

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

REF GXBCRABLP190-CE-10

Οδηγίες χρήσης

IVD

Εμπορικό σήμα, διπλώματα ευρεσιτεχνίας και δηλώσεις πνευματικών δικαιωμάτων

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] 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[®], το λογότυπο της Cepheid, το GeneXpert[®] και το Xpert[®] είναι εμπορικά σήματα της Cepheid, κατατεθέντα στις Η.Π.Α. και άλλες χώρες.

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

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

© 2022–2023 Cepheid.

Βλ. Ενότητα 26, Ιστορικό αναθεωρήσεων για περιγραφή των αλλαγών.

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

1 Κατοχυρωμένη ονομασία

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

2 Κοινή ή συνήθης ονομασία

Xpert BCR-ABL Ultra p190

3 Προβλεπόμενος σκοπός

3.1 Προβλεπόμενη χρήση

Η εξέταση Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 είναι μια *in vitro* διαγνωστική εξέταση για χρήση με το GeneXpert[®] Dx System της Cepheid για την ποσοτικοποίηση των μεταγραφημάτων mRNA των BCR-ABL1 p190 και ABL1 σε δείγματα περιφερικού αίματος ασθενών διαγνωσμένων με θετική για Philadelphia (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) και οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) που εκφράζουν το μεταγράφημα σύντηξης BCR-ABL1 τύπου e1a2. Η εξέταση χρησιμοποιεί αυτοματοποιημένη, ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφάσης πραγματικού χρόνου (RT-qPCR) και προορίζεται για τη μέτρηση της ποσοστιαίας αναλογίας του mRNA του BCR-ABL1 p190 έναντι του mRNA του ABL1 σε ασθενείς με θετική για t(9;22) ΧΜΛ ή ΟΛΛ, κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης της θεραπείας.

Η εξέταση δεν παρακολουθεί άλλα μεταγραφήματα σύντηξης που προέρχονται από το t(9;22) και δεν προορίζεται για τη διάγνωση ΧΜΛ ή ΟΛΛ.

3.2 Προβλεπόμενος χρήστης/Περιβάλλον

Η εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 προορίζεται για χρήση από εκπαιδευμένους χρήστες σε περιβάλλον εργαστηρίου.

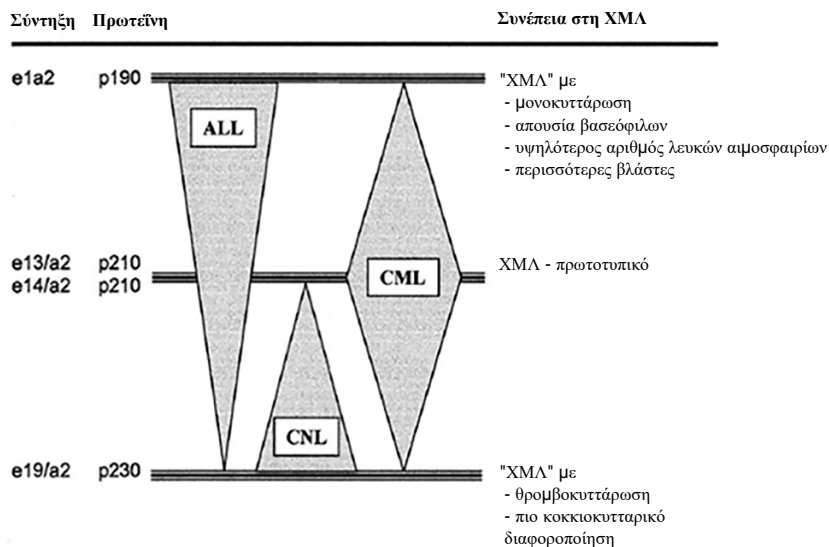
4 Περίληψη και επεξήγηση

Το **χρωμόσωμα Philadelphia (Ph)** είναι ένα βραχυμένο χρωμόσωμα που προέρχεται από την αντιμετάθεση του τμήματος 3' του γονιδίου ABL στο χρωμόσωμα 9 στο τμήμα 5' του γονιδίου BCR στο χρωμόσωμα 22. Το σημείο θραύσης στο γονίδιο ABL είναι σχετικά σταθερό και συμβαίνει στο άκρο 5' του εξωνίου a2, ενώ τα σημεία θραύσης του γονιδίου BCR είναι μεταβλητά, αλλά συγκεντρώνονται κυρίως σε 3 διαφορετικές περιοχές (περιοχές σημείων θραύσης ή bcr). Ανάλογα με το σημείο θραύσης στο χρωμόσωμα 22, τμήματα διαφορετικών μεγεθών συνδέονται με τις αλληλουχίες 3' του γονιδίου ABL. Υπάρχουν μείζονα (M-bcr), ελάσσονα (m-bcr) και μικροσκοπικά σημεία θραύσης, καθένα από τα οποία δημιουργεί μεταγραφήματα σύντηξης mRNA διαφορετικού μεγέθους.¹

Το χρωμόσωμα Ph παρατηρείται σε περισσότερο από το 95% των ασθενών με χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) και έως και το 20-30% των ενηλίκων με οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ), 5% των παιδιών με ΟΛΛ και στο 1-2% των ασθενών με οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ).¹

Στην ΧΜΛ, το BCR-ABL p210 υπάρχει σε ποσοστό μεγαλύτερο από 95% των ασθενών, ενώ βρίσκεται επίσης σε περίπου 30% των θετικών για Ph (Ph+) ασθενών με ΟΛΛ. Στους υπόλοιπους ασθενείς με Ph+ ΟΛΛ και σε σπάνιες περιπτώσεις ΧΜΛ (1-3%), υπάρχει το BCR-ABL p190. Στη ΧΜΛ, το BCR-ABL p210 και το p190 μπορεί να συνυπάρχουν. Οι πρωτεΐνες σύντηξης p210 και p190 καταδεικνύουν αυξημένη δραστηριότητα τυροσινικής φωσφοκινάσης συγκριτικά με τη φυσιολογική πρωτεΐνη p145 c-abl.^{1,2}

Σε ασθενείς Ph+ με ΟΛΛ, η μορφή p190 ανιχνεύεται στο 80% περίπου των Ph+ ασθενών με παιδική ΟΛΛ και στο 20-40% των Ph+ ασθενών με ΟΛΛ ενηλίκων.¹ Επιπλέον, η συχνότητα του χρωμοσώματος Ph αυξάνεται με την ηλικία και υπάρχει στο 10% στις ηλικίες 15-30, στο 25% στις ηλικίες 40-49 και στο 20-40% σε ασθενείς με ΟΛΛ άνω των 50 ετών.³⁻⁵



Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) είναι μια αιματολογική κακοήθεια στην οποία υπάρχει συσσώρευση άωρων λευκών αιμοσφαιρίων (WBC) με κακή διαφοροποίηση, λεμφοβλαστών, στον μυελό των οστών, στο αίμα και σε άλλους ιστούς. Η ΟΛΛ ταξινομείται ως σπάνιος καρκίνος (αριθμός ορφανής νόσου ORPHA:513, GARD 522) με επιπολασμό 1,7/100.000. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η ΟΛΛ είναι ο πιο συχνός καρκίνος σε παιδιά από τη γέννηση έως τα 15 έτη, που αντιστοιχεί στο 75% όλων των περιπτώσεων παιδικής λευχαιμίας.^{6, 7}

Η παρουσία του χρωμοσώματος Ph σε ασθενείς με ΟΛΛ μετά τη θεραπεία μετά την ύφεση είναι ένας σημαντικός προγνωστικός δείκτης υποτροπής και συνιστάται παρακολούθηση. Ωστόσο, δεν υπάρχουν καθορισμένες κατευθυντήριες οδηγίες που καθορίζουν τη συχνότητα παρακολούθησης των ασθενών με ΟΛΛ, χρησιμοποιώντας τις μετρήσεις του μεταγραφήματος BCR-ABL p190 για την ανίχνευση της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου (minimal residual disease, MRD). Οι κατευθυντήριες οδηγίες της NCCN έχουν καθορισμένα χρονικά σημεία για την παρακολούθηση του BCR-ABL p210 σε ασθενείς με ΧΜΛ, οπότε πραγματοποιείται μέτρηση της BCR-ABL p190 για την παρακολούθηση της ΟΛΛ σε παρόμοιες συχνότητες.⁵

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ) χαρακτηρίζεται από την παρουσία του χρωμοσώματος Ph με >95% των περιπτώσεων που σχετίζονται με BCR-ABL p210 και μόνο το 1-3% των περιπτώσεων σχετίζεται με το BCR-ABL p190.^{2,3}

Σε αντίθεση με το διεθνές πρότυπο του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για το BCR-ABL (WHO IS) για το μεταγράφημα p210, επί του παρόντος δεν υπάρχει διεθνώς αναγνωρισμένη αναφορά που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την προτυποποίηση του μεταγραφήματος σύντηξης p190. Συνεπώς, οι υφιστάμενοι μοριακοί προσδιορισμοί για το p190 τυπικά ανιχνεύουν το μεταγράφημα σύντηξης και το αναφέρουν ως ποσοστό σε σχέση με την έκφραση ενός γονιδίου εσωτερικού μάρτυρα (π.χ. ABL).

5 Αρχή της διαδικασίας

Η εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 είναι μια αυτοματοποιημένη εξέταση για την ποσοτικοποίηση της ποσότητας του μεταγραφήματος BCR-ABL1 p190 ως αναλογία BCR-ABL p190/ABL1. Η εξέταση πραγματοποιείται σε GeneXpert Dx System της Cepheid, που αυτοματοποιεί και ενοποιεί τον καθαρισμό των δειγμάτων, την ενίσχυση των νουκλεϊκών οξέων και την ανίχνευση αλληλουχίας-στόχου σε απλά ή σύνθετα δείγματα με τη χρήση εξετάσεων RT-PCR πραγματικού χρόνου και ενφωλεασμένης PCR. Το σύστημα αποτελείται από έναν αναλυτή, έναν υπολογιστή και προφορτωμένο λογισμικό για την πραγματοποίηση εξετάσεων και την προβολή των αποτελεσμάτων. Το σύστημα απαιτεί τη χρήση αναλώσιμων

φύσιγγων GeneXpert μίας χρήσης που συγκρατούν τα αντιδραστήρια RT-PCR και ενφωλεασμένης PCR και φιλοξενούν τις διαδικασίες RT-PCR και ενφωλεασμένης PCR. Για μια πλήρη περιγραφή του συστήματος, ανατρέξτε στο κατάλληλο *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Η φύσιγγα Xpert BCR-ABL Ultra p190 περιλαμβάνει τα αντιδραστήρια για την ανίχνευση των γονιδίων σύντηξης BCR-ABL1 p190 που προήλθαν από ένα έλασσον σημείο θραύσης, την αντιμετάθεση e1a2, και το μεταγράφημα ABL1 ως ενδογενή μάρτυρα σε δείγματα περιφερικού αίματος. Η ποσότητα του μεταγραφήματος BCR-ABL1 p190 ποσοτικοποιείται ως ποσοστιαία αναλογία του BCR-ABL1 p190/ABL1. Περιλαμβάνονται δύο μάρτυρες στην εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 – ο ενδογενής μάρτυρας (ABL1) και ένας μάρτυρας ελέγχου ανιχνευτή (PCC). Ο ενδογενής μάρτυρας ABL1 κανονικοποιεί τον στόχο BCR-ABL1 p190 και διασφαλίζει ότι χρησιμοποιείται επαρκής ποσότητα δείγματος στην εξέταση. Ο PCC επιβεβαιώνει την επανυδάτωση του αντιδραστήριου, την πλήρωση του σωληναρίου PCR και επιβεβαιώνει ότι όλα τα συστατικά μέρη της αντίδρασης, συμπεριλαμβανομένων των ανιχνευτών και των χρωστικών, υπάρχουν και είναι λειτουργικά στη φύσιγγα.

6 Αντιδραστήρια και αναλυτές

6.1 Υλικά που παρέχονται

Το κιτ Xpert BCR-ABL Ultra p190 (GXBCRABLP190-CE-10) περιέχει επαρκή αντιδραστήρια για την επεξεργασία 10 δειγμάτων εξέτασης ή δειγμάτων ποιοτικού ελέγχου. Το κιτ περιέχει τα εξής:

Αντιδραστήρια Xpert BCR-ABL Ultra

10 από το καθένα ανά κιτ

Πρωτεΐνωση K (PK)	10 x 130 μl ανά φιαλίδιο
Συστατικό	Συστατικό αντιδραστήριου
Πρωτεΐνωση K	< 5%

Αντιδραστήριο λύσης (LY) (Χλωριούχο γουανιδίνιο)	10 x 5,3 ml ανά φιαλίδιο
Συστατικό	Συστατικό αντιδραστήριου
Χλωριούχο γουανιδίνιο	25 - 50%
Ουρία	25 - 50%
Θειικό δωδεκύλιο νάτριο	< 2%

Αντιδραστήριο πλύσης	10 x 2,9 ml ανά αμπούλα
Συστατικό	Συστατικό αντιδραστήριου
Αιθανόλη	< 50%
Θειοκυανικό γουανιδίνιο	< 50%

Xpert BCR-ABL Ultra p190 Φύσιγγες με ενσωματωμένα σωληνάρια αντίδρασης		10 ανά κιτ
Συστατικό	Συστατικό αντιδραστήριου	Ποσότητα
Σφαιρίδιο 1 (λυοφιλοποιημένο)	Ένζυμο: Taq DNA πολυμεράση < 50 U/σφαιρίδιο dNTP < 0,05%	1 ανά φύσιγγα
Σφαιρίδιο 2 (λυοφιλοποιημένο)	Εκκινητές και ανιχνευτές < 0,005%	1 ανά φύσιγγα
Σφαιρίδιο 3 (λυοφιλοποιημένο)	Εκκινητές και ανιχνευτές < 0,005%	1 ανά φύσιγγα

Σφαιρίδιο 4 (λυοφιλοποιημένο)	Ένζυμο: Taq DNA πολυμεράση < 50 U/ σφαιρίδιο	1 ανά φύσιγγα
	dNTP < 0,05%	
Αντιδραστήριο έκπλυσης	Χλωριούχο κάλιο < 4%	2 ml ανά φύσιγγα
	Αζίδιο του νατρίου < 0,1%	
	Πολυαιθυλενογλυκόλη < 15%	
	Tween 20 < 0,2%	
Αντιδραστήριο έκλουσης	Βάση Trizma < 0,3%	2,5 ml ανά φύσιγγα
	Trizma υδροχλωρικό < 0,1%	
	Αζίδιο του νατρίου < 0,05%	

CD**1 ανά κιτ**

- Αρχείο ορισμού προσδιορισμού (ADF)
- Οδηγίες για την εισαγωγή ADF στο λογισμικό GeneXpert Dx
- Οδηγίες χρήσης (Ένθετο συσκευασίας)

Σημείωση

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

Σημείωση

Διατίθενται πιστοποιητικά ανάλυσης και φύλλα δεδομένων προδιαγραφών παρτίδων μέσω του τμήματος τεχνικής υποστήριξης της Cepheid.

