhrchens.
3. Dem Röhrchen, das bereits Proteinase K enthält, 4 ml Blutprobe hinzugeben.
4. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen.
5. 1 Minute lang bei Raumtemperatur inkubieren.
6. In dasselbe Röhrchen 2,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben.

**Anmerkung** Das verbleibende Lysereagenz für die spätere Verwendung in Schritt 13 aufbewahren.

7. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
8. 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
9. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
10. 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
11. Die Probe vermischen, indem 10-mal an den Boden des Röhrchens geklopft wird.
12. 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen.

**Anmerkung** Das verbleibende Lysat kann zur Testwiederholung verwendet werden. Das verbleibende Lysat bei 2–8 °C für bis zu 4 Stunden oder bei -20 °C oder kühler für bis zu 24 Wochen aufbewahren.

13. Dem neuen konischen Röhrchen mit Lysat 1,5 ml des zurückbehaltenen Lysereagenzes (LY) aus Schritt 6 hinzugeben.
14. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
15. 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
16. In das gleiche konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität (vom/n Benutzer/in bereitzustellen) geben.
17. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Zur Seite stellen.
18. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz entsorgen.

### 11.2.2 Eine Probe mit einer Leukozytenzahl über 30 Millionen Leukozyten/ml vorbereiten

1. Auf den Boden eines konischen 50-ml-Röhrchens 100 µl PK (Proteinase K) hinzufügen.
2. Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem das Blutsammelröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8 Mal invertiert wird. Siehe Hinweise des Herstellers des EDTA-Blutsammelröhrchens.
3. Zum Röhrchen, das bereits Proteinase K enthält, 50 µl Blutprobe hinzugeben.
4. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen.
5. 1 Minute lang bei Raumtemperatur inkubieren.
6. In dasselbe Röhrchen 2,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben.
7. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
8. 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
9. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
10. 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
11. In das gleiche konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität (vom Benutzer bereitzustellen) geben.
12. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Zur Seite stellen.
13. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz verwerfen.

### 11.3 Vorbereitung der Kartusche

Zugabe der Probe in die Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kartusche:

1. Die Kartusche aus der Kartonverpackung nehmen.
2. Die Kartusche auf Beschädigungen überprüfen. Bei Beschädigung nicht verwenden.
3. Die Kartusche durch Anheben des Kartuschendeckels öffnen und die Ampulle mit Waschreagenz (1) vollständig in die Waschreagenzkammer (kleine Öffnung) transferieren. Siehe Abbildung 1.
4. Die vorbereitete Probe vollständig in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren. Siehe Abbildung 1.

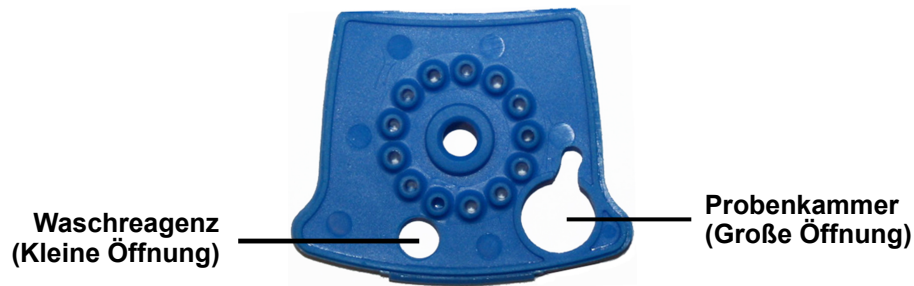


Abbildung 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kartusche (Draufsicht)

5. Den Kartuschendeckel schließen. Sicherstellen, dass der Deckel fest eingerastet ist. Den Test einleiten (siehe Abschnitt 11.4, „Starten des Tests“).

### 11.4 Testbeginn

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte der Testdurchführung beschrieben. Eine ausführliche Anleitung finden Sie im *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

**Wichtig** Stellen Sie vor Beginn des Tests sicher, dass auf dem Instrument die GeneXpert Dx-Softwareversion 6.2 oder höher läuft und dass die richtige Assay-Definitionsdatei (ADF) in die Software importiert wurde.

**Anmerkung** Die zu befolgenden Schritte können sich von der hier enthaltenen Beschreibung unterscheiden, falls der Standard-Arbeitsfluss des Systems vom Systemverwalter geändert wurde.

1. Schalten Sie das GeneXpert-Instrument ein:

Schalten Sie bei Verwendung des GeneXpert Dx-Instruments zuerst das GeneXpert Dx-Instrument und dann den Computer ein. Die GeneXpert-Software startet automatisch. Falls nicht, doppelklicken Sie auf das Verknüpfungssymbol für die GeneXpert Dx-Software auf dem Windows®-Desktop.

2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der Software des GeneXpert-Instrumentensystems an.
3. Klicken Sie im Fenster **GeneXpert-System (GeneXpert System)** auf **Test erstellen (Create Test)** (GeneXpert Dx). Das Fenster **Test erstellen (Create Test)** erscheint. Das Dialogfeld **Patienten-ID-Barcode scannen (Scan Patient ID Barcode)** öffnet sich.
4. Scannen oder tippen Sie die Patienten-ID (Patient ID) ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID (Patient ID). Die Patienten-ID (Patient ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft. Sie wird im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)** angezeigt und ist in allen Berichten enthalten. Das Dialogfeld **Proben-ID-Barcode scannen (Scan Sample ID Barcode)** öffnet sich.
5. Scannen oder tippen Sie die Proben-ID (Sample ID) ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Proben-ID (Sample ID). Die Proben-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)** sowie in allen Berichten. Das Dialogfeld **Kartuschen-Barcode scannen (Scan Cartridge Barcode)** öffnet sich.
6. Scannen Sie den Barcode der Kartusche ein. Anhand der über den Barcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: „Assay auswählen (Select Assay)“, „Chargen-ID (Reagent Lot ID)“, „Kartuschen-Serienr. (Cartridge SN)“ und „Verfallsdatum (Expiration Date)“.

#### Anmerkung

Falls der Barcode auf der Kartusche sich nicht einscannen lässt, wiederholen Sie den Test mit einer neuen Kartusche. Falls Sie den Kartuschen-Barcode in der Software gescannt haben und die Assay-Definitionsdatei (ADF) nicht verfügbar ist, erscheint ein Bildschirm mit der Meldung, dass die Assay-Definitionsdatei (ADF) nicht im System geladen ist. Wenn dieser Bildschirm erscheint, wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Cepheid.

7. Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)**. Geben Sie im Dialogfeld, das sich daraufhin öffnet, falls erforderlich Ihr Kennwort ein.
8. Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Leuchte und laden Sie die Kartusche.
9. Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Leuchte hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, erlischt die Leuchte.
10. Warten Sie, bis das System die Klappenverriegelung freigegeben hat, und öffnen Sie anschließend die Modulklappe. Entfernen Sie dann die Kartusche.
11. Verbrauchte Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken der jeweiligen Einrichtung in einem geeigneten Proben-Abfallbehälter entsorgt werden.

## 12 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

In diesem Abschnitt sind die grundsätzlichen Schritte für Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse aufgelistet. Detailliertere Anweisungen zum Anzeigen und Ausdrucken von Ergebnissen sind im *GeneXpert Dx System Operator Manual* zu finden.

1. Klicken Sie auf das Symbol **Ergebnisse anzeigen (View Results)**, um die Ergebnisse anzuzeigen.
2. Nach Durchführen des Tests klicken Sie auf die Schaltfläche **Bericht (Report)** im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)**, um eine Berichtdatei im PDF-Format anzuzeigen bzw. zu erstellen.

## 13 Qualitätskontrolle

Jeder Test umfasst eine endogene Kontrolle (ABL) und eine Sondenprüfungskontrolle (PCC).

**Endogene ABL-Kontrolle** – Die endogene ABL-Kontrolle prüft, ob beim Test eine ausreichende Menge Probe verwendet wird. Ferner wird mit dieser Kontrolle auch eine durch die Probe verursachte Inhibition des Real-Time-PCR-Tests detektiert. Die ABL-Kontrolle ist erfolgreich, wenn sie die zugewiesenen Akzeptanzkriterien erfüllt.

**Sondenprüfungskontrolle (PCC)** – Vor Beginn der PCR-Reaktion verifiziert das GeneXpert-System anhand des gemessenen Fluoreszenzsignals der Sonden die Rehydrierung der Kügelchen und die Füllung des Reaktionsbehälters und prüft, ob alle Reaktionskomponenten in der Kartusche funktionsfähig sind. Die PCC ist erfolgreich, wenn sie die zugewiesenen Akzeptanzkriterien erfüllt.

## 14 Interpretation der Ergebnisse

Xpert BCR-ABL Ultra p190 quantitative Ergebnisse werden als prozentuales Verhältnis von BCR-ABL1 p190/ABL1 angegeben. Beispiele für mögliche Ergebnisse und Auswertungen sind in Tabelle 1 dargestellt.

**Tabelle 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Mögliche Ergebnisse und Interpretation**

Sondenprüfung*	ABL-Ct*	e1a2-Ct*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 Testergebnis	Anmerkungen		
BEST. (PASS)	BEST. (PASS)	POS. (POS)	<b>BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN</b> [#,## %] (BCR-ABL p190 DETECTED [#.##%])	Berechnetes %-Verhältnis ist angegeben. Siehe Abbildung 2.		
			<b>BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Unter LoD; &lt; 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD;&lt;0.0065%])</b>	Berechnetes %-Verhältnis liegt unter der Nachweisgrenze und ist nicht angegeben. Siehe Abbildung 3.		
			<b>BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])</b>	Berechneter %-Wert liegt über der Quantifizierungsgrenze und ist nicht angegeben. Siehe Abbildung 4.		
	NICHT BESTANDEN (FAIL)	NEG. (NEG)	NEG. (NEG)	<b>BCR-ABL p190 NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])</b>	e1a2-Ct ist gleich null oder liegt über der Akzeptanzschwelle. Siehe Abbildung 5.	
				UNGÜLTIG (INVALID)	<b>UNGÜLTIG [BCR-ABL-p190-Transkript zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])</b>	e1a2-Ct liegt unter der Akzeptanzschwelle.
					<b>UNGÜLTIG [Kein ABL-Transkript] (INVALID [No ABL transcript])</b>	ABL-Ct-Wert ist gleich null. Kein ABL nachgewiesen. Siehe Abbildung 6.
					<b>UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])</b>	ABL-Ct liegt über der Akzeptanzschwelle. Siehe Abbildung 7.
	UNGÜLTIG (INVALID)	UNGÜLTIG (INVALID)	<b>UNGÜLTIG [ABL-Transkript zu hoch] (INVALID [Too high ABL transcript])</b>	ABL-Ct liegt unter der Akzeptanzschwelle.		
<b>UNGÜLTIG [BCR-ABL-p190- und ABL-Transkripte zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])</b>			Sowohl e1a2 als auch die ABL-Ct-Werte liegen unter den Akzeptanzschwellen. Siehe Abbildung 8.			
<b>FEHLER (ERROR)</b>			Die Sondenprüfungskontrolle hat die Akzeptanzkriterien nicht erfüllt. Siehe Abbildung 9.			
NICHT BESTANDEN (FAIL)	BESTANDEN (PASS) oder NICHT BESTANDEN (FAIL)	POS. (POS), NEG. (NEG), oder UNGÜLTIG (INVALID)				

\* Einzelheiten finden Sie auf der Registerkarte „Analyt-Ergebnisse“ in der Software für das GeneXpert Dx System

### Anmerkung

GeneXpert-Systeme berechnen die Ergebnisse automatisch auf der Grundlage der vom Test generierten Werte des *Zyklussschwellenwerts (cycle threshold)(Ct)* und der chargenspezifischen, während der Herstellung zugewiesenen Parameter. Die Software wendet den folgenden Algorithmus an, in dem der  $\Delta Ct$  (Delta Ct)-Wert die Differenz von ABL-Ct minus BCR-ABL-p190-Ct ist, und Effizienz (*E*) und Skalierungsfaktor (*SF*) chargenspezifische Werte sind:

$$\text{Prozentuales Verhältnis} = \text{Effizienz}^{\Delta Ct} \times \text{Skalierungsfaktor} \times 100$$

### Anmerkung

Mithilfe der Effizienz- und Skalierungsfaktorwerte wird die Quantifizierung anhand der Anzahlen von Kopien von Primärstandards kalibriert, die aus *in vitro* transkribierter RNA (IVT-RNA) von synthetischen BCR-ABL1-p190(e1a2)- und ABL1-Transkripten besteht. Effizienz- und Skalierungsfaktorwerte sind im Barcode aller Kartuschen codiert. Datenblätter mit Chargenspezifikationen sind über den technischen Kundendienst von Cepheid erhältlich.

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

Bei einem Ergebnis „**BCR-ABL p190 ERMITTELT [#,#] % (BCR-ABL p190 DETECTED [#.#]%)**“ ist BCR-ABL p190 mit einem BCR-ABL-p190-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich dem Grenzwert „32“ sowie einem ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich „18“ nachweisbar.

**Beispiel:** ABL-Ct = 11,4; BCR-ABL-p190-Ct = 15,6;  $\Delta Ct = -4,2$   
 Chargenspezifischer  $E_{\Delta Ct} = 2,05$ ;  $SF = 1,76$   
 $\%$ -Verhältnis =  $2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63 \%$

**Ergebnis:** **BCR-ABL p190 ERMITTELT [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])**. Siehe Abbildung 2.

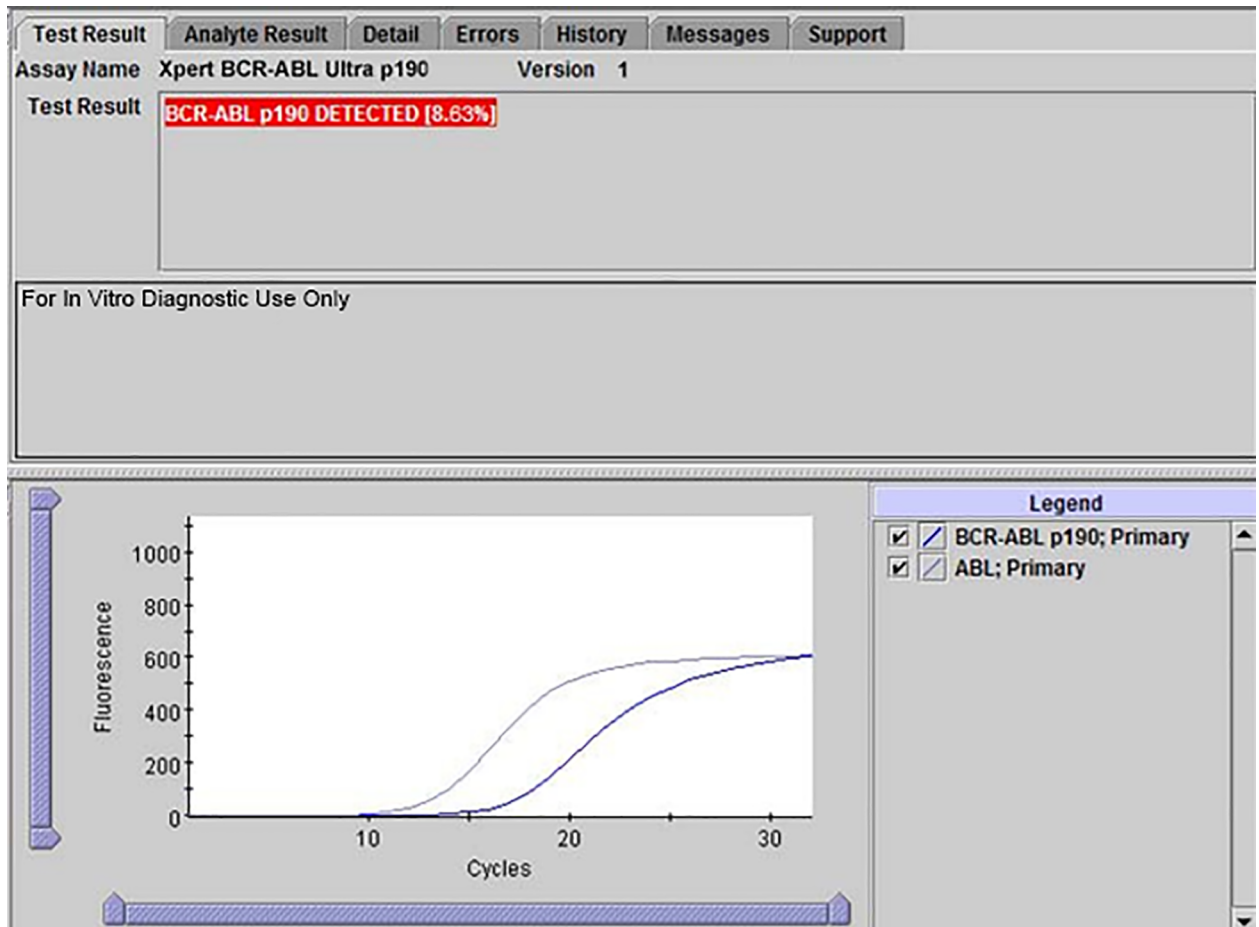


Abbildung 2. GeneXpert Dx Fenster „Ergebnisse anzeigen“: BCR-ABL p190 ERMITTELT [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])

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

BCR-ABL p190 wurde bei einer Konzentration < 0,0065 % nachgewiesen.

Bei einem Ergebnis „**BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Unter LoD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; 0.0065%])**“ ist BCR-ABL p190 mit einem BCR-ABL-p190-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich dem Grenzwert „32“ sowie einem ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich „18“ nachweisbar.

**Beispiel:** ABL-Ct = 10,1; BCR-ABL-p190-Ct = 24,8;  $\Delta Ct = -14,8$   
 Chargenspezifische  $E_{\Delta Ct} = 2,05$ ;  $SF = 1,76$   
 $\%$ -Verhältnis =  $2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044 \%$  ist kleiner als die im Test festgelegte LoD bei 0,0065 %

**Ergebnis:** **BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Unter LoD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD;<0.0065%])**. Siehe Abbildung 3.

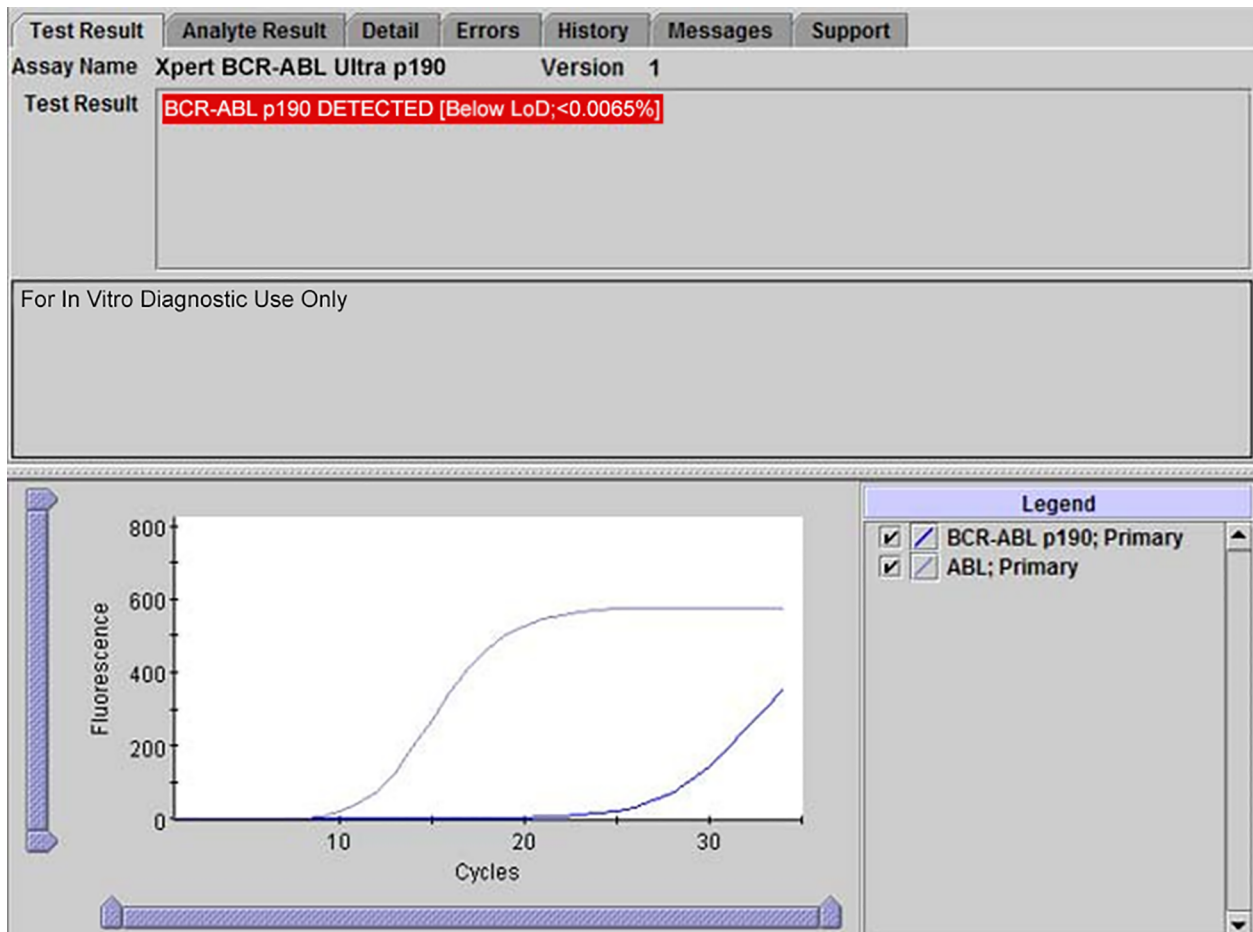


Abbildung 3. GeneXpert Dx Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“: BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Unter LoD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