6.2 Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- GeneXpert Dx System (ο αριθμός καταλόγου διαφέρει με βάση τη διαμόρφωση): Αναλυτής GeneXpert, υπολογιστής, συσκευή σάρωσης γραμμωτών κωδικών και εγχειρίδιο χρήστη.
- Για GeneXpert Dx System: λογισμικό GeneXpert Dx έκδοσης 6.2 ή μεταγενέστερης
- Εκτυπωτής: Εάν απαιτείται εκτυπωτής, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Cepheid για να κανονίσετε την αγορά ενός συνιστώμενου εκτυπωτή.
- Αναδευτήρας τύπου vortex
- Μικροφυγόκεντρος (1.000 x g τουλάχιστον)
- Πιπέτες και ρύγχη πιπέτας φίλτρου αερολύματος
- Κωνικά σωληνάρια 50 ml
- Απόλυτη αιθανόλη βαθμού αντιδραστήριου

7 Χειρισμός και αποθήκευση

- Αποθηκεύστε τα περιεχόμενα του κιτ Xpert BCR-ABL Ultra p190 στους 2–8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης που παρέχεται στην ετικέτα.
- Μην ανοίγετε το καπάκι της φύσιγγας μέχρι να είστε έτοιμοι για την πραγματοποίηση της εξέτασης.
- Μη χρησιμοποιείτε φύσιγγες των οποίων η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει.
- Το αντιδραστήριο πλύσης είναι διαυγές, άχρωμο υγρό. Μη χρησιμοποιείτε κανένα αντιδραστήριο πλύσης εάν έχει γίνει θολερό ή αποχρωματισμένο.
- Είκοσι (20) λεπτά πριν από την έναρξη της διαδικασίας, αφαιρέστε το δείγμα αίματος, τη φύσιγγα και τα αντιδραστήρια προετοιμασίας δειγμάτων από την αποθήκευση, για να τα αφήσετε να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου (20 – 30 °C).

8 Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

8.1 Γενικά

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Να αντιμετωπίζετε όλα τα βιολογικά δείγματα, συμπεριλαμβανομένων των χρησιμοποιημένων φυσιγγών και των αντιδραστηρίων, ως ικανά για τη μετάδοση μολυσματικών παραγόντων. Επειδή είναι συχνά αδύνατο να γνωρίζετε ποιο δείγμα μπορεί να είναι μολυσματικό, θα πρέπει να αντιμετωπίζετε όλα τα βιολογικά παρασκευάσματα με τις τυπικές προφυλάξεις. Κατευθυντήριες οδηγίες χειρισμού των δειγμάτων διατίθενται από τα Κέντρα Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων των Η.Π.Α.⁹ και το Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων.¹⁰
- Να ακολουθείτε τις διαδικασίες ασφάλειας που καθορίζονται από το ίδρυμά σας για την εργασία με χημικές ουσίες και κατά τον χειρισμό βιολογικών δειγμάτων.
- Τα χαρακτηριστικά απόδοσης αυτής της εξέτασης έχουν καθοριστεί με αίμα που έχει συλλεχθεί σε σωληνάρια με EDTA μόνο. Η απόδοση αυτής της εξέτασης με άλλους τύπους δειγμάτων δεν έχει αξιολογηθεί.
- Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την ικανοποιητική συλλογή, μεταφορά, φύλαξη και επεξεργασία των δειγμάτων. Ενδέχεται να προκληθούν εσφαλμένα αποτελέσματα εξέτασεων λόγω ακατάλληλης συλλογής δειγμάτων, ακατάλληλου χειρισμού ή ακατάλληλης αποθήκευσης, τεχνικού σφάλματος, ανάμειξης δειγμάτων ή επειδή το μεταγράφημα-στόχος στο δείγμα είναι χαμηλότερο από το όριο ανίχνευσης (LoD) της εξέτασης. Είναι απαραίτητη η προσεκτική τήρηση των οδηγιών που περιέχονται σε αυτό το ένθετο συσκευασίας και στο *GeneXpert Dx System Operator Manual*, για την αποτροπή εσφαλμένων αποτελεσμάτων.
- Η πραγματοποίηση της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 εκτός των συνιστώμενων ευρών θερμοκρασίας και χρόνου φύλαξης του κιτ ή του δείγματος μπορεί να προκαλέσει εσφαλμένα ή μη έγκυρα αποτελέσματα.
- Τα βιολογικά παρασκευάσματα, τα τεχνολογικά προϊόντα μεταφοράς και οι χρησιμοποιημένες φύσιγγες θα πρέπει να θεωρούνται ως ικανά να μεταδώσουν μολυσματικούς παράγοντες και απαιτούν τη λήψη των τυπικών προφυλάξεων. Για τη σωστή απόρριψη των χρησιμοποιημένων φυσιγγών και των χρησιμοποιητών αντιδραστηρίων, να ακολουθείτε τις περιβαλλοντικές διαδικασίες του ιδρυματός σας για τα απόβλητα. Αυτά τα υλικά μπορεί να παρουσιάσουν χαρακτηριστικά χημικά επικίνδυνων αποβλήτων που απαιτούν συγκεκριμένες εθνικές ή τοπικές διαδικασίες απόρριψης. Εάν οι εθνικοί ή περιφερειακοί κανονισμοί δεν παρέχουν σαφείς οδηγίες σχετικά με τη σωστή απόρριψη, τα βιολογικά δείγματα και οι χρησιμοποιημένες φύσιγγες θα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες χειρισμού και απόρριψης ιατρικών αποβλήτων του Π.Ο.Υ. (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας).¹¹

8.2 Δείγμα

- Διατηρήστε τις σωστές συνθήκες αποθήκευσης κατά τη μεταφορά του δείγματος για να διασφαλίσετε την ακεραιότητα του δείγματος (βλ. Ενότητα 10). Η σταθερότητα του δείγματος υπό συνθήκες αποστολής διαφορετικές από αυτές που συνιστώνται δεν έχει αξιολογηθεί.
- Μην καταψύχετε τα δείγματα ολικού αίματος.
- Η κατάλληλη συλλογή, αποθήκευση και μεταφορά των δειγμάτων είναι απαραίτητες για σωστά αποτελέσματα.

8.3 Εξέταση/Αντιδραστήριο


- Μην αντικαθιστάτε τα Xpert BCR-ABL Ultra p190 αντιδραστήρια με άλλα αντιδραστήρια.
- Μην ανοίγετε το Xpert BCR-ABL Ultra p190 καπάκι της φύσιγγας παρά μόνο για την προσθήκη του δείγματος και του αντιδραστηρίου πλύσης.
- Μη χρησιμοποιείτε μια φύσιγγα που έχει πέσει κάτω μετά την αφαίρεση από τη συσκευασία.
- Μην ανακινείτε τη φύσιγγα. Η ανακίνηση ή η πτώση της φύσιγγας μετά το άνοιγμα του καπακιού της μπορεί να προκαλέσει μη έγκυρα αποτελέσματα. Μην τοποθετείτε την ετικέτα αναγνωριστικού του δείγματος στο καπάκι της φύσιγγας ή στην ετικέτα γραμμωτού κωδικού της φύσιγγας.
- Μη χρησιμοποιείτε μια φύσιγγα με ετικέτα γραμμωτού κωδικού που έχει υποστεί ζημιά. Μη χρησιμοποιείτε φύσιγγα με σωληνάριο αντίδρασης που έχει υποστεί ζημιά.
- Οι Xpert BCR-ABL Ultra p190 φύσιγγες θα πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου (20 °C – 30 °C) κατά τη χρήση για εξέταση.
- Κάθε φύσιγγα μίας χρήσης Xpert BCR-ABL Ultra p190 χρησιμοποιείται για την επεξεργασία μίας εξέτασης. Μην επαναχρησιμοποιείτε επεξεργασμένες φύσιγγες.
- Μην επαναχρησιμοποιείτε τα ρύγχη πιπετών.
- Μη χρησιμοποιείτε μια φύσιγγα εάν σας φαίνεται υγρή ή εάν το σφράγισμα του καπακιού φαίνεται να έχει σπάσει.

- Μη χρησιμοποιείτε τη Xpert BCR-ABL Ultra p190 φύσιγγα εάν ένα αντιδραστήριο έχει προστεθεί σε λάθος άνοιγμα. Μην ανοίγετε τις Xpert BCR-ABL Ultra p190 φύσιγγες μετά την ολοκλήρωση της εξέτασης.
- Χρησιμοποιείτε ένα σετ πιπετών και αντιδραστηρίων αποκλειστικά για την επεξεργασία δειγμάτων.
- Φοράτε καθαρές εργαστηριακές ποδιές και γάντια. Αλλάζετε γάντια μεταξύ του χειρισμού κάθε δείγματος.
- Σε περίπτωση διαρροής δείγματος ή μάρτυρα, φορέστε γάντια και σκουπίστε τη διαρροή με απορροφητικό χαρτί. Καθαρίστε και απολυμάνετε σχολαστικά όλες τις επιφάνειες εργασίας του εργαστηρίου με πρόσφατα παρασκευασμένο διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 0,5% σε απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό (ή αραιώστε λευκαντικό οικιακής χρήσης σε αναλογία 1:10). Η τελική ενεργή συγκέντρωση χλωρίου θα πρέπει να είναι 0,5%. Αφού στεγνώσει η επιφάνεια εργασίας, συνεχίστε σκουπίζοντας την επιφάνεια με αιθανόλη 70%. Για εξοπλισμό, ακολουθήστε τις συστάσεις του κατασκευαστή για απολύμανση εξοπλισμού. Εναλλακτικά, ακολουθήστε τις τυπικές διαδικασίες του ιδρύματός σας για περίπτωση μόλυνσης ή διαρροής.
- Οι χρησιμοποιημένες φύσιγγες μπορεί να περιέχουν δυνητικά μολυσματικά υλικά, καθώς και υψηλά ενισχυμένο(ους) στόχο(ους) PCR. Μην ανοίξετε και μην επιχειρήσετε να τροποποιήσετε οποιοδήποτε μέρος της φύσιγγας για απόρριψη.

9 Χημικοί κίνδυνοι^{12,13}

Σημείωση Είναι διαθέσιμα δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS) στη διεύθυνση www.cepheid.com ή www.cepheidinternational.com, στην καρτέλα **ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ (SUPPORT)**.

Σημείωση Οι παρακάτω πληροφορίες ισχύουν για αντιδραστήρια πρωτεΐνης Κ, λύσης, πλύσης και έκπλυσης.

- Εικονόγραμμα επικινδυνότητας κατά UN GHS: 
- Προειδοποιητική λέξη: ΚΙΝΔΥΝΟΣ
- Δηλώσεις επικινδυνότητας UN GHS
 - Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης H302
 - Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα H225
 - Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος H315
 - Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό H319
 - Μπορεί να προκαλέσει υπνηλία ή ζάλη H336
 - Ύποπτο για πρόκληση γενετικών ελαττωμάτων H341
- Δηλώσεις προφύλαξης UN GHS
 - Πρόληψη
 - Πριν από τη χρήση, ανατρέξτε στο δελτίο δεδομένων ασφαλείας για ειδικές οδηγίες.
 - Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.
 - Χρησιμοποιείτε μέσα ατομικής προστασίας: γάντια, γυαλιά, προσωπίδα και ρουχισμό.
 - Να χρησιμοποιείτε μόνο σε καλά αεριζόμενες περιοχές.
 - Διατηρείτε μακριά από θερμότητα, σπινθήρες, ανοικτές φλόγες ή/και θερμές επιφάνειες.
 - Μην αναπνέετε σταγονίδια, ατμούς ή εκνεφώματα.
 - Πλύνετε σχολαστικά τα χέρια μετά τον χειρισμό.
 - Απόκριση
 - Σε περίπτωση ΠΥΡΚΑΓΙΑΣ: Χρησιμοποιήστε τα κατάλληλα μέσα για την κατάσβεση.
 - Σε ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή.
 - Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή έναν γιατρό εάν το θύμα αισθανθεί αδιαθεσία.
 - Σε περίπτωση ΕΚΧΥΣΗΣ: Αφαιρέστε αμέσως τα ενδύματα που έχουν μολυνθεί. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα ή τα μαλλιά, ξεπλύνετε με νερό/στο ντους.
 - Εάν παρατηρηθεί ΕΡΕΘΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.
 - Σε ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους. Εκπλύνετε σχολαστικά τα μάτια με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.
 - Ειδική θεραπεία: βλ. συμπληρωματικά μέτρα πρώτων βοηθειών στο δελτίο δεδομένων ασφαλείας.
 - Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανής έκθεσης: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.
 - Αποθήκευση/Απόρριψη

- Αποθηκεύετε σε συνθήκες ψυγείου.
- Να διατηρούνται οι περιέκτες ερμητικά κλειστοί.
- Απορρίψτε το περιεχόμενο ή/και τον περιέκτη σύμφωνα με τους τοπικούς, περιφερειακούς, εθνικούς ή/και διεθνείς κανονισμούς.