### 14.3 BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

BCR-ABL p190 wurde bei einer Konzentration von > 25 % nachgewiesen.

Bei einem Ergebnis „**BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**“ ist BCR-ABL p190 mit einem BCR-ABL-p190-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich dem Grenzwert „32“ sowie einem ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich „18“ nachweisbar.

**Beispiel:** ABL-Ct = 17,2; BCR-ABL-p190-Ct = 18,7;  $\Delta Ct = -1,6$   
 Chargenspezifische  $E_{\Delta Ct} = 2,05$ ;  $SF = 1,76$   
 $\%$ -Verhältnis =  $2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6 \%$  ist größer als die im Test festgelegte obere LoQ bei 25 %

**Ergebnis:** **BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])** . Siehe Abbildung 4.

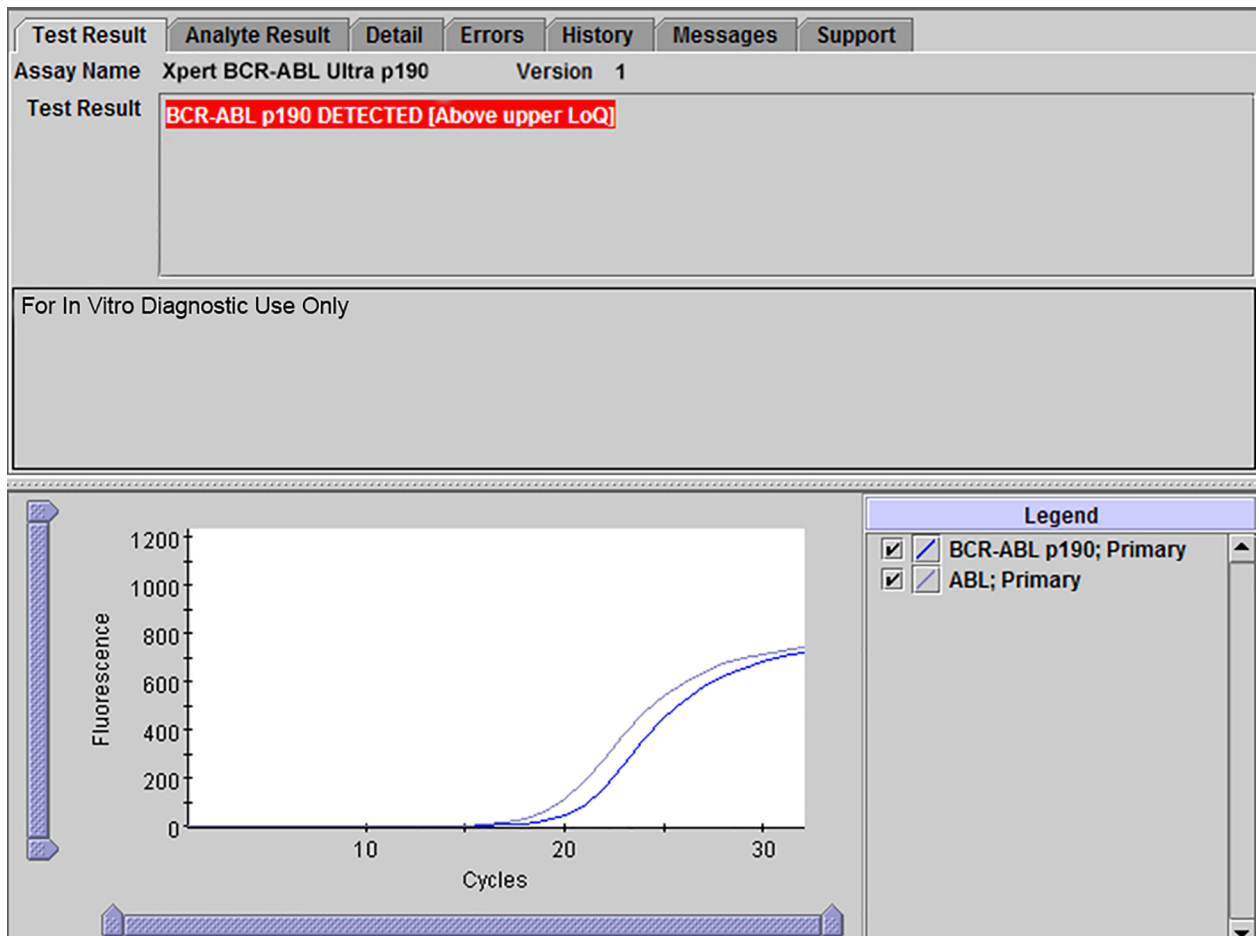


Abbildung 4. GeneXpert DxFenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“: BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

## 14.4 BCR-ABL p190 NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 wurde mit einem BCR-ABL-p190-Ct gleich „0“ oder größer als der Grenzwert „32“ und einem ABL-Ct größer „8“ und kleiner oder gleich „18“ nicht nachgewiesen.

Wenn BCR-ABL p190 mit einem BCR-ABL-p190-Ct gleich „0“ oder größer als der Grenzwert „32“ nicht nachweisbar ist, sucht die GeneXpert-Software zunächst nach dem ABL-Ct, um zu prüfen, ob der ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich „18“ ist, um sicherzustellen, dass „ABL-Transkript ausreichend“ gilt. Siehe Tabelle 2.

**Beispiel:** BCR-ABL-p190-Ct = 0; ABL-Ct = 11,6 ist kleiner als „18“.

**Ergebnis:** **BCR-ABL p190 NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Siehe Abbildung 5.

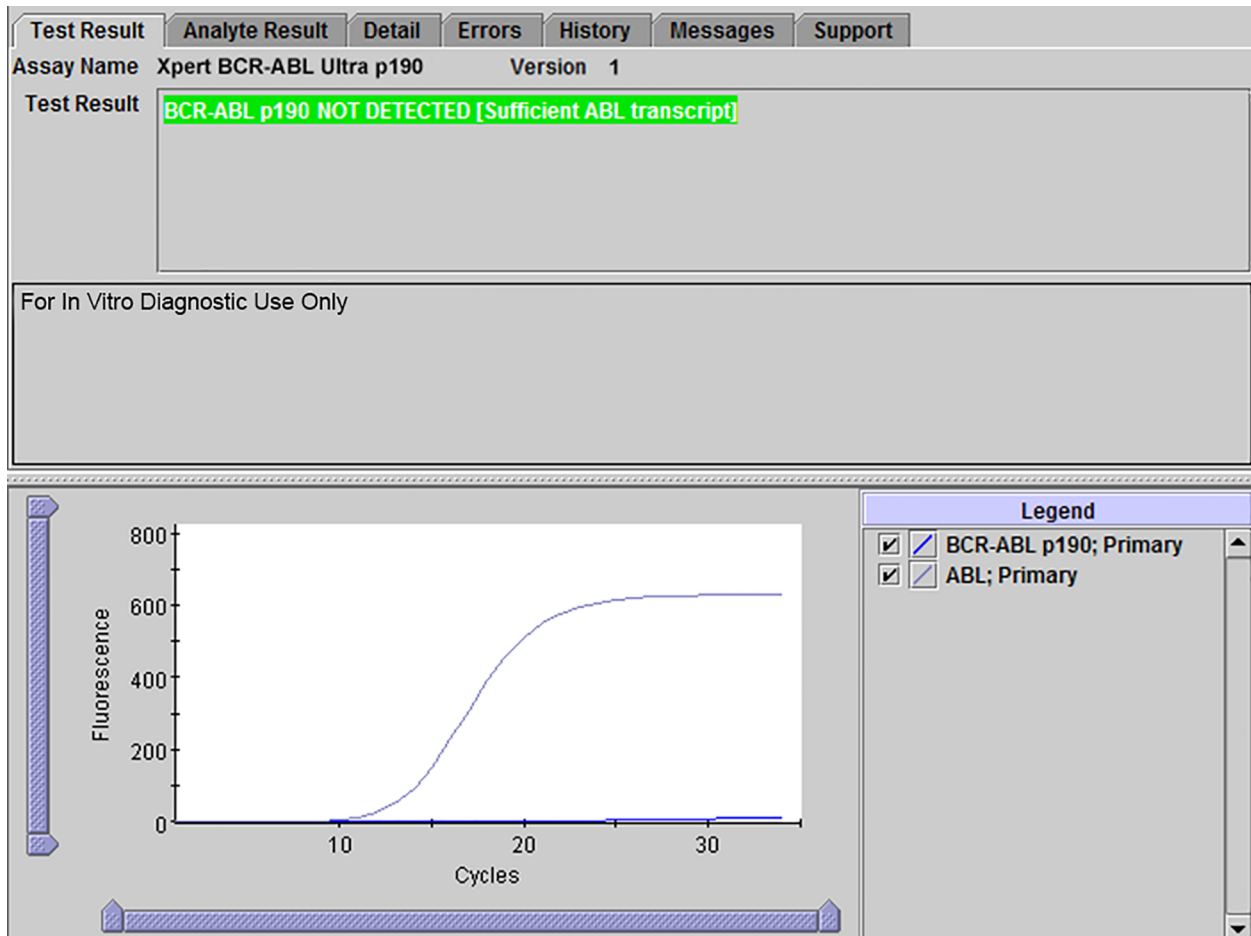


Abbildung 5. GeneXpert Dx Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“: **BCR-ABL p190 NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**



## 14.5 UNGÜLTIG [Kein ABL-Transkript] (INVALID [No ABL transcript])

BCR-ABL p190 wurde mit einem ABL-Ct gleich „0“ nicht nachgewiesen.

Wenn BCR-ABL p190 nachgewiesen oder nicht nachgewiesen wird, sucht die GeneXpert-Software zunächst nach dem ABL-Ct, um zu prüfen, ob der ABL-Ct kleiner oder gleich „18“ ist, um sicherzustellen, dass „ABL-Transkript ausreichend“ gilt. Siehe Abschnitt 16, „Anleitung zur Fehlerbehebung“.

**Beispiel:** BCR-ABL-p190-Ct = 0; ABL-Ct = 0.

**Ergebnis:** **UNGÜLTIG [Kein ABL-Transkript] (INVALID [No ABL transcript])**. Siehe Abbildung 6.

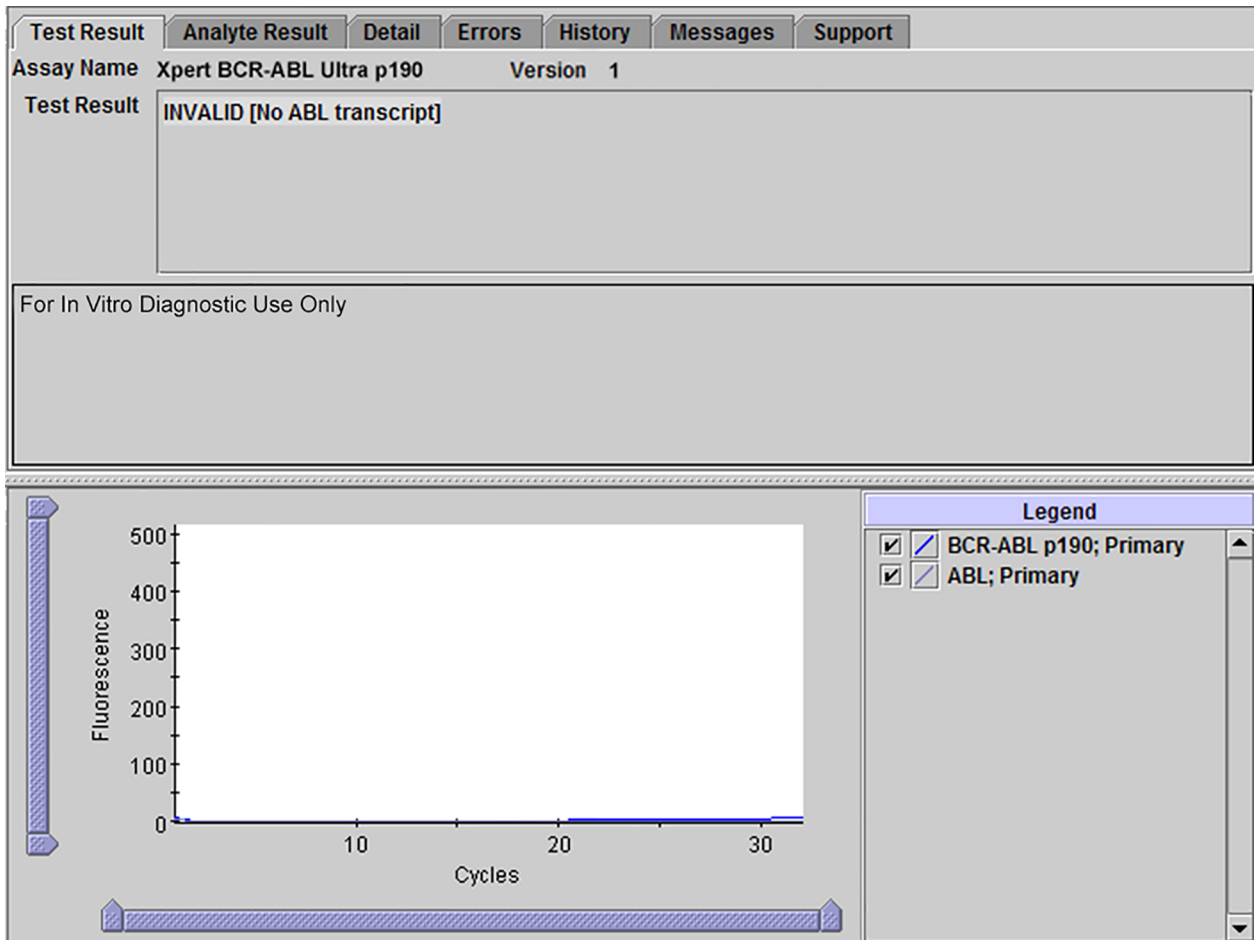


Abbildung 6. GeneXpert Dx Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“: UNGÜLTIG [Kein ABL-Transkript] (INVALID [No ABL transcript])

## 14.6 UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 wurde mit einem ABL-Ct größer „18“ nicht nachgewiesen.

Wenn BCR-ABL p190 nachgewiesen oder nicht nachgewiesen wird, sucht die GeneXpert-Software zunächst nach dem ABL-Ct, um zu prüfen, ob der ABL-Ct kleiner oder gleich „18“ ist, um sicherzustellen, dass „ABL-Transkript ausreichend“ gilt. Siehe Abschnitt 16, „Anleitung zur Fehlerbehebung“.

**Beispiel:** BCR-ABL-p190-Ct = 31,2; ABL-Ct = 28 ist größer als „18“.

**Ergebnis:** **UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).**  
Siehe Abbildung 7.

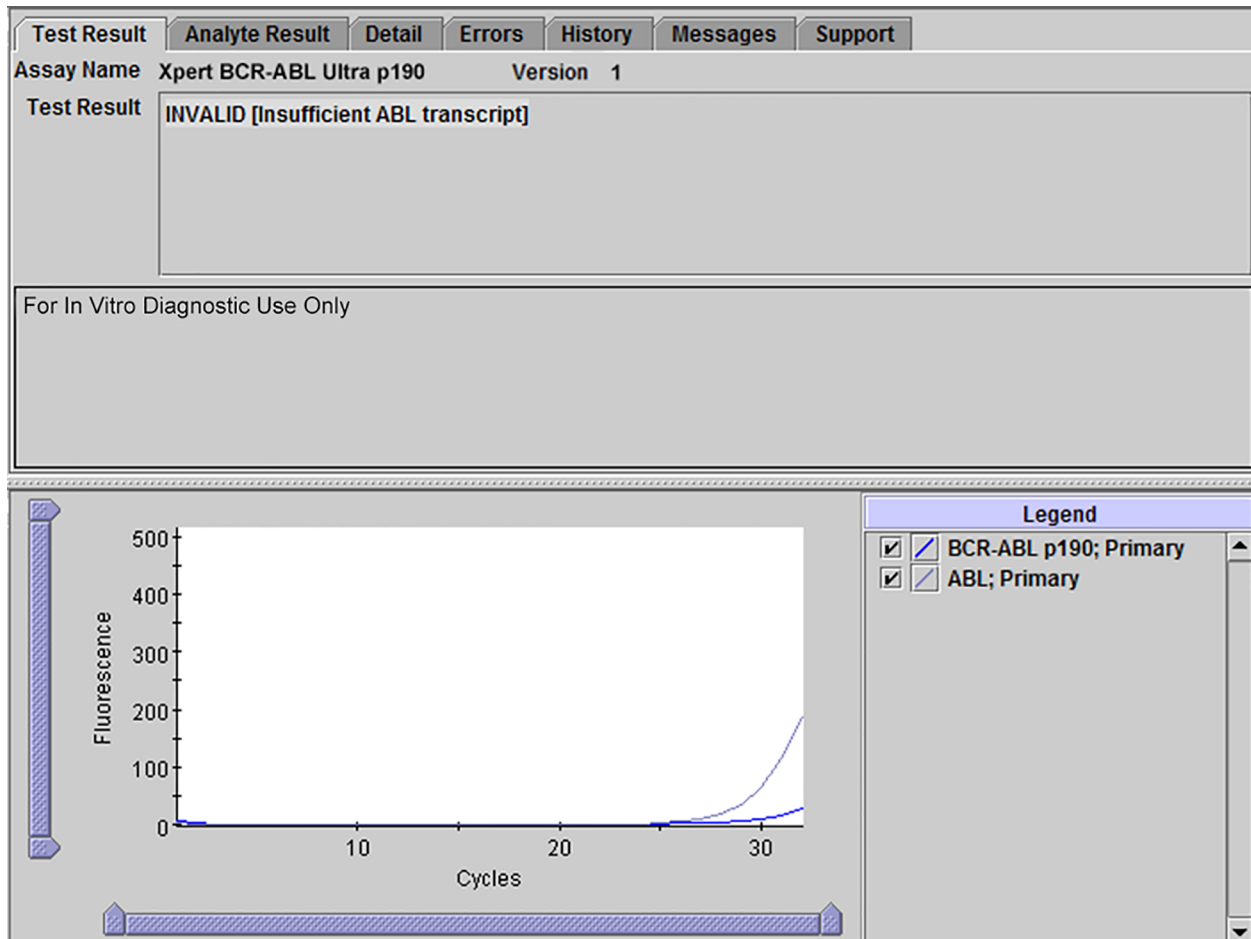


Abbildung 7. GeneXpert Dx Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“:  
UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

## 14.7 UNGÜLTIG [BCR-ABL-p190- und ABL-Transkripte zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL and ABL transcripts])

BCR-ABL p190 wurde sowohl mit einem BCR-ABL p190-Ct als auch mit einem ABL-Ct kleiner als „8“ nachgewiesen.