10 Συλλογή, μεταφορά και αποθήκευση δειγμάτων

- Η εξέταση απαιτεί δείγματα ολικού αίματος που έχουν συλλεχθεί σε σωληνάρια κενού με EDTA. Τα δείγματα μπορούν να διατηρηθούν για έως και 72 ώρες σε θερμοκρασία 2-8 °C πριν από τη χρήση. Το πλάσμα δεν θα πρέπει να διαχωρίζεται από τα κύτταρα.
- Η κατάλληλη συλλογή, αποθήκευση και μεταφορά των δειγμάτων είναι κρίσιμης σημασίας για την λειτουργία της εξέτασης.

11 Διαδικασία

11.1 Προτού ξεκινήσετε

Είκοσι (20) λεπτά πριν από την έναρξη της διαδικασίας, αφαιρέστε το δείγμα αίματος, τα αντιδραστήρια προετοιμασίας δειγμάτων και τις φύσιγγες από την αποθήκευση σε ψυγείο, για να τα αφήσετε να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Περιδινήστε στιγμιαία την πρωτεΐνάση K (PK) σε μια μικροφυγόκεντρο.

Σημαντικό Αφαιρέστε τη φύσιγγα από τη χάρτινη συσκευασία πριν από την προετοιμασία του δείγματος. (Βλ. Ενότητα 11.2, Προετοιμασία του δείγματος.)

Σημαντικό Ξεκινήστε την εξέταση στον αναλυτή GeneXpert Dx εντός 1 ώρας από την προσθήκη του προετοιμασμένου δείγματος στη φύσιγγα.

11.2 Προετοιμασία του δείγματος

11.2.1 Προετοιμασία ενός δείγματος με άγνωστο αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων (WBC) ή δειγμάτων με λιγότερα από 30 εκατομμύρια WBC/ml

1. Προς τον πυθμένα ενός νέου κωνικού σωληναρίου 50 ml, προσθέστε 100 μl PK (Πρωτεΐνάση K).
2. Βεβαιωθείτε ότι το δείγμα αίματος είναι καλά αναμειγμένο αναστρέφοντας το σωληνάριο συλλογής αίματος 8 φορές αμέσως πριν από τη μεταφορά με πιπέτα. Δείτε τις οδηγίες του κατασκευαστή για το σωληνάριο συλλογής αίματος με EDTA.
3. Στο σωληνάριο που περιέχει πρωτεΐνάση K, προσθέστε 4 ml δείγματος αίματος.
4. Αναμείξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 3 δευτερόλεπτα.
5. Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 λεπτό.
6. Στο ίδιο σωληνάριο, προσθέστε 2,5 ml αντιδραστηρίου λύσης (LY).

Σημείωση Διατηρήστε το αντιδραστήριο λύσης που απομένει για να το χρησιμοποιήσετε ξανά στο βήμα 13.

7. Αναμείξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα.
8. Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά.
9. Αναμείξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα.
10. Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά.
11. Αναμείξτε το δείγμα χτυπώντας ελαφρά τον πυθμένα του σωληναρίου 10 φορές.
12. Μεταφέρετε 1 ml του προετοιμασμένου υλικού λύσης σε ένα νέο κωνικό σωληνάριο 50 ml.

Σημείωση Το υπόλοιπο υλικό λύσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επαναληπτική δοκιμή. Αποθηκεύετε το υπόλοιπο υλικό λύσης σε θερμοκρασία 2-8 °C για έως και 4 ώρες ή αποθηκεύετε σε θερμοκρασία -20 °C ή χαμηλότερη για έως και 24 εβδομάδες.

13. Στο νέο κωνικό σωληνάριο που περιέχει το υλικό λύσης, προσθέστε 1,5 ml του διατηρημένου αντιδραστηρίου λύσης (LY) από το βήμα 6.
14. Αναμειξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα.
15. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.
16. Στο ίδιο κωνικό σωληνάριο, προσθέστε 2 ml απόλυτης αιθανόλης βαθμού αντιδραστηρίου (παρέχεται από τον χρήστη).
17. Αναμειξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα. Αφήστε το στην άκρη.
18. Απορρίψτε τα υπολειπόμενα αντιδραστήρια PK ή LY.

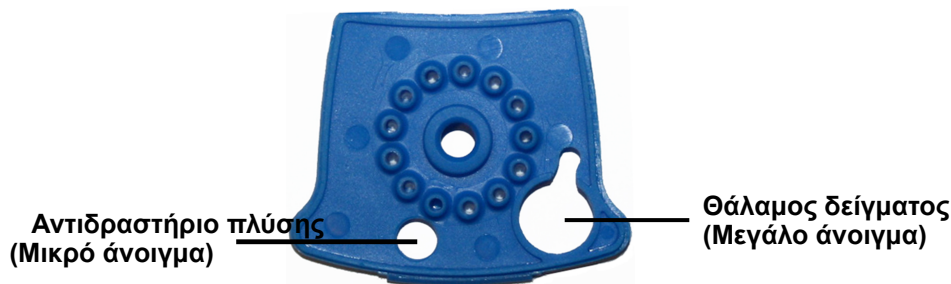
11.2.2 Προετοιμασία ενός δείγματος με αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων μεγαλύτερο από 30 εκατομμύρια κύτταρα/ml

1. Προς τον πυθμένα ενός νέου κωνικού σωληναρίου 50 ml, προσθέστε 100 µl PK (Πρωτεΐνωση Κ).
2. Βεβαιωθείτε ότι το δείγμα αίματος είναι καλά αναμειγμένο αναστρέφοντας το σωληνάριο συλλογής αίματος 8 φορές αμέσως πριν από τη μεταφορά με πιπέτα. Δείτε τις οδηγίες του κατασκευαστή για το σωληνάριο συλλογής αίματος με EDTA.
3. Στο σωληνάριο που περιέχει πρωτεΐνωση Κ, προσθέστε 50 µl δείγματος αίματος.
4. Αναμειξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 3 δευτερόλεπτα.
5. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 λεπτό.
6. Στο ίδιο σωληνάριο, προσθέστε 2,5 ml αντιδραστηρίου λύσης (LY).
7. Αναμειξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα.
8. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά.
9. Αναμειξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα.
10. Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά.
11. Στο ίδιο κωνικό σωληνάριο, προσθέστε 2 ml απόλυτης αιθανόλης βαθμού αντιδραστηρίου (παρέχεται από τον χρήστη).
12. Αναμειξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα. Αφήστε το στην άκρη.
13. Απορρίψτε τα υπολειπόμενα αντιδραστήρια PK ή LY.

11.3 Προετοιμασία της φύσιγγας

Για προσθήκη του δείγματος στη φύσιγγα Xpert BCR-ABL Ultra p190:

1. Αφαιρέστε τη φύσιγγα από τη χάρτινη συσκευασία.
2. Επιθεωρήστε τη φύσιγγα για τυχόν ζημιά. Σε περίπτωση ύπαρξης ζημιάς, μην το χρησιμοποιείτε.
3. Ανασηκώστε το καπάκι της φύσιγγας και μεταφέρετε όλα τα περιεχόμενα της αμπούλας του αντιδραστηρίου πλύσης (1) στον θάλαμο αντιδραστηρίου πλύσης (μικρό άνοιγμα). Βλ. Εικόνα 1.
4. Μεταφέρετε με πιπέτα ολόκληρα τα περιεχόμενα του προετοιμασμένου δείγματος στον θάλαμο δείγματος (μεγάλο άνοιγμα). Βλ. Εικόνα 1.



Εικόνα 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Φύσιγγα (κάτοψη)

5. Κλείστε το καπάκι της φύσιγγας. Βεβαιωθείτε ότι το καπάκι κουμπώνει σταθερά στη θέση του. Ξεκινήστε την εξέταση (βλ. Ενότητα 11.4, Έναρξη της εξέτασης).

11.4 Έναρξη της εξέτασης

Αυτή η ενότητα παραθέτει τα βασικά βήματα για την εκτέλεση της εξέτασης. Για λεπτομερείς οδηγίες, ανατρέξτε στον *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Σημαντικό

Πριν από την έναρξη μιας εξέτασης, βεβαιωθείτε ότι ο αναλυτής λειτουργεί με λογισμικό GeneXpert Dx έκδοσης 6.2 ή μεταγενέστερης και ότι το σωστό αρχείο ορισμού προσδιορισμών (ADF) έχει εισαχθεί στο λογισμικό.

Σημείωση

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

1. Ενεργοποιήστε τον αναλυτή GeneXpert:

Εάν χρησιμοποιείτε τον αναλυτή GeneXpert Dx, ενεργοποιήστε αρχικά τον αναλυτή GeneXpert Dx και κατόπιν ενεργοποιήστε τον υπολογιστή. Το λογισμικό GeneXpert θα εκκινηθεί αυτόματα. Εάν δεν γίνει αυτό, κάντε διπλό κλικ στο εικονίδιο συντόμευσης του λογισμικού GeneXpert Dx στην επιφάνεια εργασίας των Windows®.

2. Συνδεθείτε στο λογισμικό του συστήματος αναλυτών GeneXpert, χρησιμοποιώντας το όνομα χρήστη σας και τον κωδικό πρόσβασής σας.

3. Στο παράθυρο του συστήματος GeneXpert Dx (GeneXpert System), κάντε κλικ στο **Δημιουργία εξέτασης (Create Test)** (GeneXpert Dx). Ανοίγει το παράθυρο **Δημιουργία εξέτασης (Create Test)**. Εμφανίζεται το πλαίσιο διαλόγου **Σάρωση γραμμωτού κωδικού αναγνωριστικού ασθενούς (Scan Patient ID Barcode)**.

4. Σαρώστε ή πληκτρολογήστε το Αναγνωριστικό ασθενούς (Patient ID). Εάν πληκτρολογείτε το Αναγνωριστικό ασθενούς (Patient ID), βεβαιωθείτε ότι το Αναγνωριστικό ασθενούς (Patient ID) έχει πληκτρολογηθεί σωστά. Το Αναγνωριστικό ασθενούς (Patient ID) σχετίζεται με τα αποτελέσματα των εξετάσεων και εμφανίζεται στο παράθυρο **Προβολή αποτελεσμάτων (View Results)** και σε όλες τις αναφορές. Ανοίγει το πλαίσιο διαλόγου **Σάρωση γραμμωτού κωδικού αναγνωριστικού δείγματος (Scan Sample ID Barcode)**.

5. Σαρώστε ή πληκτρολογήστε το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID). Εάν πληκτρολογείτε το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID), βεβαιωθείτε ότι το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID) έχει πληκτρολογηθεί σωστά. Το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID) σχετίζεται με τα αποτελέσματα των εξετάσεων και εμφανίζεται στο παράθυρο **Προβολή αποτελεσμάτων (View Results)** και σε όλες τις αναφορές. Εμφανίζεται το πλαίσιο διαλόγου **Σάρωση γραμμωτού κωδικού φύσιγγας (Scan Cartridge Barcode)**.

6. Σαρώστε τον γραμμωτό κωδικό της φύσιγγας. Χρησιμοποιώντας τις πληροφορίες από τον γραμμωτό κωδικό, το λογισμικό συμπληρώνει αυτόματα τα πλαίσια για τα παρακάτω πεδία: Επιλογή προσδιορισμού (Select Assay), Αναγνωριστικό παρτίδας αντιδραστηρίων (Reagent Lot ID), Αριθμός σειράς φύσιγγας (Cartridge SN) και Ημερομηνία λήξης (Expiration Date).

Σημείωση

Εάν δεν μπορεί να σαρωθεί ο γραμμωτός κωδικός της φύσιγγας, τότε επαναλάβετε την εξέταση με νέα φύσιγγα. Εάν έχετε σαρώσει τον γραμμωτό κωδικό της φύσιγγας στο λογισμικό και το αρχείο ορισμού προσδιορισμού (ADF) δεν είναι διαθέσιμο, θα εμφανιστεί μια οθόνη που υποδεικνύει ότι το αρχείο ορισμού προσδιορισμού (ADF) δεν έχει φορτωθεί στο σύστημα. Εάν εμφανιστεί αυτή η οθόνη, επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη της Cepheid.

7. Κάντε κλικ στο **Έναρξη εξέτασης (Start Test)**. Στο παράθυρο διαλόγου που εμφανίζεται, πληκτρολογήστε τον κωδικό πρόσβασής σας, εάν απαιτείται.

8. Ανοίξτε τη θύρα της μονάδας του αναλυτή με την πράσινη λυχνία που αναβοσβήνει και φορτώστε τη φύσιγγα.

9. Κλείστε τη θύρα. Η εξέταση ξεκινά και η πράσινη λυχνία σταματά να αναβοσβήνει. Όταν ολοκληρωθεί η εξέταση, η λυχνία σβήνει.

10. Περιμένετε μέχρι το σύστημα να απελευθερώσει το κλειδί της θύρας προτού ανοίξετε τη θύρα της υπομονάδας. Κατόπιν αφαιρέστε τη φύσιγγα.

11. Απορρίψτε τις χρησιμοποιημένες φύσιγγες στους κατάλληλους περιέκτες αποβλήτων παρασκευασμάτων, σύμφωνα με τις τυπικές πρακτικές του ιδρύματός σας.

12 Προβολή και εκτύπωση αποτελεσμάτων

Αυτή η ενότητα παραθέτει τα βασικά βήματα για την προβολή και την εκτύπωση των αποτελεσμάτων. Για πιο λεπτομερείς οδηγίες σχετικά με τον τρόπο προβολής και εκτύπωσης των αποτελεσμάτων, βλ. *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Κάντε κλικ στο εικονίδιο **Προβολή αποτελεσμάτων (View Results)** για να δείτε τα αποτελέσματα.

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

13 Έλεγχος ποιότητας

Κάθε εξέταση περιλαμβάνει έναν ενδογενή μάρτυρα (ABL) και έναν μάρτυρα ελέγχου ανιχνευτή (PCC).