Wenn BCR-ABL p190 nachgewiesen oder nicht nachgewiesen wird, sucht die GeneXpert-Software zunächst nach dem ABL-Ct, um zu prüfen, ob der ABL-Ct kleiner oder gleich „18“ ist, um sicherzustellen, dass „ABL-Transkript ausreichend“ gilt. Siehe Abschnitt 16, „Anleitung zur Fehlerbehebung“.

**Beispiel:** BCR-ABL-p190-Ct = 7,9; ABL-Ct = 7,6 ist kleiner als „8“.

**Ergebnis:** **UNGÜLTIG [BCR-ABL-p190- und ABL-Transkripte zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts]).** Siehe Abbildung 8.

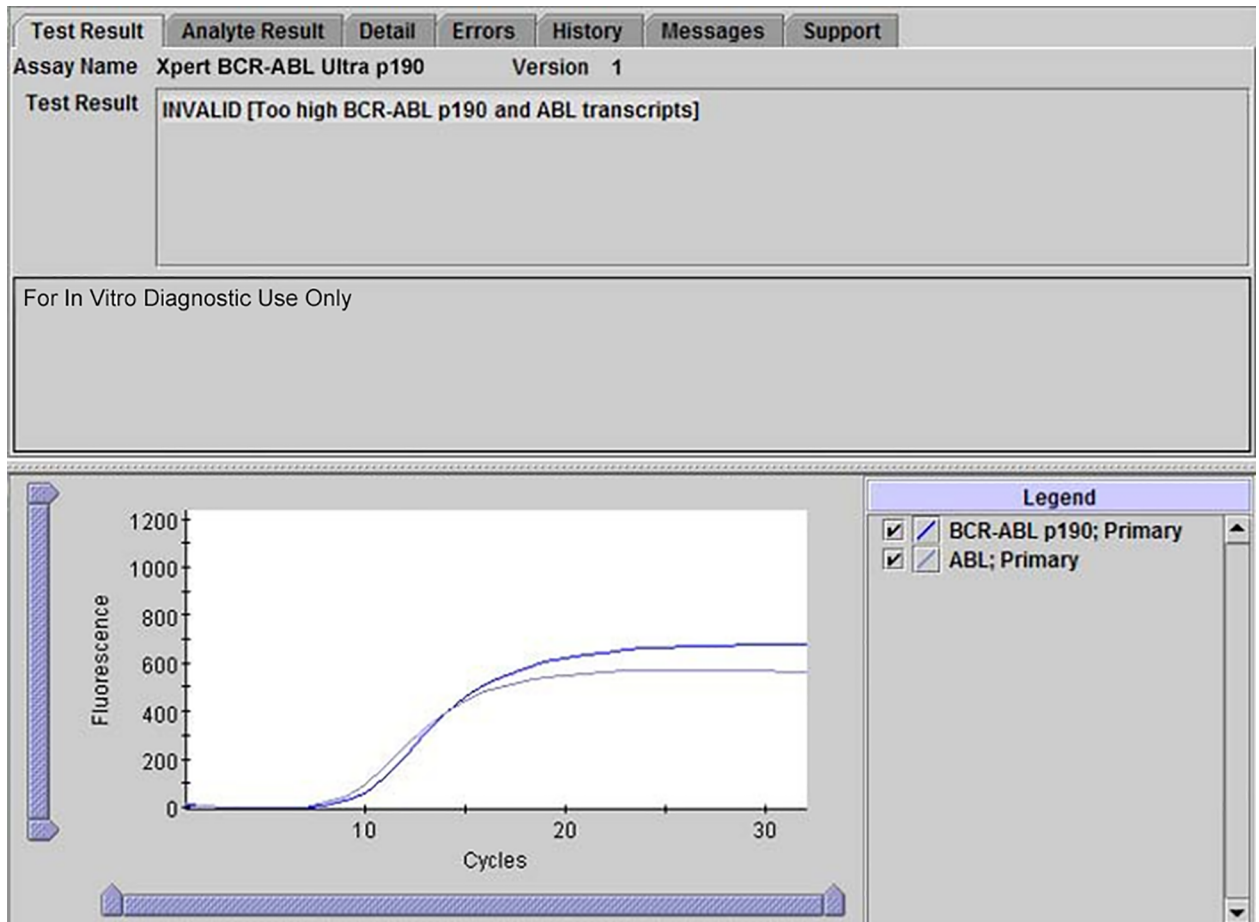


Abbildung 8. GeneXpert Dx Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“: UNGÜLTIG [BCR-ABL-p190- und ABL-Transkripte zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL and ABL transcripts])

## 14.8 FEHLER (ERROR)

The screenshot shows the GeneXpert Dx software interface. At the top, there are several tabs: 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Errors', 'History', 'Messages', and 'Support'. The 'Test Result' tab is currently selected. Below the tabs, the 'Assay Name' is 'Xpert BCR-ABL Ultra p190' and the 'Version' is '1'. The 'Test Result' field displays 'ERROR' in yellow text. Below this, there is a section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only'. At the bottom of the interface, a large grey area contains the text '<No Data Available>'.

Abbildung 9. GeneXpert Dx Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“: FEHLER (ERROR)

## 15 Einschränkungen

- Das Produkt ist nur für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Der Test ist nicht zur Verwendung mit externen Kalibratoren bestimmt.
- Der Test ist weder für die Bestimmung des Absetzens einer TKI-Behandlung noch für das Monitoring nach dem Absetzen indiziert.
- Die Leistungsfähigkeit des Xpert BCR-ABL Ultra p190-Tests wurde ausschließlich anhand der Verfahren evaluiert, die in dieser Gebrauchsanweisung beschrieben sind. Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Leistung des Tests beeinträchtigen.
- Dieses Produkt wurde für in EDTA-Röhrchen entnommenes Blut validiert.
- Kein Heparin als Antikoagulans verwenden, da es die PCR-Reaktion hemmen kann.
- Die Probenotypen Natriumcitrat (NaCitrat), Buffy-Coat und Knochenmark wurden nicht validiert.
- Zu fehlerhaften Testergebnissen kann es kommen, wenn die Probe unsachgemäß entnommen, gehandhabt oder gelagert wurde oder Proben verwechselt wurden. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanweisung ist notwendig, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden.
- Der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Test ist ausschließlich zum Nachweis des BCR-ABL-p190-Fusionstranskripts e1a2 vorgesehen. Die Fähigkeit zum Nachweis anderer Fusionstranskripte über die in der Gebrauchsanweisung angegebenen hinaus wurde bislang nicht untersucht. Der Test kann Minor- bzw. Mikro-Breakpoints oder Mikrodeletionen bzw. -mutationen nicht nachweisen.
- Der Xpert BCR-ABL Ultra p190 ist nicht zum Nachweis von e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) oder anderen Minor-Translokationen vorgesehen, die möglicherweise in einer Peripherblutprobe eines Leukämiepatienten enthalten sind.
- Bei manchen Proben mit sehr hoher Leukozytenzahl (über 30 Millionen Zellen/ml) gibt der Xpert BCR-ABL Ultra p190 unter Umständen aufgrund einer zu hohen BCR-ABL-p190- oder ABL-Konzentration in der Probe das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** (Typ 2) aus. Weitere Informationen sind Tabelle 2 zu entnehmen.

- Manche Proben mit sehr niedriger ABL-Transkript-Konzentration oder mit einer Leukozytenzahl unter 150.000 Zellen/ml können als **UNGÜLTIG (INVALID)** (Typ 1) ausgegeben werden. Ein unbestimmtes Ergebnis schließt nicht aus, dass bei dem Patienten Leukämiezellen in sehr niedriger Konzentration vorhanden sind.
- Das CML-p230-Transkript mit dem Mikro-Breakpoint e19a2 kann als BCR-ABL-positives Ergebnis unter der LoD des Tests (0,0065 %) ausgegeben werden, wenn bei hohen Zielwerten (> 3,52 Logs über LoD) getestet wird.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer und Sonden bindenden Regionen wirken sich eventuell auf den Nachweis von neuen oder unbekanntem Varianten aus und können falsch negative Ergebnisse verursachen.
- Bei manchen Patienten mit sehr geringer BCR-ABL1-Transkript-Konzentration (d. h. unter LoD 0,0065 %) wird eventuell das Ergebnis **BCR-ABL p190 NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])** ausgegeben. Ein Ergebnis ohne Nachweis schließt daher nicht aus, dass bei dem Patienten Leukämiezellen in niedriger Konzentration vorhanden sind.
- Der Test ist für die Verwendung auf dem GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI) validiert.

## 16 Anleitung zur Fehlerbehebung

Tabelle 2. Anleitung zur Fehlerbehebung

Testergebnis	Mögliche Ursachen	Lösungsvorschläge
<b>UNGÜLTIG (INVALID)</b>	Typ 1: Fehler der endogenen Kontroll-ABL: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Schlechte Probenqualität</li> <li>• RT-PCR-Hemmung</li> <li>• Falls ABL-Ct &gt; 18 und/oder Endpunkt &lt; 200</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Überprüfen Sie die Qualität der Probe (z. B. Nichteinhaltung der Lagerbedingungen einschließlich Zeit und Temperatur).</li> <li>• Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 17.1, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1), erläutert.</li> </ul>
	Typ 2: Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden, da die Probe zu viele BCR-ABL-p190- bzw. ABL-Transkripte enthält (Ct < 8)	Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 17.2, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2), erläutert.
<b>FEHLER (ERROR)</b> (Code 2008)	Der Druck übersteigt den zulässigen Wert (Fehlermeldung 2008)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Überprüfen Sie die Qualität der Probe.</li> <li>• Prüfen Sie, ob die Leukozytenzahl deutlich erhöht ist.</li> <li>• Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 17.2, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2), erläutert.</li> </ul>
<b>FEHLER (ERROR)</b> (Codes 5006, 5007, 5008 und 5009) <sup>a</sup>	Sondenprüfung fehlgeschlagen	Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 17.1, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1), erläutert.

Testergebnis	Mögliche Ursachen	Lösungsvorschläge
<b>KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)</b>	Datenerfassungsfehler. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen.	Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 17.1, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1), erläutert.

<sup>a</sup> Diese Liste der Fehlercodes ist nicht vollständig.

## 17 Wiederholungstests

### 17.1 Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1)

Proben bei den Ergebnissen **FEHLER (ERROR)** oder **UNGÜLTIG (INVALID)** erneut testen, wenn als Ursache der ABL-Zyklusschwellenwert (Cycle Threshold, Ct) den maximalen gültigen Ct-Grenzwert ( $Ct > 18$ ) überschreitet oder der Endpunkt unterhalb des eingestellten Schwellenwerts ( $< 200$ ) liegt. Siehe auch Tabelle 2.

#### 1. Blutprobenvolumen ermitteln:

- Falls ein *ausreichendes* Volumen der Blutprobe vorhanden ist, den Test mit dem Entnahmeröhrchen mit Originalblutprobe wiederholen, wie in Abschnitt 11.2.1 erläutert.
- ODER-
- Falls *kein ausreichendes* Volumen der Blutprobe vorhanden ist, kann der Test mit dem zurückbehaltenen Lysat aus Abschnitt 11.2.1, Schritt 12, wiederholt werden.
  - a. Wird das zurückbehaltene Lysat aus Abschnitt 11.2.1, Schritt 12, eingefroren aufbewahrt, muss es vor Gebrauch auf Zimmertemperatur aufgetaut werden.
  - b. Sicherstellen, dass das Lysat gut vermischt ist, indem die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischt wird. Dann das Lysat 3 Minuten lang beiseite stellen, damit sich die Blasen absetzen können. Mit Schritt 2 fortfahren.

2. 1 ml zurückbehaltenes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen.
3. Dem neuen konischen Röhrchen mit Lysat 1,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben.
4. Das endgültige Lysat gemäß den Schritten 14–17 in Abschnitt 11.2.1 zubereiten.
5. Die Kartusche durch Anheben des Kartuschendeckels öffnen und die Ampulle mit Waschreagenz (1) vollständig in die Waschreagenzkammer (mit der kleinen Öffnung) transferieren. Siehe Abbildung 1.
6. Die vorbereitete Probe vollständig in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren. Siehe Abbildung 1.
7. Den Kartuschendeckel schließen. Den Test einleiten (siehe Abschnitt 11.4).

### 17.2 Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2)

Proben mit einer BCR-ABL- bzw. ABL-Transkript-Konzentration unter dem gültigen Ct-Cut-off-Minimum ( $Ct < 8$ ) und/oder bei Überschreitung des Druckgrenzwerts erneut testen. Siehe auch Tabelle 2.

#### 1. Auf den Boden eines neuen konischen 50-ml-Röhrchens 100 µl PK (Proteinase K) hinzufügen.

#### 2. Blutprobenvolumen ermitteln:

- Falls ein *ausreichendes* Volumen der Blutprobe vorhanden ist, den Test mit dem Entnahmeröhrchen mit Originalblutprobe wiederholen. Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem das Blutentnahmeröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8 Mal invertiert wird. Mit Schritt 3 fortfahren.
- ODER-
- Falls *kein ausreichendes* Volumen der Blutprobe vorhanden ist, kann der Test mit dem zurückbehaltenen Lysat aus Abschnitt 11.2.1, Schritt 12, wiederholt werden.

- a. Wird das zurückbehaltene Lysat aus Abschnitt 11.2.1, Schritt 12, eingefroren aufbewahrt, muss es vor Gebrauch auf Raumtemperatur aufgetaut werden. Wird gekühltes Lysat verwendet, muss es vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.
  - b. Sicherstellen, dass das Lysat gut vermischt ist, indem die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischt wird. Dann das Lysat 3 Minuten lang beiseite stellen, damit sich die Blasen absetzen können. Mit Schritt 3 fortfahren.
3. Dem Röhrchen mit Proteinase K 50 µl der Originalblutprobe (sofern vorhanden) oder 80 µl des zurückbehaltenen Lysats aus Abschnitt 11.2.1, Schritt 12, hinzugeben.
  4. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen.
  5. 1 Minute lang bei Raumtemperatur inkubieren.
  6. Das endgültige Lysat gemäß den Schritten 6–13 in Abschnitt 11.2.2 zubereiten.
  7. Die Kartusche durch Anheben des Kartuschendeckels öffnen und die Ampulle mit Waschreagenz (1) vollständig in die Waschreagenzkammer (mit der kleinen Öffnung) transferieren. Siehe Abbildung 1.
  8. Die vorbereitete Probe vollständig in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren. Siehe Abbildung 1.
  9. Den Kartuschendeckel schließen. Den Test einleiten (siehe Abschnitt 11.4).

## 18 Erwartete Werte

Der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Bereich deckt die wichtigsten klinischen Entscheidungspunkte zum Monitoring von CML und ALL. Erwartete Werte werden als prozentuales Verhältnis von BCR-ABL-p190-mRNA (e1a2) zu ABL-mRNA ausgedrückt und liegen zwischen 0,0065 % und 25 %. Messungen unter diesem Bereich werden als „nicht nachgewiesen“ oder „unter der Nachweisgrenze (LoD)“ ausgegeben. Messungen über diesem Bereich werden als „über der Quantifizierungsgrenze“ (LoQ) ausgegeben. Siehe Abschnitt 14 für Details.

## 19 Klinische Leistung

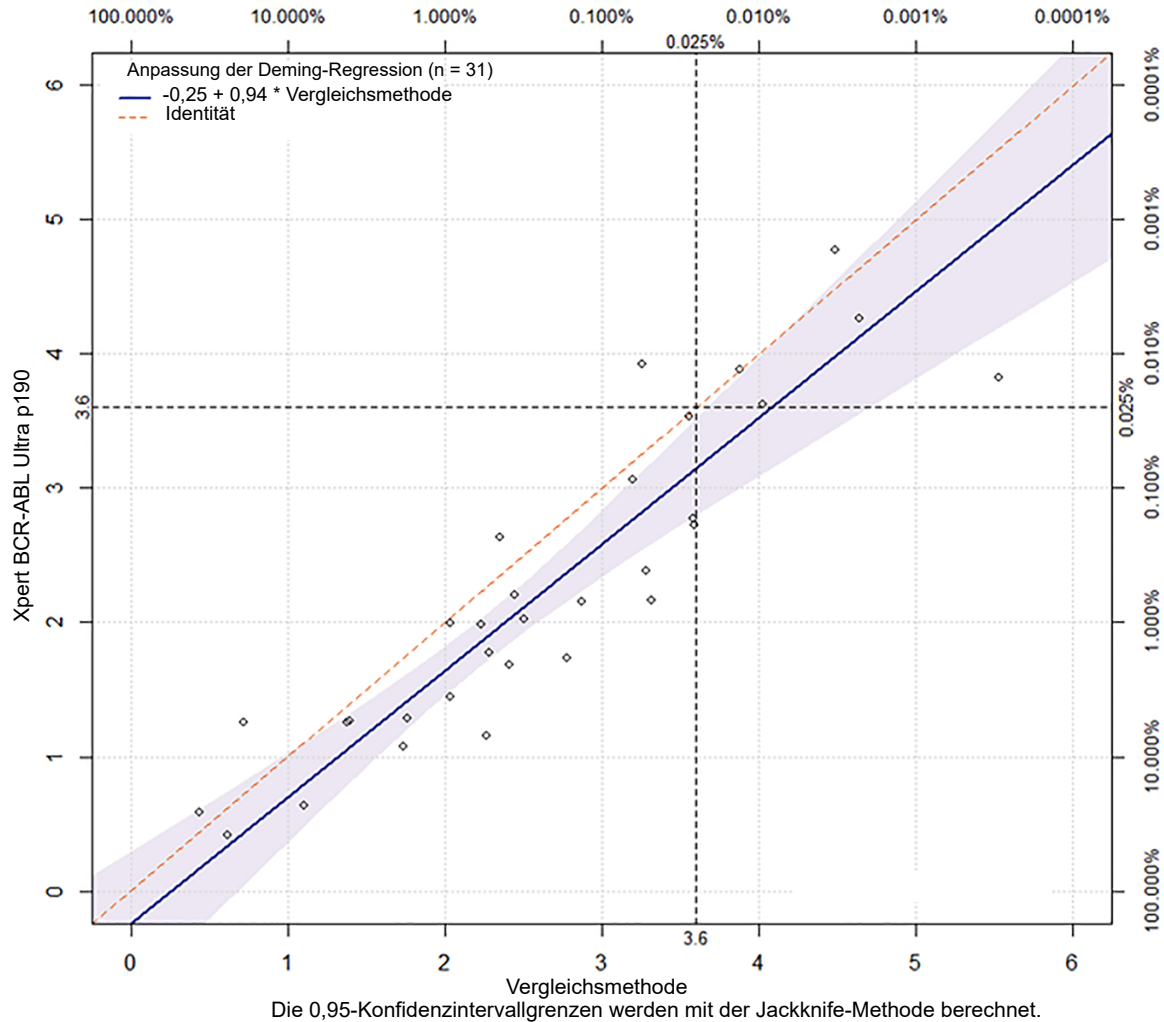
Die klinische Leistung des Xpert BCR-ABL Ultra p190-Tests wurde im Rahmen einer multizentrischen klinischen Studie an drei Einrichtungen in den USA evaluiert. Die Studie wurde unter Verwendung von prospektiv entnommenen Proben mit EDTA-Peripherblut (PB) von Patient/innen mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) und chronischer myeloischer Leukämie (CML) während des Monitorings der Behandlung durchgeführt. Zudem umfasste die Studie als gefrorene klinische Lysate aufbewahrte Probenreste, die aus EDTA-Peripherblut aus derselben Patientenpopulation zubereitet wurden. Die Leistung des Xpert BCR-ABL Ultra p190-Tests wurde mit der eines molekularen Tests verglichen, der die mRNA-Transkripte für die p190[t(9;22)(q34;q11)]-positiven CML- und ALL-Patient/innen mit Expression des BCR-ABL1-Fusionstranskripts Typ e1a2 nachweist und quantifiziert, und ABL als mRNA-Transkript der endogenen Kontrolle verwendet.

Es wurden insgesamt 47 Proben in die Studie aufgenommen. Von diesen 47 Proben lieferten 9 eine RNA-Konzentration < 100 ng/ml und wurden von der Analyse ausgeschlossen. Insgesamt 9 Proben wurden ausgeschlossen, sodass im endgültigen Datensatz 38 Proben übrig blieben. Es ist wichtig zu beachten, dass alle ausgeschlossenen 9 Proben gültige Xpert BCR-ABL Ultra p190-Testergebnisse geliefert haben.