Ενδογενής μάρτυρας ABL — Ο ενδογενής μάρτυρας ABL επαληθεύει ότι χρησιμοποιείται επαρκές δείγμα με την εξέταση. Επιπλέον, αυτός ο μάρτυρας ανιχνεύει αναστολή της εξέτασης PCR πραγματικού χρόνου που σχετίζεται με το παρασκεύασμα. Ο ABL θεωρείται επιτυχής εάν πληροί τα εκχωρηθέντα κριτήρια αποδοχής.

Μάρτυρας ελέγχου ανιχνευτή (PCC) — Πριν από την έναρξη της αντίδρασης PCR, το σύστημα GeneXpert μετρά το σήμα φθορισμού από τους ανιχνευτές για την παρακολούθηση της επανενυδάτωσης των σφαιριδίων, της πλήρωσης του σωληναρίου αντίδρασης και εάν όλα τα συστατικά μέρη της φύσιγγας είναι λειτουργικά. Ο PCC θεωρείται επιτυχής εάν πληροί τα εκχωρηθέντα κριτήρια αποδοχής.

14 Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Τα ποσοτικά αποτελέσματα της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 παρέχονται ως ποσοστιαία αναλογία του BCR-ABL1 p190/ABL1. Παραδείγματα πιθανών αποτελεσμάτων και οι ερμηνείες τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Πιθανά αποτελέσματα εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 και ερμηνεία

Έλεγχος ανιχνευτή*	ABL Ct*	e1a2 Ct*	Αποτέλεσμα της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190	Σημειώσεις	
ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ.	ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [#.##%] (BCR-ABL p190 DETECTED [#.##%])	Αναφέρεται η τιμή της υπολογισμένης % αναλογίας. Βλ. Εικόνα 2.	
			ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [Χαμηλότερο από LoD < 0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])	Η υπολογισμένη % αναλογία είναι χαμηλότερη από το όριο ανίχνευσης και δεν αναφέρεται. Βλ. Εικόνα 3.	
			ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [Υψηλότερο από το ανώτατο LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])	Η υπολογισμένη % τιμή είναι υψηλότερη από το όριο ποσοτικοποίησης και δεν αναφέρεται. Βλ. Εικόνα 4.	
		ΑΠΝ.	BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [Επαρκές μεταγράφημα ABL])	Η τιμή e1a2 Ct είναι μηδενική ή υψηλότερη από τον ουδό αποδοχής. Βλ. Εικόνα 5.	
		ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)	ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Πολύ υψηλό μεταγράφημα BCR-ABL p190] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])	Η τιμή e1a2 Ct είναι χαμηλότερη από τον ουδό αποδοχής.	
	ΑΠΟΤΥΧΙΑ (FAIL)	ΘΕΤ., ΑΠΝ. ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)		INVALID [No ABL transcript] (ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Απουσία μεταγραφήματος ABL])	Η τιμή ABL Ct είναι μηδενική. Δεν ανιχνεύτηκε καθόλου ABL. Βλ. Εικόνα 6.
				ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Ανεπαρκές μεταγράφημα ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Η τιμή ABL Ct είναι υψηλότερη από τον ουδό αποδοχής. Βλ. Εικόνα 7.
			ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Πολύ υψηλό μεταγράφημα ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])	Η τιμή ABL Ct είναι χαμηλότερη από τον ουδό αποδοχής.	

Έλεγχος ανιχνευτή*	ABL Ct*	e1a2 Ct*	Αποτέλεσμα της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190	Σημειώσεις
		ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)	ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Πολύ υψηλά μεταγραφήματα BCR-ABL p190 και ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])	Οι τιμές των e1a2 και ABL Ct είναι χαμηλότερες από τους ουδούς αποδοχής. Βλ. Εικόνα 8.
ΑΠΟΤΥΧΙΑ (FAIL)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS) ή ΑΠΟΤΥΧΙΑ (FAIL)	ΘΕΤ., APN. ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)	ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)	Ο μάρτυρας ελέγχου ανιχνευτή δεν πληρούσε τα κριτήρια αποδοχής. Βλ. Εικόνα 9.
* Δείτε την καρτέλα αποτελεσμάτων αναλυόμενης ουσίας (Analyte Result) στο λογισμικό του συστήματος GeneXpert Dx για τις λεπτομέρειες				

Σημείωση

Τα συστήματα GeneXpert υπολογίζουν τα αποτελέσματα αυτόματα με βάση τις τιμές *ουδού κύκλου* (Ct) που δημιουργούνται από την εξέταση και τις ειδικές για την παρτίδα παραμέτρους που έχουν εκχωρηθεί κατά τη διάρκεια της κατασκευής. Το λογισμικό εφαρμόζει τον παρακάτω αλγόριθμο, ενώ η τιμή ΔCt (Δέλτα Ct) λαμβάνεται από την τιμή Ct ABL μείον την τιμή Ct BCR-ABL p190 και η απόδοση (E) και ο συντελεστής κλιμακοθέτησης (SF) είναι τιμές ειδικές για την παρτίδα:

Ποσοστιαία αναλογία = Απόδοση(ΔCt) x συντελεστής κλιμακοθέτησης x 100

Σημείωση

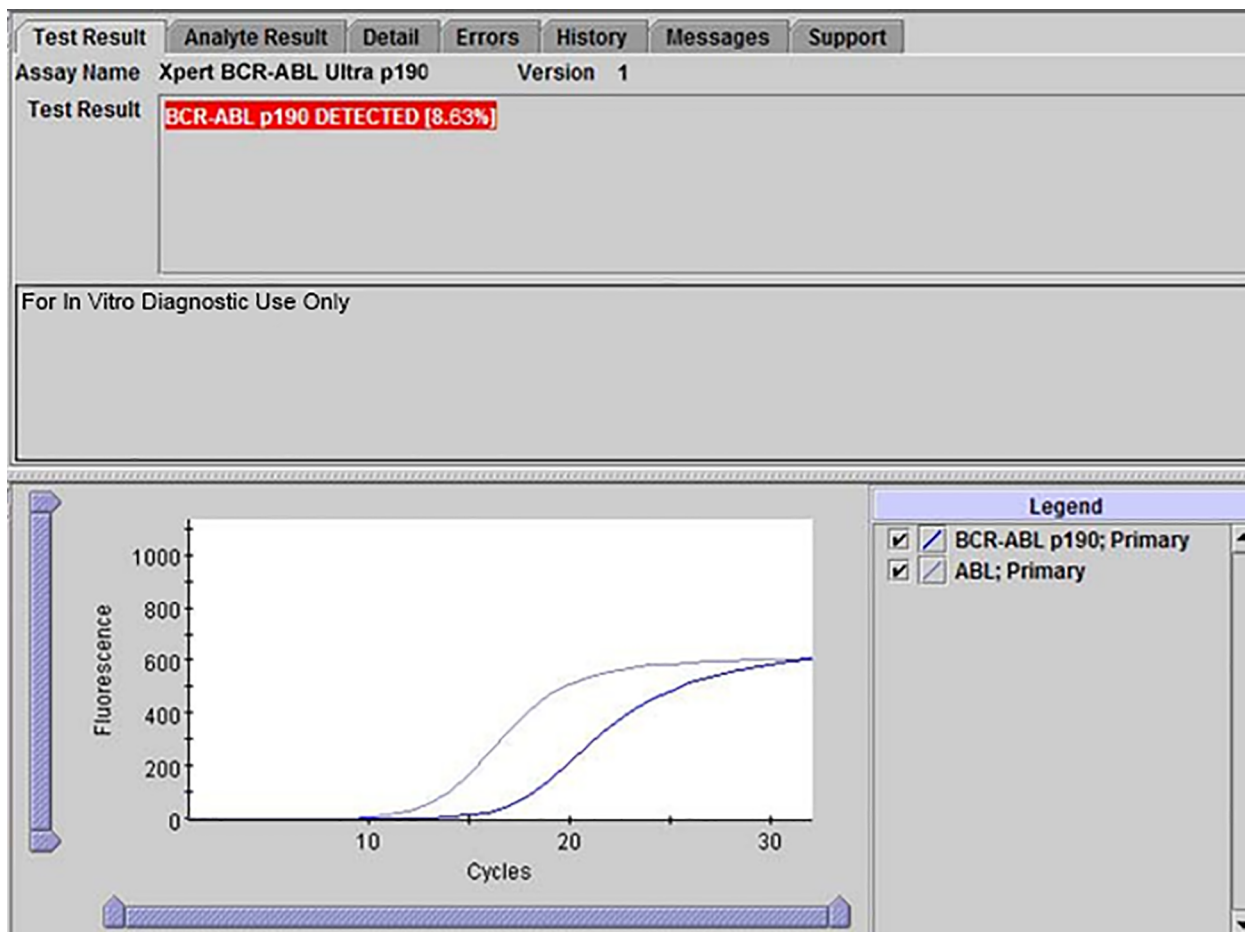
Οι τιμές απόδοσης και συντελεστή κλιμακοθέτησης βαθμονομούν την ποσοτικοποίηση των μεταγραφημάτων BCR-ABL1 p190 (e1a2) και ABL1 σε αριθμό αντιγράφων συνθετικών *in vitro* μεταγραφημένων RNA (IVT-RNA) BCR-ABL p190 και ABL1 προτύπων διαλυμάτων. Οι τιμές απόδοσης και συντελεστή κλιμακοθέτησης ενσωματώνονται στον γραμμωτό κωδικό κάθε φύσισγγας. Διατίθενται φύλλα δεδομένων προδιαγραφών παρτίδων μέσω του τμήματος τεχνικής υποστήριξης της Cepheid.

14.1 ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [###] (BCR-ABL p190 DETECTED [###]%)

Για ένα αποτέλεσμα «**ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [###] (BCR-ABL p190 DETECTED [###]%)**», το BCR-ABL p190 είναι ανιχνεύσιμο με τιμή Ct BCR-ABL p190 μεγαλύτερη από ή ίση με «8» και χαμηλότερη από ή ίση με τιμή cut-off «32» και ABL Ct υψηλότερη από ή ίση με «8» και χαμηλότερη από ή ίση με «18».

Παράδειγμα: ABL Ct = 11,4, BCR-ABL p190 Ct = 15,6, $\Delta Ct = -4,2$
 Ειδική για την παρτίδα $E_{\Delta Ct} = 2,05$, $SF = 1,76$
 $\%$ αναλογία = $2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63\%$

Αποτέλεσμα: **ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [8,63%] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])**. Βλ. Εικόνα 2.



Εικόνα 2. GeneXpert DxΠαράθυρο προβολής αποτελεσμάτων :
 ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [8,63%] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])

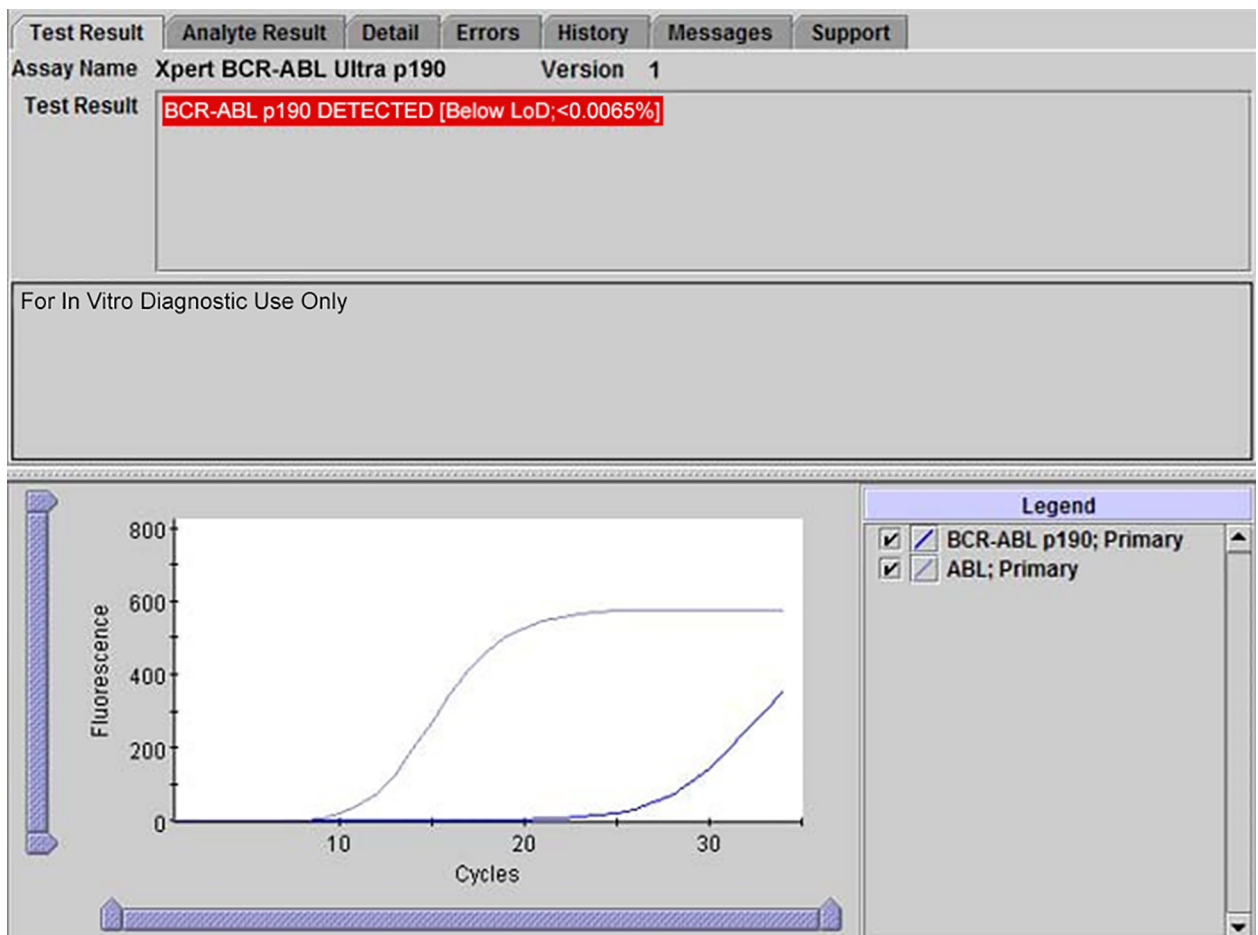
14.2 ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Χαμηλότερο από LoD < 0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

Έχει ανιχνευτεί BCR-ABL p190 σε επίπεδο < 0,0065%.