Für die 38 in diese Studie aufgenommenen Proben wurden Alter und Geschlecht erfasst. Die Proben wurden von 25 Männern (65,8 %) und 13 Frauen (34,2 %) entnommen. Alle Proben stammten von Patient/innen in einem Alter zwischen 20 und 88 Jahren, deren Durchschnittsalter bei 54,5 Jahren lag. Dreiundzwanzig (61 %) Proben wurden von Patient/innen entnommen, bei denen ALL diagnostiziert wurde, und 15 (39 %) Proben wurden von Patient/innen entnommen, bei denen CML diagnostiziert wurde.

Von den 38 geeigneten Proben wurden sieben (7) Proben von der Deming-Regression ausgeschlossen, da sie bei mindestens einem der Tests negativ waren. Einunddreißig Proben, die innerhalb der quantitativen Bereiche beider Tests lagen, wurden in die Deming-Regressionsanalyse aufgenommen.

Die Deming-Regressionsanalyse für die Ergebnisse des prozentualen Verhältnisses (PR) zeigt eine gute Korrelation zwischen dem Xpert BCR-ABL Ultra p190 und den Messungen der Vergleichsmethode in Bezug auf die PR-Messung. Der Achsenabschnitt lag bei 0,01 und der Anstieg lag bei 1,08; beide Werte erfüllten die Akzeptanzkriterien. Der Pearson-Korrelationskoeffizient  $r$  betrug 0,814. Zur Normalisierung der PR-Datenverteilung wurde eine Log-Reduktion (LR) durchgeführt. Es wurde eine Deming-Regressionsanalyse mit LR-Messungen durchgeführt, die in Abbildung 10 unten dargestellt ist.



**Abbildung 10. Deming-Regression für LR**

Abbildung 10 zeigt eine hohe Korrelation zwischen Xpert BCR-ABL Ultra p190 und Tests der Vergleichsmethode für LR-Messungen. Die Deming-Regression hat einen Anstieg von 0,94 und einen Achsenabschnitt von -0,25. Die Ergebnisse der Deming-Regression für die LR-Werte erfüllten zudem das Akzeptanzkriterium für den Achsenabschnitt und den Anstieg. Die Gesamtkorrelation (Pearson)  $r$  war mit 0,904 hoch.

Die positive vorhergesagte Verzerrung von 0,01 bei dem prozentualen Testbericht (LR: -0,39) sowie die Verteilung weisen darauf hin, dass der Xpert-Test bei den meisten Proben eine höhere Konzentration des p190-Transkripts misst als der Vergleichstest. Der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Test zeigte eine hohe Korrelation von 0,904 mit dem Vergleichstest und wies eine geringe Verzerrung mit LR-Messungen auf. Die in dieser Studie beobachtete Quote der unbestimmten Proben betrug 0 %, und das Akzeptanzkriterium für unbestimmte Proben  $\leq 5$  % wurde ebenfalls erfüllt. Der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Test zeigte gemäß dem Anstieg und dem Achsenabschnitt einer Deming-Regressionsanalyse eine akzeptable Übereinstimmung mit der Vergleichsmethode.



## 20 Analytische Leistung

### 20.1 Linearität/Dynamikumfang

Die Linearität wurde für den Minor-Breakpoint und den Breakpoint e1a2 anhand der Gesamt-RNA der ALL-SUP-B15-Zelllinie bewertet. Die Gesamt-RNA aus dem BCR-ABL-p190-Transkript wurde in einem aus ALL-negativen klinischen Proben hergestellten Hintergrundlysate in Zielbereichen von ~25 % auf 0,001 % (LR [Log-Reduktion] 0,60/LR5) verdünnt. Die Panelproben, einschließlich der negativen Konzentration, wurden mit zwei Test-Kitchargen in 4 Replikaten pro Kitcharge getestet.

Tests und statistische Auswertungen erfolgten gemäß CLSI EP06-A. Die linearen Regressionsanalysen wurden für Polynome erster, zweiter und dritter Ordnung durchgeführt. Das Ergebnis für den Breakpoint e1a2 galt als linear, wenn die Polynom-Regressionskoeffizienten nicht signifikant waren (p-Werte > 0,05). Die Kurve der linearen Regression ist in Abbildung 11 unten dargestellt.

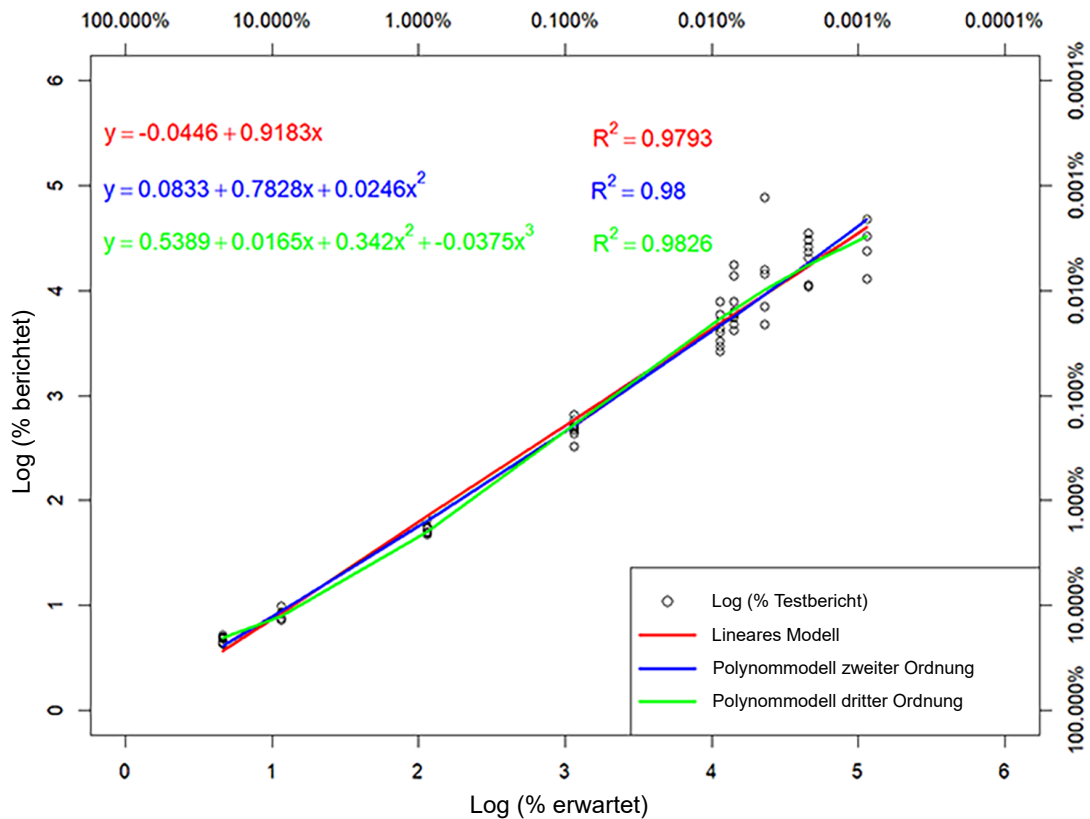


Abbildung 11. Lineare Regressionskurven für Breakpoint-Transkript e1a2

Die geschätzten Achsenabschnitte, Anstiege und R<sup>2</sup>-Werte der Regression vom linearen Modell sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3. Regressionskoeffizienten vom linearen Modell

Breakpoint	Achsenabschnitt	Anstieg	R <sup>2</sup>
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Zusammengenommen untermauern die Daten eine beobachtete Linearität von ~25 %/LR 0,60 bis 0,001 %/LR5 mit einer maximalen SA von 0,26. Der berichtbare Bereich reicht von den Grenzen der Linearität bei 25 %/LR0.6 bis zur LoQ bei 0,0065 %/LR4.19.

## 20.2 Analytische Sensitivität (Nachweisgrenze, Quantifizierungsgrenze, Leerprobengrenze)

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) für den Breakpoint e1a2 wurde durch das Testen von Serienverdünnungen von ALL-positiven klinischen Proben [ $> 10\%$ ] geschätzt. Die Daten aller Verdünnungen wurden zusammengefasst und die LoD wurde anhand der Probit-Regressionsanalyse geschätzt. Die resultierende Analyse ergab für den Breakpoint e1a2 eine geschätzte LoD von 0,0070 %.

Die LoD wurde durch Adaption der in den CLSI-Richtlinien, Dokument EP17-A2 (Tabelle 4) erläuterten nicht parametrischen Methode verifiziert. Drei eindeutige ALL-positive Proben, die den Breakpoint e1a2 repräsentierten, wurden auf eine Zielkonzentration von 0,0065 % verdünnt. Es wurden 215 Replikate von 4 Benutzern 3 Tage lang über 3 Test-Kitchargen getestet.

**Tabelle 4. Verifizierte Nachweisgrenze in %**

Breakpoint	Positive Proben/ Replikate	% der positiven Proben	Durchschnittliches %-Verhältnis
e1a2	206/215	96,0 %	0,0065 %

Die LoD des Xpert BCR-ABL Ultra p190 für e1a2 beträgt 0,0065 %.

Die Quantifizierungsgrenze (Limit of Quantitation, LoQ) wurde anhand der Daten der LoD- und Linearitätsstudien geschätzt. Mittelwert und Standardabweichung für die %-Werte BCR-ABL p190/ABL wurden für Replikate bei Konzentrationen gleich der LoD oder größer mit einer Positivität größer oder gleich 95 % berechnet. Die LoQ wird als das minimale prozentuale Verhältnis BCR-ABL p190/ABL angegeben, das zuverlässig quantifiziert werden kann und das Genauigkeitsziel des Nachweises des e1a2-Transkripts mit einer Positivität von mindestens 95 % und einer Log-Reduktion(LR)-Standardabweichung  $\leq 0,36$  LR erfüllt. Die LoQ des Tests wird durch die LoD des Tests beschränkt. Daher wurde bestimmt, dass die LoQ gleich der LoD, also 0,0065 % ist. Die Ergebnisse wurden zudem gegen die Akzeptanzkriterien für die Standardabweichung (SA)  $\leq 0,36$  LR evaluiert und entsprachen den Akzeptanzkriterien.

Die Studie zur Leerprobengrenze (Limit of Blank, LoB) wurde durchgeführt, um das höchste prozentuale Verhältnis BCR-ABL p190/ABL zu schätzen, das wahrscheinlich bei  $\geq 95\%$  der p190-negativen EDTA-Vollblutproben nachgewiesen wird. Die Test-LoB wurde aus 387 gültigen Datenpunkten in einer unzensierten, nichtparametrischen Analyse gemäß CLSI EP17-A2 bestimmt, um eine LoB von 0,00032 % für BCR-ABL p190/ABL zu schätzen.

## 20.3 Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität von Xpert BCR-ABL Ultra p190 wurde anhand der Testung von EDTA-Vollblutproben von zwanzig (20) gesunden (CML-negativen und ALL-negativen) Spendern evaluiert. Jede Probe wurde in Vierfachbestimmung getestet.

Das BCR-ABL-p190-Signal war in einem der 80 Replikate nachgewiesen, womit belegt war, dass der Xpert BCR-ABL Ultra p190-Test eine analytische Spezifität für das BCR-ABL-p190-Transkript von 98,8 % hatte.

## 20.4 Kontamination durch Verschleppung

Es wurde eine Studie durchgeführt, um nachzuweisen, dass die abgeschlossenen GeneXpert-Einmalkartuschen eine Kontamination durch Verschleppung zwischen Kartuschen, die nacheinander im selben Modul bearbeitet werden, verhindern. Um dies nachzuweisen, wurden negative Proben im Anschluss an stark positive Proben im gleichen GeneXpert-Modul bearbeitet. Diese Studie bestand aus der Bearbeitung einer normalen **NEGATIVEN** EDTA-Probe (ALL-negatives Blut) im selben GeneXpert-Modul unmittelbar nach einer hoch-**POSITIVEN** Probe (simuliertes ALL-positives Blut) mit SUP-B15-Zellen, mit denen ALL-negatives Blut versetzt wurde, um ein Verhältnis von  $\geq 10\%$  zu erhalten. Das Testschema wurde für jede Probe, beginnend und endend mit negativ, auf zwei GeneXpert-Modulen 10 Mal wiederholt, was zu 21 negativen und 20 positiven Ergebnissen pro Modul führte. Alle zwanzig positiven BCR-ABL-p190-Proben wurden korrekt als **BCR-ABL p190 NACHGEWIESEN [#,#%]** (**BCR-ABL p190 DETECTED [###%]**) angegeben, während alle einundzwanzig negativen BCR-ABL-p190-Proben korrekt als **BCR-ABL p190 NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend]** (**BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]**) angegeben wurden.

## 20.5 Potenzielle Störsubstanzen

Diese Studie evaluierte fünf Substanzen, die in EDTA-Vollblutproben vorhanden sein und die Leistung des Xpert BCR-ABL Ultra p190-Tests potenziell stören können. Die getesteten Verbindungen und Konzentrationen (siehe Tabelle 5) basierten auf der Anleitung aus CLSI-Dokument EP07-A2. Störsubstanzen wurden im Hintergrund von ALL-EDTA-Vollblutproben mit simulierten ALL-SUP-B15-Zellen getestet, die drei Konzentrationen mit fünf Proben pro Konzentration repräsentieren: > 1 %, 0,1–0,02 % und Negativ. Die Testkontrollen umfassten SUP-B15-Zellen in EDTA-Vollblut in der jeweiligen BCR-ABL-p190-Transkript-Konzentration ohne die Störsubstanz. Jede ALL-Probe wurde mit und ohne die fünf einzelnen Störsubstanzen in 4 Replikaten pro Bedingung getestet.

Eine Substanz galt als nicht störend, wenn in ihrer Anwesenheit das beobachtete Verhältnis % Mittelwert im Vergleich zur Kontrolle innerhalb der 3-fachen Differenz lag.

Bei keiner der in dieser Studie evaluierten Störsubstanzen wurde eine klinisch signifikante Hemmwirkung auf den Xpert BCR-ABL Ultra p190-Test beobachtet. Es wurden zwar bei einigen getesteten Bedingungen eine gewisse Variabilität und statistisch signifikante Unterschiede (p-Wert < 0,05) beobachtet, doch die ausgegebenen %-Verhältnisse für die Test- und Kontrollbedingungen lagen im akzeptablen 3-fachen Bereich.

**Tabelle 5. Mit dem Xpert BCR-ABL Ultra p190 getestete potenzielle Störsubstanzen**

Störsubstanzen	Getestete Konzentration
Unkonjugiertes Bilirubin	20 mg/dl
Cholesterin, insgesamt	500 mg/dl
Triglyceride, insgesamt (Lipide)	3000 mg/dl
Heparin	3500 U/l
EDTA (geringes Abnahmevermögen)	900 mg/dl

## 21 Reproduzierbarkeit und Genauigkeit

Die Reproduzierbarkeit und Genauigkeit des Xpert BCR-ABL Ultra p190-Tests wurden in einer multizentrischen Studie gemäß CLSI EP05-A3, „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline“ und CLSI EP15-A3, „User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline“ evaluiert.

Tabelle 6 zeigt ein Panel von fünf Proben, die vorbereitet und in diese Studie aufgenommen wurden.

**Tabelle 6. Reproduzierbarkeitspanel für Xpert BCR-ABL Ultra p190**

Probennr.	Beschreibung des Panels	BCR-ABL-p190-/ABL-Konzentration nachgewiesen (prozentuales Verhältnis)
1	LR1: e1a2	~10 %
2	LR2: e1a2	~1 %
3	LR3: e1a2	~0,1 %
4	LR3.7: e1a2	~0,02 %
5	Negativ	Nicht nachgewiesen

Jede der fünf Panelproben wurde an drei verschiedenen Testzentren zweimal täglich an sechs verschiedenen Tagen von jeweils zwei verschiedenen Benutzern in Doppelbestimmung getestet. Es wurden drei Chargen von Xpert BCR-ABL Ultra p190-Kits verwendet und jeder Benutzer führte Tests mit einer Charge durch (3 Testzentren x 2 Benutzer x 3 Chargen x 2 Tage (2 Tage Testung pro Kartuschencharge) x 2 Durchläufe x 2 Replikate = 144 Replikate/Panelprobe).

**Tabelle 7. Standardabweichung und Variationskoeffizient (VK) mit prozentualem Verhältnis (Percent Ratio, PR)**

Panelprobe	N	Mittel	Zentrum		Ben.		Charge		Tag		Durchlauf		Innerhalb des Tests		Insgesamt	
			SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)
LR1: e1a2 (Verhältnis von ~10 %)	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 (Verhältnis von ~1 %)	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 (Verhältnis von ~0,1 %)	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 (Verhältnis von ~0,02 %)	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> Eine Probe ergab sowohl im Test als auch im Wiederholungstest ein unbestimmtes Ergebnis.

Der Gesamt-Variationskoeffizient (VK%) des prozentualen Verhältnisses für die Ausgabe quantitativer Werte lag bei den positiven Proben zwischen 25,53 und 77,30. Die Varianzkomponente für die PR-Ausgabewerte überstieg bei den folgenden Faktoren nicht 50 % der gesamten Testvarianz: Standort zu Standort, Benutzer zu Benutzer, Tag zu Tag und Durchlauf zu Durchlauf. Die Analyse der Varianz des quantitativen PR-Mittelwerts ergab ähnliche Ergebnisse.

**Tabelle 8. Standardabweichung und Variationskoeffizient (VK) der Log-Reduktion (LR)**

Panelprobe	N	Mittel	Zentrum		Ben.		Charge		Tag		Durchlauf		Innerhalb des Tests		Insgesamt	
			SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)
LR1: e1a2 (Verhältnis von ~10 %)	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
LR2: e1a2 (Verhältnis von ~1 %)	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
LR3: e1a2 (Verhältnis von ~0,1 %)	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
LR3.7: e1a2 (Verhältnis von ~0,02 %)	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> Eine Probe ergab sowohl im Test als auch im Wiederholungstest ein unbestimmtes Ergebnis.

Der prozentuale Gesamt-Variationskoeffizient (VK) der quantitativen LR-Ausgabewerte lag bei den positiven Proben zwischen 26,17 und 88,68.

## 22 Literatur

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 (siehe aktuellste Ausgabe). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (siehe aktuellste Ausgabe).
11. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. VERORDNUNG (EG) NR. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006.
13. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

## 23 Standorte der Cepheid-Zentralen

### Konzernzentrale

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

### Konzernzentrale in Europa

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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

## 24 Technische Unterstützung

Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:

- Produktname
- Chargenbezeichnung
- Seriennummer des Instruments
- Fehlermeldungen (falls vorhanden)
- Software-Version und gegebenenfalls Service-Kennnummer (Service Tag Number) des Computers

### Vereinigte Staaten von Amerika




















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

### Frankreich

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

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendiensts von Cepheid finden Sie auf unserer Website:  
[www.cepheid.com/en\\_US/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en_US/support/contact-us).

## 25 Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	CE-Kennzeichnung – Einhaltung der EU-Richtlinien
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Chargencode
	Nicht wiederverwenden
	Verfallsdatum
	Achtung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Hersteller
	Herstellungsland
	Inhalt reicht aus für $n$ Tests
	Kontrolle
	Temperaturbegrenzung
	Biologische Risiken
	Entzündbare Flüssigkeiten
	Reproduktions- und Organtoxizität
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Bevollmächtigter in der Schweiz
	Importeur



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefon: + 33 563 825 300

Fax: + 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 Revisionsverlauf

**Beschreibung der Änderung:** 302-6673, Rev. B zu Rev. C

**Zweck:** Aktualisierungen der Gebrauchsanweisung

Abschnitt	Beschreibung der Änderung
8.3	„Achtung“-Hinweis hinzugefügt, Kartuschen zur Entsorgung nicht zu öffnen oder zu verändern.
11.2.1	Hinweis zu verbleibendem Lysat aktualisiert.
17	Anweisungen zur Testwiederholung aktualisiert und Abschnittsverweise korrigiert.
19	Diagrammbeschriftungen in Abbildung 10 aktualisiert.
21	Inhalte zu Reproduzierbarkeit und Genauigkeit aktualisiert.
25	Symbole „CH REP“ und „Importeur“ sowie die entsprechenden Definitionen zur Symbolerklärung hinzugefügt. Angaben zum CH REP und Importeur mit Adresse für die Schweiz hinzugefügt.



26	Tabelle mit Revisionsverlauf aktualisiert.
----	--