Για ένα αποτέλεσμα «**ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Χαμηλότερο από LoD, <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**», το BCR-ABL p190 είναι ανιχνεύσιμο με τιμή Ct BCR-ABL p190 μεγαλύτερη από ή ίση με «8» και χαμηλότερη από ή ίση με τιμή cut-off «32» και ABL Ct υψηλότερη από ή ίση με «8» και χαμηλότερη από ή ίση με «18».

Παράδειγμα: ABL Ct = 10,1, BCR-ABL p190 Ct = 24,8, $\Delta Ct = -14,8$
 Ειδική για την παρτίδα $E_{\Delta Ct} = 2,05$, $SF = 1,76$
 $H \% \text{ αναλογία} = 2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044\%$ είναι χαμηλότερη από το καθορισμένο LoQ της εξέτασης στο 0,0065%

Αποτέλεσμα: **ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Χαμηλότερο από LoD < 0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**. Βλ. Εικόνα 3.



Εικόνα 3. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: **ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Χαμηλότερο από LoD < 0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**

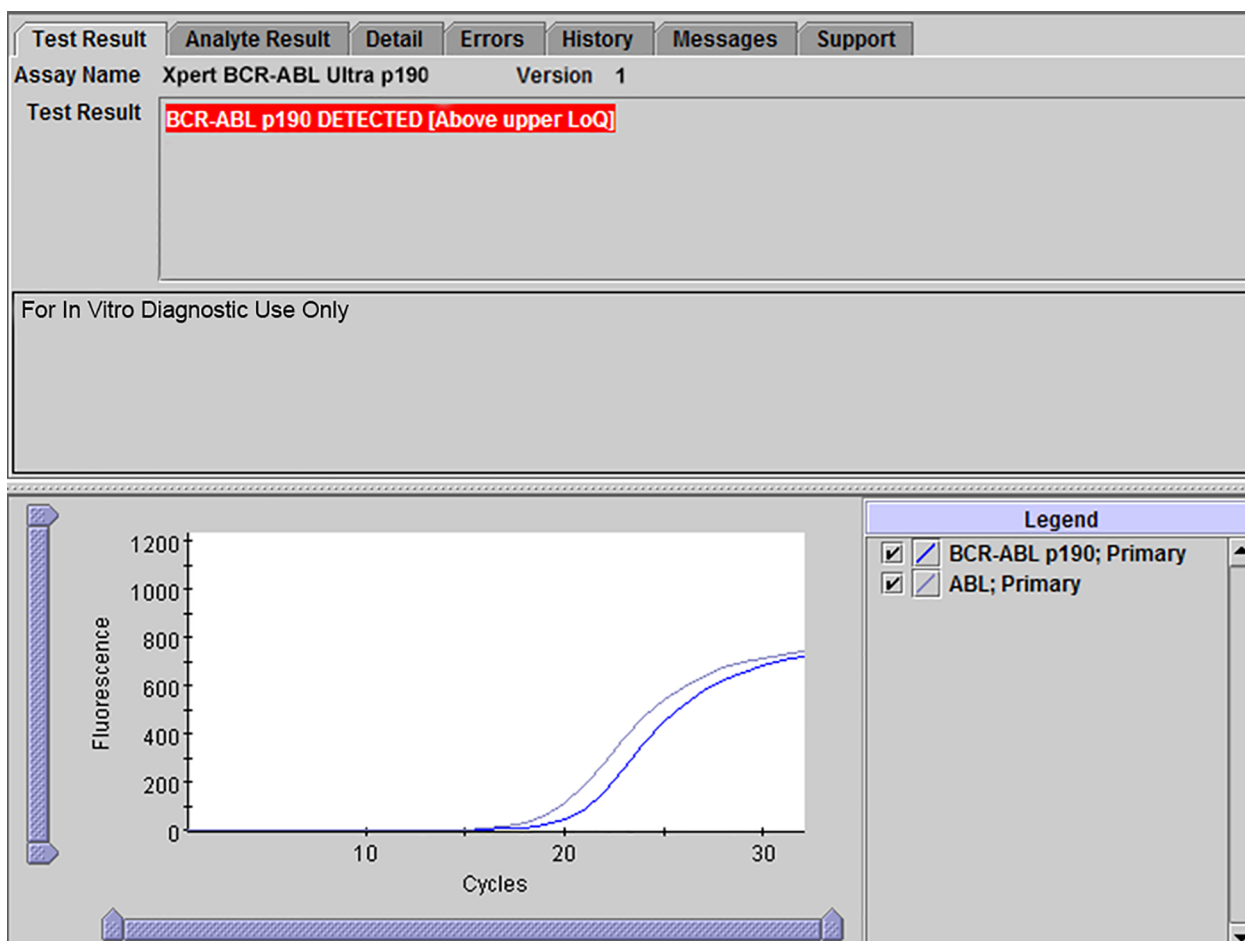
14.3 ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Υψηλότερο από το ανώτατο LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

Έχει ανιχνευτεί BCR-ABL p190 σε επίπεδο > 25%.

Για ένα αποτέλεσμα «**ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Υψηλότερο από το ανώτατο LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**», το BCR-ABL p190 είναι ανιχνεύσιμο με τιμή Ct BCR-ABL p190 μεγαλύτερη από ή ίση με «8» και χαμηλότερη από ή ίση με τιμή cut-off «32» και ABL Ct υψηλότερη από ή ίση με «8» και χαμηλότερη από ή ίση με «18».

Παράδειγμα: ABL Ct = 17,2, BCR-ABL p190 Ct = 18,7, $\Delta Ct = -1,6$
 Ειδική για την παρτίδα $E_{\Delta Ct} = 2,05$, $SF = 1,76$
 $H\% \text{ αναλογία} = 2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6\%$ είναι μεγαλύτερη από το καθορισμένο ανώτατο LoQ της εξέτασης στο 25%

Αποτέλεσμα: **ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Υψηλότερο από το ανώτατο LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**. Βλ. Εικόνα 4.



Εικόνα 4. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: **ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Υψηλότερο από το ανώτατο LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**

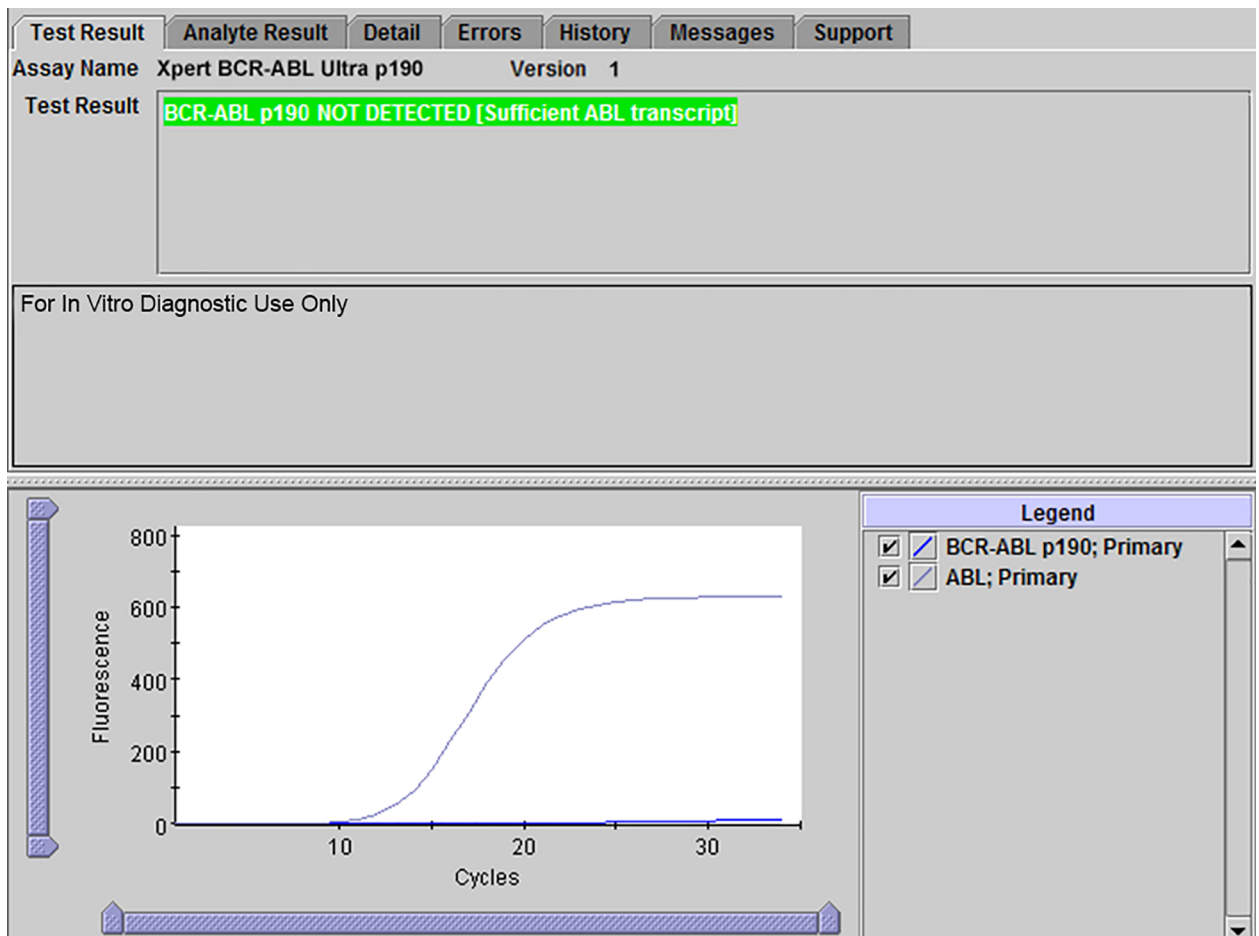
14.4 BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [Επαρκές μεταγράφημα ABL])

Δεν ανιχνεύτηκε BCR-ABL p190 με τιμή Ct BCR-ABL p190 ίση με «0» ή μεγαλύτερη από την τιμή cut-off «32» και τιμή ABL Ct μεγαλύτερη από «8» και χαμηλότερη από ή ίση με «18».

Όταν δεν ανιχνεύεται BCR-ABL p190 με τιμή Ct BCR-ABL p190 ίση με «0» ή μεγαλύτερη από την τιμή cut-off «32», το λογισμικό GeneXpert αρχικά αναζητά την τιμή Ct ABL για να επιβεβαιώσει εάν η τιμή Ct ABL είναι υψηλότερη από ή ίση με «8» και χαμηλότερη από ή ίση με «18», ώστε να επιβεβαιωθεί ότι έχει «Επαρκές μεταγράφημα ABL (Sufficient ABL transcript)». Βλ. Πίνακας 2.

Παράδειγμα: BCR-ABL p190 Ct = 0, ABL Ct = 11,6 που είναι μικρότερο από «18».

Αποτέλεσμα: **BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [Επαρκές μεταγράφημα ABL]).** Βλ. Εικόνα 5.



Εικόνα 5. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ BCR-ABL p190 [Επαρκές μεταγράφημα ABL])

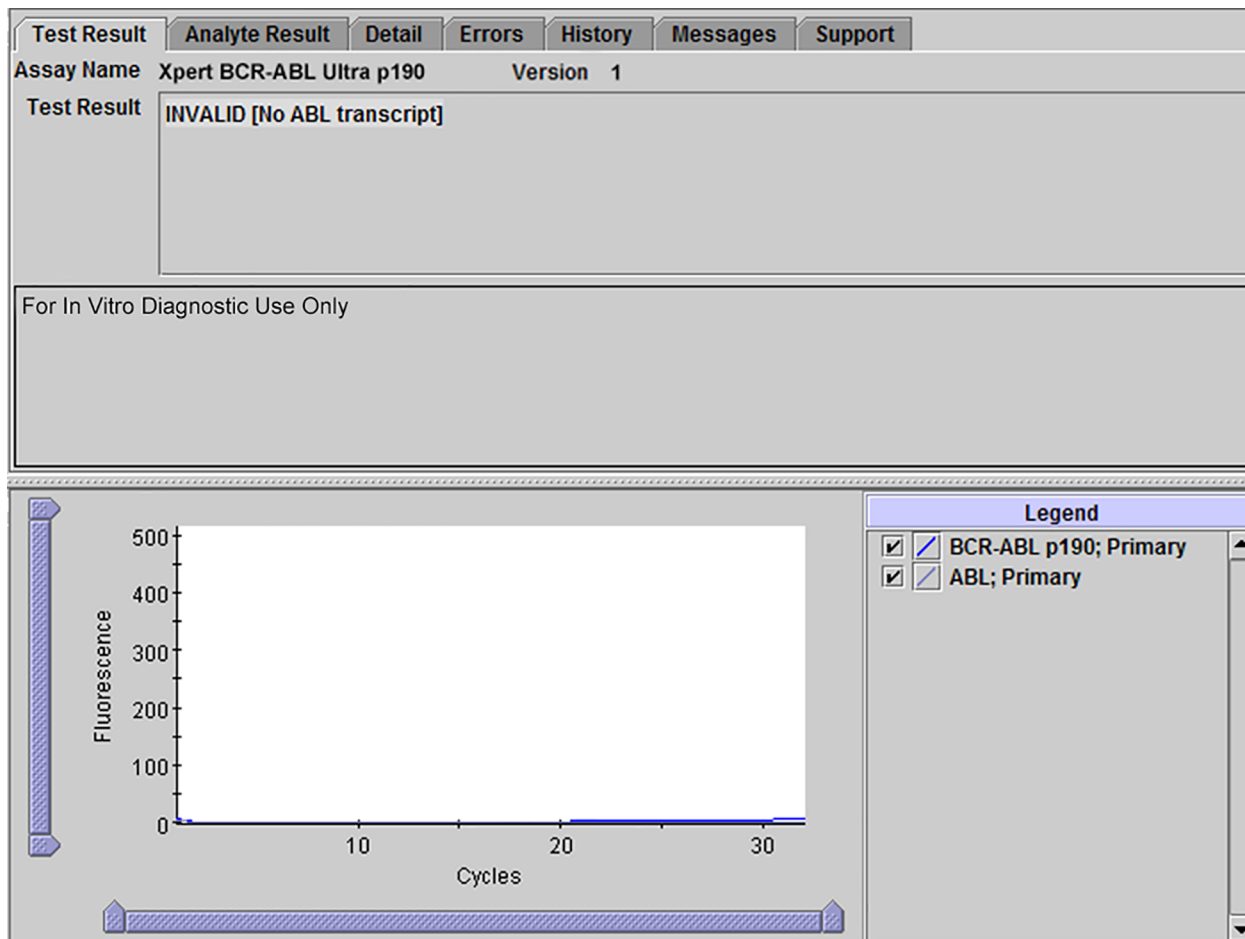
14.5 INVALID [No ABL transcript] (ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Απουσία μεταγραφήματος ABL])

Δεν ανιχνεύτηκε BCR-ABL p190 με τιμή ABL Ct ίση με «0».

Όταν το BCR-ABL p190 είτε ανιχνευτεί είτε δεν ανιχνευτεί, το λογισμικό GeneXpert αρχικά αναζητά την τιμή ABL Ct για να επιβεβαιώσει εάν η τιμή ABL Ct είναι χαμηλότερη από ή ίση με «18», ώστε να επιβεβαιωθεί ότι έχει «Επαρκές μεταγράφημα ABL (Sufficient ABL transcript)». Ανατρέξτε στην Ενότητα 16, Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.

Παράδειγμα: BCR-ABL p190 Ct = 0, ABL Ct = 0.

Αποτέλεσμα: **INVALID [No ABL transcript] (ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Απουσία μεταγραφήματος ABL]).** Βλ. Εικόνα 6.



Εικόνα 6. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: **INVALID [No ABL transcript] (ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Απουσία μεταγραφήματος ABL])**

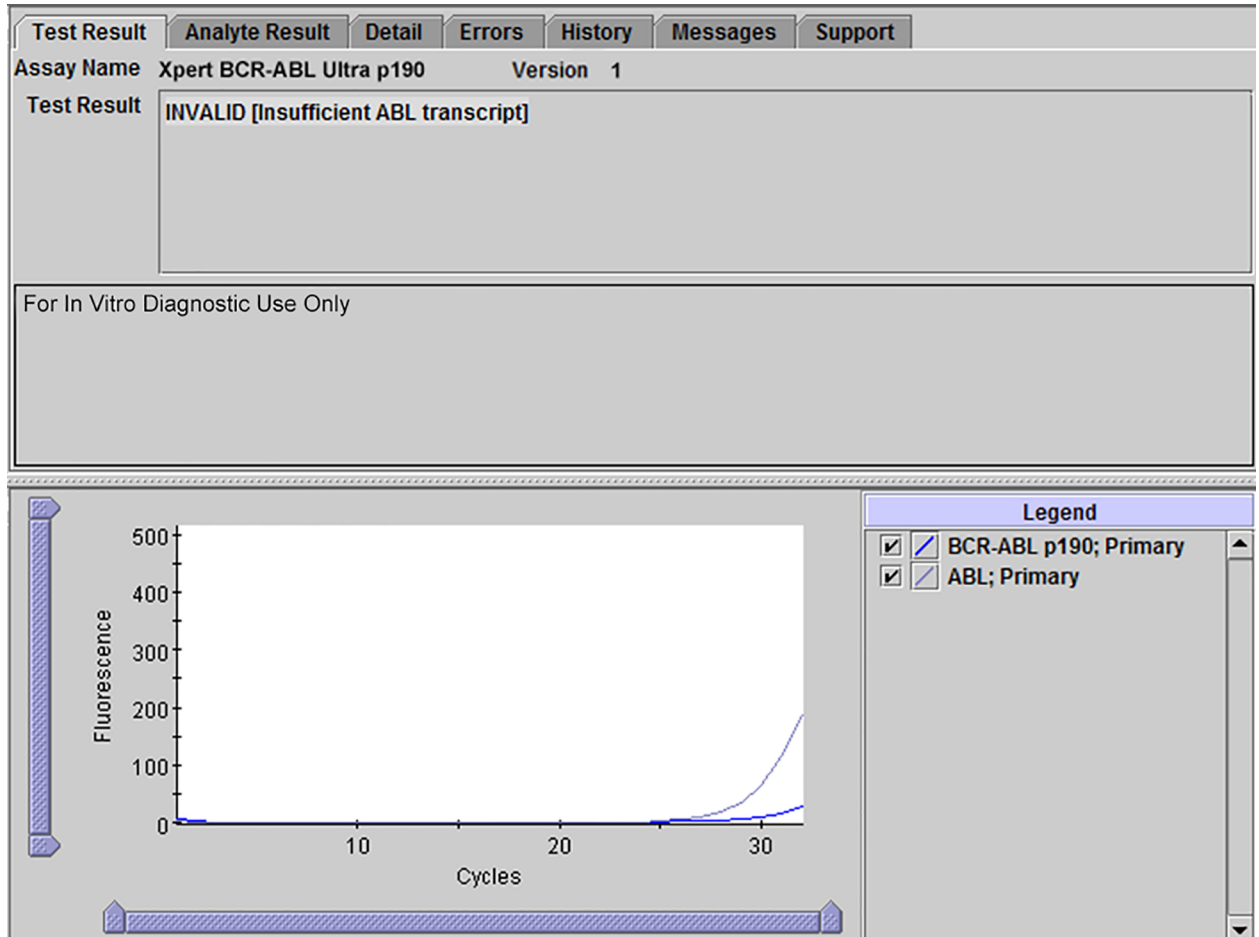
14.6 ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Ανεπαρκές μεταγράφημα ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

Δεν ανιχνεύτηκε BCR-ABL p190 με τιμή ABL Ct υψηλότερη από «18».

Όταν το BCR-ABL p190 είτε ανιχνευτεί είτε δεν ανιχνευτεί, το λογισμικό GeneXpert αρχικά αναζητά την τιμή ABL Ct για να επιβεβαιώσει εάν η τιμή ABL Ct είναι χαμηλότερη από ή ίση με «18», ώστε να επιβεβαιωθεί ότι έχει «Επαρκές μεταγράφημα ABL (Sufficient ABL transcript)». Ανατρέξτε στην Ενότητα 16, Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.

Παράδειγμα: BCR-ABL p190 Ct = 31,2, ABL Ct = 28 που είναι μεγαλύτερο από «18».

Αποτέλεσμα: ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Ανεπαρκές μεταγράφημα ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).
Βλ. Εικόνα 7.



Εικόνα 7. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Ανεπαρκές μεταγράφημα ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

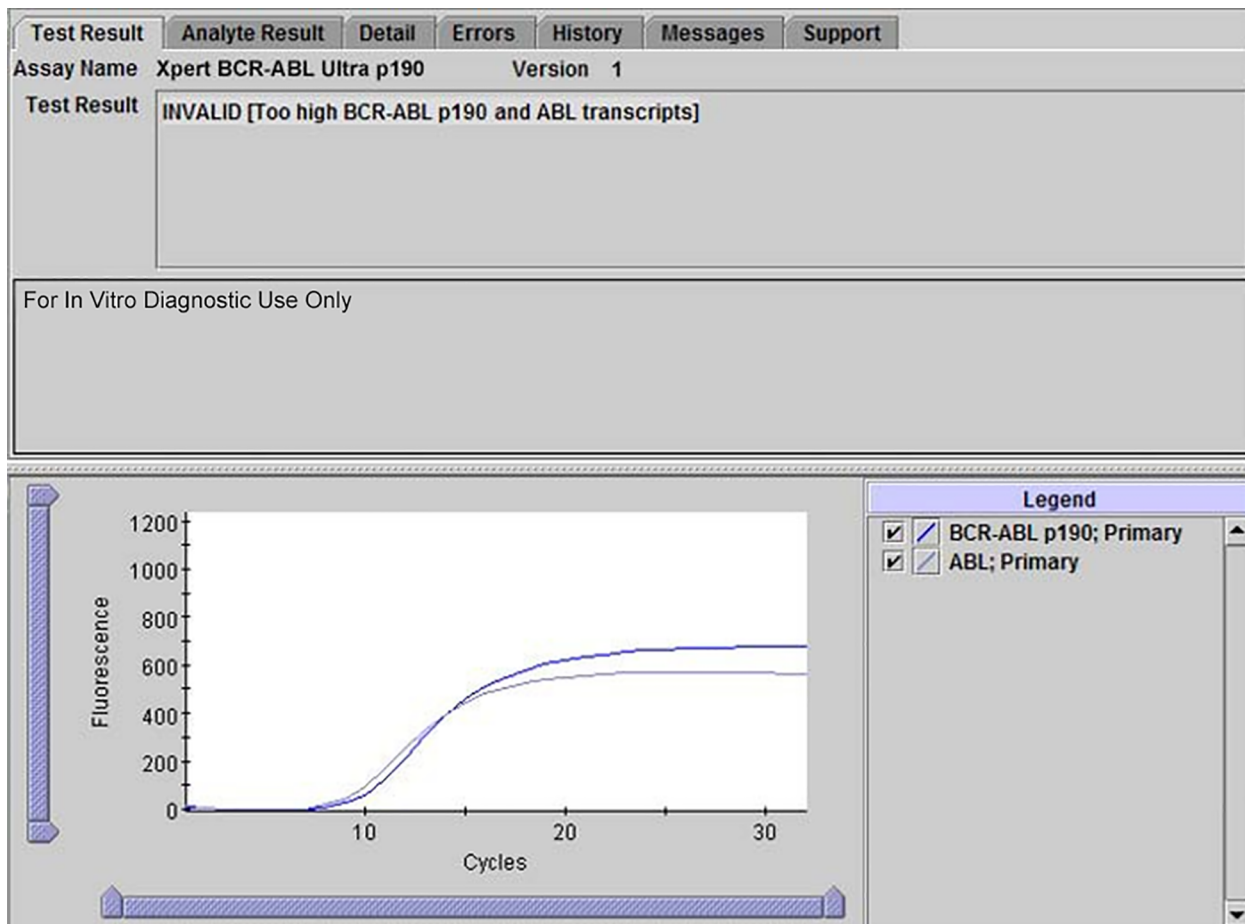
14.7 ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Πολύ υψηλά μεταγραφήματα BCR-ABL p190 και ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

Ανιχνεύτηκε BCR-ABL p190 με τιμές Ct BCR-ABL p190 και ABL χαμηλότερες από «8».

Όταν το BCR-ABL p190 είτε ανιχνευτεί είτε δεν ανιχνευτεί, το λογισμικό GeneXpert αρχικά αναζητά την τιμή ABL Ct για να επιβεβαιώσει εάν η τιμή ABL Ct είναι χαμηλότερη από ή ίση με «18», ώστε να επιβεβαιωθεί ότι έχει «Επαρκές μεταγράφημα ABL (Sufficient ABL transcript)». Ανατρέξτε στην Ενότητα 16, Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.

Παράδειγμα: BCR-ABL p190 Ct = 7,9, ABL Ct = 7,6 που είναι μικρότερο από «8».

Αποτέλεσμα: ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Πολύ υψηλά μεταγραφήματα BCR-ABL p190 και ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts]). Βλ. Εικόνα 8.



Εικόνα 8. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ [Πολύ υψηλά μεταγραφήματα BCR-ABL p190 και ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

14.8 ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)

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

Εικόνα 9. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)

15 Περιορισμοί

- Το προϊόν προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση μόνο.
- Η εξέταση δεν προορίζεται για χρήση με εξωτερικούς βαθμονομητές.
- Η εξέταση δεν ενδείκνυται για τον προσδιορισμό της διακοπής της θεραπείας με TKI, ούτε για την παρακολούθηση μετά τη διακοπή.
- Η απόδοση της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 αξιολογήθηκε με χρήση των διαδικασιών που παρέχονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης μόνο. Τροποποιήσεις σε αυτές τις διαδικασίες ενδέχεται να μεταβάλλουν την απόδοση της εξέτασης.
- Αυτό το προϊόν έχει επικυρωθεί για αίμα που συλλέγεται σε σωληνάρια EDTA.
- Μη χρησιμοποιείτε ηπαρίνη ως αντιπηκτικό γιατί αναστέλλει την αντίδραση PCR.
- Οι τύποι δειγμάτων κιτρικού νατρίου (Na Citrate), λευκής στιβάδας και μυελού των οστών δεν έχουν επικυρωθεί.
- Μπορεί να προκληθούν εσφαλμένα αποτελέσματα εξετάσεων λόγω ακατάλληλης συλλογής δειγμάτων, ακατάλληλου χειρισμού ή ακατάλληλης αποθήκευσης ή ανάμειξης δειγμάτων. Είναι απαραίτητη η αυστηρή τήρηση των οδηγιών χρήσης για την αποτροπή εσφαλμένων αποτελεσμάτων.
- Η εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 έχει σχεδιαστεί μόνο για την ανίχνευση του μεταγραφήματος σύντηξης p190 BCR-ABL τύπου e1a2. Η δυνατότητα ανίχνευσης άλλων μεταγραφημάτων σύντηξης δεν έχει αξιολογηθεί πέρα από αυτά που περιγράφονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης. Η εξέταση δεν ανιχνεύει μείζονα ή μικροσκοπικά σημεία θραύσης, μικροδιαγραφές ή μεταλλάξεις.
- Η εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 δεν προορίζεται για την ανίχνευση αντιμεταθέσεων e13a2/b2a2 και e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) ή άλλων ελασσόνων αντιμεταθέσεων που μπορεί να υπάρχουν σε ένα δείγμα περιφερικού αίματος από ασθενή με λευχαιμία.
- Για ορισμένα δείγματα με πολύ υψηλό αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων (υψηλότερο από 30 εκατομμύρια κύτταρα/ml). Η εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 μπορεί να αναφέρει αποτελέσματα **ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)** (Τύπου 2) λόγω υπερβολικών επιπέδων BCR-ABL p190 ή ABL στο δείγμα. Για περισσότερες λεπτομέρειες ανατρέξτε στην Πίνακας 2.

- Ορισμένα δείγματα με πολύ χαμηλά επίπεδα μεταγραφήματος ABL ή με επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων χαμηλότερα από 150.000 κύτταρα/ml μπορεί να αναφερθούν ως **ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)** (Τύπου 1). Ένα απροσδιόριστο αποτέλεσμα δεν αποκλείει την παρουσία χαμηλών επιπέδων λευχαιμικών κυττάρων στον ασθενή.
- Μεταγράφημα ΧΜΛ p230 με σημείο μικροσκοπικής θραύσης e19a2 μπορεί να αναφέρει θετικό αποτέλεσμα BCR-ABL χαμηλότερο από το LoD της εξέτασης (0,0065%) κατά την εξέταση σε υψηλά επίπεδα στόχου (> 3,52 log πάνω από το LoD).
- Μεταλλάξεις ή πολυμορφισμοί σε περιοχές πρόσδεσης εκκινητή ή ανιχνευτή μπορεί να επηρεάσουν την ανίχνευση νέων ή άγνωστων παραλλαγών και μπορεί να οδηγήσουν σε ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα.
- Σε ορισμένους ασθενείς με πολύ χαμηλά επίπεδα μεταγραφήματος BCR-ABL1 (δηλαδή χαμηλότερο από το LoD 0,0065%) μπορεί να αναφερθεί αποτέλεσμα **BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (ΔEN ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Επαρκές μεταγράφημα ABL])**. Συνεπώς, ένα αποτέλεσμα μη ανίχνευσης δεν αποκλείει την παρουσία χαμηλών επιπέδων λευχαιμικών κυττάρων στον ασθενή.
- Η εξέταση έχει επικυρωθεί για χρήση στο GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

16 Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Πίνακας 2. Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Αποτέλεσμα της εξέτασης	Πιθανές αιτίες	Συστάσεις
ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)	Τύπου 1: Αποτυχία ενδογενούς μάρτυρα ABL: <ul style="list-style-type: none"> • Κακή ποιότητα δείγματος • Αναστολή RT-PCR • Εάν η ABL Ct > 18 ή/και το τελικό σημείο είναι < 200 	<ul style="list-style-type: none"> • Ελέγξτε την ποιότητα του δείγματος (π.χ. υπέρβαση απαίτησης αποθήκευσης δείγματος, συμπεριλαμβανομένου του χρόνου και της θερμοκρασίας). • Επαναλάβετε την εξέταση με το αρχικό δείγμα (εάν είναι διαθέσιμο) ή από διατηρημένο υλικό λύσης και με νέα φύσιγγα, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στην Ενότητα 17.1, Διαδικασία επανεξέτασης για ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID) (Τύπος 1).
	Τύπου 2: Το επίπεδο του μεταγραφήματος BCR-ABL δεν μπορεί να προσδιοριστεί λόγω δείγματος που περιέχει περίσσεια μεταγραφημάτων BCR-ABL p190 ή/και ABL (Ct < 8)	Επαναλάβετε την εξέταση με το αρχικό δείγμα (εάν είναι διαθέσιμο) ή από διατηρημένο υλικό λύσης και με νέα φύσιγγα, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στην Ενότητα 17.2, Διαδικασία επανεξέτασης για ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) (Κωδικός 2008) ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID) (Τύπος 2).
ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) (Κωδικός 2008)	Η πίεση υπερβαίνει το όριο (μήνυμα σφάλματος 2008)	<ul style="list-style-type: none"> • Ελέγξτε την ποιότητα του δείγματος • Ελέγξτε για εξαιρετικά αυξημένη τιμή WBC • Επαναλάβετε την εξέταση με το αρχικό δείγμα (εάν είναι διαθέσιμο) ή από διατηρημένο υλικό λύσης και με νέα φύσιγγα, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στην Ενότητα 17.2, Διαδικασία επανεξέτασης για ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) (Κωδικός 2008) ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID) (Τύπος 2).
ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) (Κωδικός 5006, 5007, 5008 και 5009) ^{a)}	Αποτυχία ελέγχου ανιχνευτή	Επαναλάβετε την εξέταση με το αρχικό δείγμα (εάν είναι διαθέσιμο) ή από διατηρημένο υλικό λύσης και με νέα φύσιγγα, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στην Ενότητα 17.1, Διαδικασία επανεξέτασης για ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID) (Τύπος 1).

Αποτέλεσμα της εξέτασης	Πιθανές αιτίες	Συστάσεις
ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)	Αποτυχία συλλογής δεδομένων. Για παράδειγμα, ο χειριστής διέκοψε μια εξέταση που βρισκόταν σε εξέλιξη ή παρουσιάστηκε διακοπή τροφοδοσίας.	Επαναλάβετε την εξέταση με το αρχικό δείγμα (εάν είναι διαθέσιμο) ή από διατηρημένο υλικό λύσης και με νέα φύσιγγα, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στην Ενότητα 17.1, Διαδικασία επανεξέτασης για ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID) (Τύπος 1).

^a Αυτή δεν είναι μια πλήρης λίστα των κωδικών ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ (ERROR).

17 Επανεξετάσεις

17.1 Διαδικασία επανεξέτασης για ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID) (Τύπος 1)

Επανεξετάστε τα δείγματα με αποτελέσματα **ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)** ή **ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)** λόγω του ότι ο ουδός κύκλου (cycle threshold, Ct) του ABL υπερβαίνει τη μέγιστη έγκυρη τιμή Ct cut-off (Ct >18) ή ότι το τελικό σημείο είναι χαμηλότερο από τη ρύθμιση ουδού (< 200). Ανατρέξτε επίσης στον Πίνακα 2.

1. Μετρήστε τον όγκο του δείγματος αίματος:

- Εάν είναι διαθέσιμος *επαρκής* όγκος δείγματος, επανεξετάστε από το αρχικό σωληνάριο συλλογής δείγματος αίματος, ακολουθώντας τη διαδικασία στην Ενότητα 11.2.1.

-Η-

- Εάν το δείγμα αίματος είναι *ανεπαρκές*, η επανεξέταση μπορεί να πραγματοποιηθεί με το υλικό λύσης που έχει απομείνει από την Ενότητα 11.2.1, βήμα 12.
 - Εάν το διατηρημένο υλικό λύσης από την Ενότητα 11.2.1, βήμα 12, αποθηκεύεται κατεψυγμένο, αποψύξτε το σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
 - Βεβαιωθείτε ότι το υλικό λύσης έχει αναμειχθεί καλά αναμειγνύοντας το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα και αφήστε το στην άκρη για 3 λεπτά ώστε να διαλυθούν οι φυσαλίδες. Μεταβείτε στο βήμα 2.
- Μεταφέρετε 1 ml του διατηρημένου υλικού λύσης σε ένα νέο κωνικό σωληνάριο 50 ml.
 - Στο νέο κωνικό σωληνάριο που περιέχει το υλικό λύσης, προσθέστε 1,5 ml αντιδραστηρίου λύσης (LY).
 - Ακολουθήστε τα βήματα 14-17 στην Ενότητα 11.2.1 για να δημιουργήσετε το τελικό υλικό λύσης.
 - Ανοίξτε τη φύσιγγα ανασηκώνοντας το καπάκι της φύσιγγας και μεταφέρετε όλα τα περιεχόμενα της αμπούλας του αντιδραστηρίου πλύσης (1) στον θάλαμο αντιδραστηρίου πλύσης (με το μικρό άνοιγμα). Βλ. Εικόνα 1.
 - Μεταφέρετε με πιπέτα ολόκληρα τα περιεχόμενα του προετοιμασμένου δείγματος στον θάλαμο δείγματος (μεγάλο άνοιγμα). Βλ. Εικόνα 1.
 - Κλείστε το καπάκι της φύσιγγας. Ξεκινήστε την εξέταση (βλ. Ενότητα 11.4).

17.2 Διαδικασία επανεξέτασης για ΣΦΑΛΜΑ (ERROR) (Κωδικός 2008) ή ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID) (Τύπος 2)

Επανεξετάστε τα δείγματα με επίπεδα μεταγραφημάτων BCR-ABL ή/και ABL χαμηλότερα από την ελάχιστη έγκυρη τιμή Ct cut-off (Ct < 8) ή/και όταν γίνει υπέρβαση του ορίου πίεσης. Ανατρέξτε επίσης στον Πίνακα 2.

- Προς τον πυθμένα ενός νέου κωνικού σωληναρίου 50 ml, προσθέστε 100 μl PK (Πρωτεΐνωση Κ).
- Μετρήστε τον όγκο του δείγματος αίματος:

- Εάν είναι διαθέσιμος *επαρκής* όγκος δείγματος, επανεξετάστε από το αρχικό σωληνάριο συλλογής δείγματος αίματος. Βεβαιωθείτε ότι το δείγμα αίματος είναι καλά αναμειγμένο αναστρέφοντας το σωληνάριο συλλογής αίματος 8 φορές αμέσως πριν από τη μεταφορά με πιπέτα. Μεταβείτε στο βήμα 3.

-H-

- Εάν το δείγμα αίματος είναι *ανεπαρκές*, η επανεξέταση μπορεί να πραγματοποιηθεί από το υλικό λύσης που έχει απομείνει από την Ενότητα 11.2.1, βήμα 12.
 - a. Εάν το διατηρημένο υλικό λύσης από την Ενότητα 11.2.1, βήμα 12, αποθηκεύεται κατεψυγμένο, αποψύξτε το σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Εάν χρησιμοποιηθεί υλικό λύσης που έχει διατηρηθεί σε ψυγείο, αφήστε το να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
 - b. Βεβαιωθείτε ότι το υλικό λύσης έχει αναμειχθεί καλά αναμειγνύοντας το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 10 δευτερόλεπτα και αφήστε το στην άκρη για 3 λεπτά ώστε να διαλυθούν οι φυσαλίδες. Μεταβείτε στο βήμα 3.
- 3. Στο σωληνάριο που περιέχει πρωτεΐνωση K, προσθέστε 50 μl δείγματος αίματος, εάν είναι διαθέσιμο, ή 80 μl υλικού λύσης που έχει απομείνει από το Ενότητα 11.2.1 βήμα 12.
- 4. Αναμείξτε το δείγμα με αναδευτήρα τύπου vortex στη μέγιστη ρύθμιση συνεχώς για 3 δευτερόλεπτα.
- 5. Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 λεπτό.
- 6. Ακολουθήστε τα βήματα 6-13 στην Ενότητα 11.2.2 για να δημιουργήσετε το τελικό υλικό λύσης.
- 7. Ανοίξτε τη φύσιγγα ανασηκώνοντας το καπάκι της φύσιγγας και μεταφέρετε όλα τα περιεχόμενα της αμπούλας του αντιδραστηρίου πλύσης (1) στον θάλαμο αντιδραστηρίου πλύσης (με το μικρό άνοιγμα). Βλ. Εικόνα 1.
- 8. Μεταφέρετε με πιπέτα ολόκληρα τα περιεχόμενα του προετοιμασμένου δείγματος στον θάλαμο δείγματος (μεγάλο άνοιγμα). Βλ. Εικόνα 1.
- 9. Κλείστε το καπάκι της φύσιγγας. Ξεκινήστε την εξέταση (βλ. Ενότητα 11.4).

18 Αναμενόμενες τιμές

Το εύρος Xpert BCR-ABL Ultra p190 καλύπτει τα βασικά κλινικά σημεία λήψης απόφασης για την παρακολούθηση της ΧΜΛ και της ΟΛΛ. Οι αναμενόμενες τιμές εκφράζονται ως ποσοστιαία αναλογία του mRNA του BCR-ABL p190 (e1a2) με το mRNA του ABL και εύρος μεταξύ 0,0065% και 25%. Οι μετρήσεις που είναι χαμηλότερες από αυτό το εύρος αναφέρονται ως μη ανιχνεύσιμες ή χαμηλότερη από το όριο ανίχνευσης (LoD). Οι μετρήσεις που είναι υψηλότερες από αυτό το εύρος αναφέρονται ως υψηλότερες από το όριο ποσοτικοποίησης (LoQ). Ανατρέξτε στην Ενότητα 14 για λεπτομέρειες.

19 Κλινική απόδοση

Η κλινική απόδοση της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 αξιολογήθηκε σε τρία ιδρύματα στις Η.Π.Α. στο πλαίσιο μιας κλινικής μελέτης σε πολλαπλά κέντρα. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με τη χρήση προοπτικά συλλεχθέντων δειγμάτων περιφερικού αίματος (peripheral blood, PB) με EDTA από ασθενείς με οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) και χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης της θεραπείας. Επιπλέον, η μελέτη συμπεριέλαβε υπολειπόμενα δείγματα που είχαν αποθηκευτεί ως κατεψυγμένα κλινικά υλικά λύσης, τα οποία παρασκευάστηκαν από EDTA PB από τον ίδιο πληθυσμό ασθενών. Η απόδοση της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 συγκρίθηκε με μια μοριακή εξέταση που ανιχνεύει και ποσοτικοποιεί τα μεταγραφήματα mRNA για ασθενείς με ΧΜΛ και ΟΛΛ με θετικό p190 [t(9;22)(q34;q11)] που εκφράζουν το μεταγράφημα σύντηξης BCR-ABL1 τύπου e1a2 και χρησιμοποιεί το ABL ως μεταγράφημα mRNA ενδογενούς μάρτυρα.

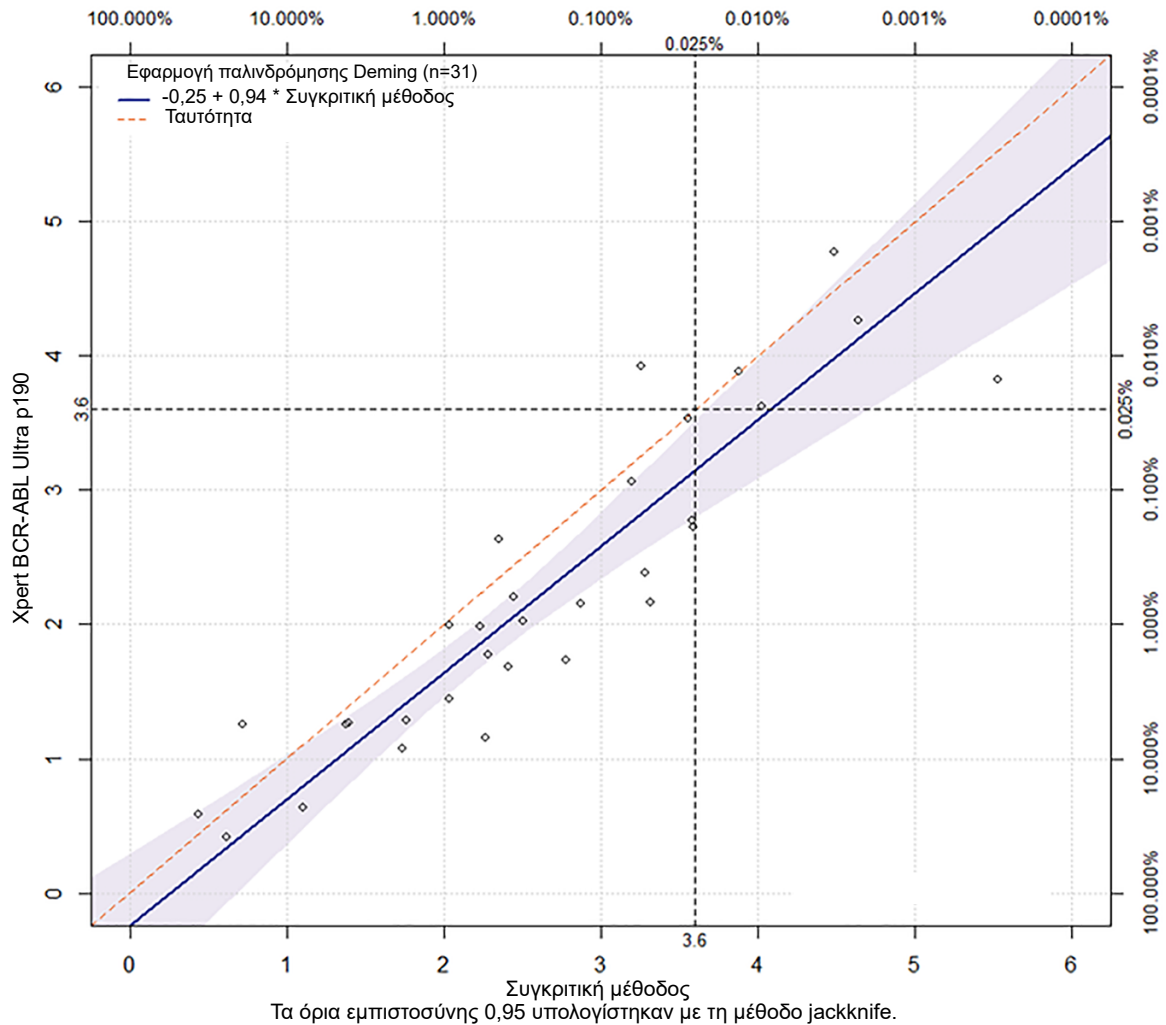
Συνολικά 47 δείγματα εγγράφηκαν σε αυτήν τη μελέτη. Από αυτά τα 47 δείγματα, 9 είχαν απόδοση RNA < 100 ng/ml και αποκλείστηκαν από τις αναλύσεις. Συνολικά 9 δείγματα αποκλείστηκαν, αφήνοντας 38 δείγματα να έχουν συμπεριληφθεί στο τελικό σύνολο δεδομένων. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι και τα 9 δείγματα που αποκλείστηκαν απέδωσαν έγκυρα αποτελέσματα εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190.

Συλλέχθηκαν η ηλικία και το φύλο για τα 38 δείγματα που εγγράφηκαν σε αυτήν τη μελέτη. Συλλέχθηκαν δείγματα από 25 άντρες (65,8%) και 13 γυναίκες (34,2%). Όλα τα δείγματα προέρχονταν από ασθενείς μεταξύ 20 και 88 ετών, με μέση ηλικία 54,5 έτη. Συλλέχθηκαν είκοσι τρία (61%) δείγματα από ασθενείς που διαγνώστηκαν με ΟΛΛ και 15 (39%) δείγματα από ασθενείς που διαγνώστηκαν με ΧΜΛ.

Από τα 38 επιλέξιμα δείγματα, επτά (7) δείγματα αποκλείστηκαν από την παλινδρόμηση Deming, καθώς ήταν αρνητικά για τουλάχιστον μία από τις εξετάσεις. Τριάντα ένα δείγματα εντός των ποσοτικών ευρών τιμών και των δύο εξετάσεων συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση παλινδρόμησης Deming.

Η ανάλυση παλινδρόμησης Deming για τα αποτελέσματα ποσοστιαίας αναλογίας (percent ratio, PR) δείχνει καλή συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων της Xpert BCR-ABL Ultra p190 και της συγκριτικής μεθόδου όσον αφορά τη μέτρηση της PR. Το σημείο τομής ήταν 0,01 και η κλίση ήταν 1,08. Και τα δύο πληρούν τα κριτήρια αποδοχής. Η τιμή r Pearson ήταν 0,814.

Πραγματοποιήθηκε λογαριθμική μείωση (Log Reduction, LR) για την κανονικοποίηση της κατανομής των δεδομένων PR. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση παλινδρόμησης Deming με τη χρήση μετρήσεων LR και παρουσιάζεται στην Εικόνα 10 παρακάτω.



Εικόνα 10. Παλινδρόμηση Deming για LR

Η Εικόνα 10 παρουσιάζει υψηλή συσχέτιση μεταξύ της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 και εξετάσεων συγκριτικής μεθόδου για τις μετρήσεις LR. Η παλινδρόμηση Deming έχει κλίση 0,94 και σημείο τομής -0,25. Τα αποτελέσματα παλινδρόμησης Deming για τις τιμές LR εκπλήρωσαν επίσης τα κριτήρια αποδοχής για το σημείο τομής και την κλίση. Η συνολική συσχέτιση (Pearson) $r=0,904$ ήταν υψηλή.

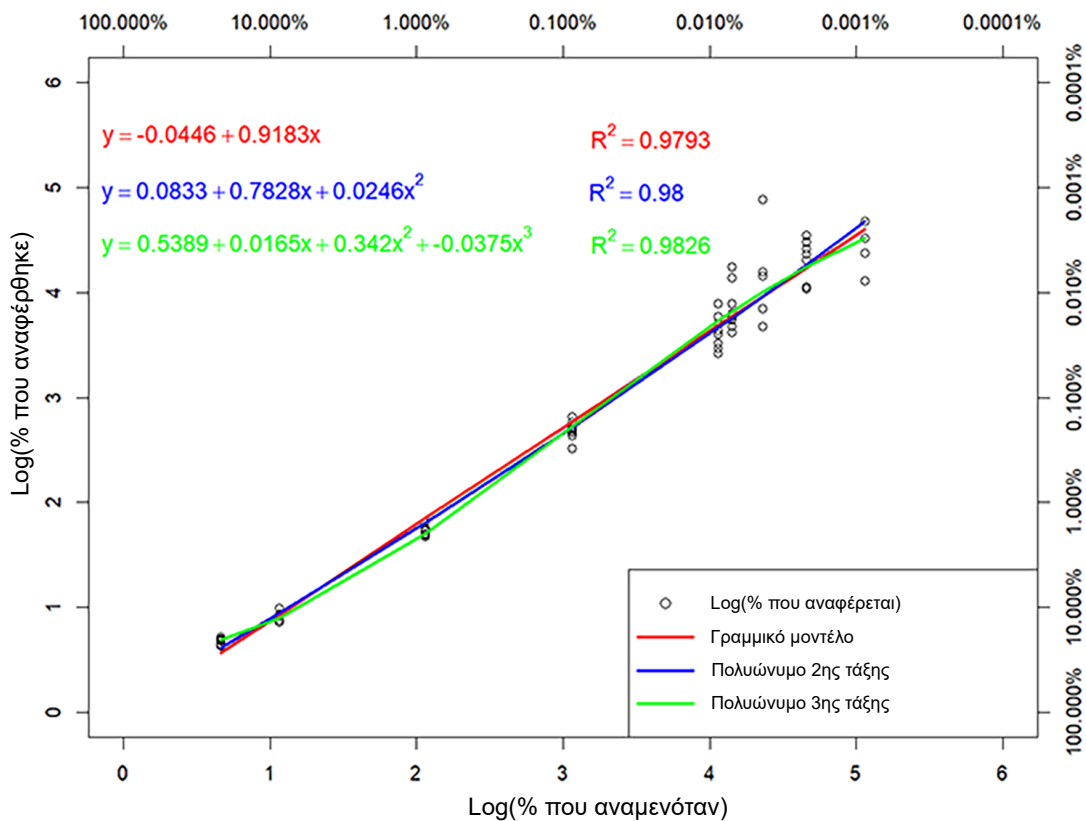
Η θετική προβλεπόμενη μεροληψία του 0,01 στην ποσοστιαία αναφορά (LR: -0,39), καθώς και η κατανομή υποδεικνύει ότι για τα περισσότερα δείγματα, η εξέταση Xpert μετρά υψηλότερη συγκέντρωση του μεταγραφώματος p190 συγκριτικά με τη συγκριτική μέθοδο. Η εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 κατέδειξε υψηλή συσχέτιση 0,904 με τη συγκριτική μέθοδο και είχε χαμηλή μεροληψία με τη χρήση των μετρήσεων LR. Το ποσοστό απροσδιόριστων αποτελεσμάτων που παρατηρήθηκαν σε αυτήν τη μελέτη ήταν 0% και τα κριτήρια αποδοχής του ποσοστού απροσδιόριστων αποτελεσμάτων $\leq 5\%$ εκπληρώθηκε επίσης. Η εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 κατέδειξε αποδεκτή συμφωνία με τη συγκριτική μέθοδο, όπως καταδείχθηκε από την κλίση και το σημείο τομής σε μια ανάλυση παλινδρόμησης Deming.

20 Αναλυτική απόδοση

20.1 Γραμμικότητα/δυναμικό εύρος

Η γραμμικότητα αξιολογήθηκε για το έλασσον σημείο θραύσης, e1a2, χρησιμοποιώντας το ολικό RNA από την κυτταρική σειρά ΟΛΛ SUP-B15. Το συνολικό RNA από το μεταγράφημα BCR-ABL p190 αραιώθηκε σε υλικό λύσης υποβάθρου που προετοιμάζεται από κλινικό δείγμα αρνητικό για ΟΛΛ στα εύρη τιμών-στόχου ~25% έως 0,001% (LR [λογαριθμική μείωση] 0,60 σε LR5). Τα μέλη του πάνελ, συμπεριλαμβανομένου του αρνητικού επιπέδου, εξετάστηκαν σε δύο παρτίδες κιτ εξετάσεων σε 4 επαναληπτικά δείγματα ανά παρτίδα κιτ.

Η εξέταση και οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με το CLSI EP06-A. Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις γραμμικής παλινδρόμησης για τα πολώνυμα πρώτης, δεύτερης και τρίτης τάξης. Το αποτέλεσμα για το σημείο θραύσης e1a2 θεωρήθηκε γραμμικό εάν οι συντελεστές πολυωνμικής παλινδρόμησης ήταν μη σημαντικοί (τιμές $p > 0,05$). Η καμπύλη γραμμικής παλινδρόμησης παρουσιάζεται στην Εικόνα 11 παρακάτω.



Εικόνα 11. Καμπύλες γραμμικής παλινδρόμησης για το μεταγράφημα σημείου θραύσης e1a2

Τα εκτιμώμενα σημεία τομής παλινδρόμησης, οι κλίσεις και οι τιμές R² από το γραμμικό μοντέλο παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Συντελεστές παλινδρόμησης από γραμμικό μοντέλο

Σημείο θραύσης	Σημείο τομής	Κλίση	R ²
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Συνολικά, τα δεδομένα υποστηρίζουν μια παρατήρηση γραμμικότητας από ~25%/LR 0,60 έως 0,001%/LR5 με μέγιστο SD 0,26. Το αναφερόμενο εύρος τιμών κυμαίνεται από τα όρια γραμμικότητας σε 25%/LR 0,6 έως το LOQ σε 0,0065%/LR4,19.

20.2 Αναλυτική ειδικότητα (Όριο ανίχνευσης, όριο ποσοτικοποίησης, όριο τυφλού)

Το όριο ανίχνευσης (LoD) εκτιμήθηκε για το σημείο θραύσης e1a2 με την εξέταση διαδοχικών αραιώσεων των θετικών κλινικών δειγμάτων για ΟΛΛ [$>10\%$]. Συνδυάστηκαν τα δεδομένα όλων των αραιώσεων και εκτιμήθηκε το LoD με τη χρήση ανάλυσης παλινδρόμησης probit. Η επακόλουθη ανάλυση απέδωσε εκτιμώμενο LoD 0,0070% για το σημείο θραύσης e1a2.

Το LoD επαληθεύτηκε με την προσαρμογή της μη παραμετρικής μεθόδου που περιγράφεται στο έγγραφο οδηγιών του CLSI, EP17-A2 (Πίνακας 4). Τρία μοναδικά θετικά για ΟΛΛ δείγματα που αντιπροσωπεύουν το σημείο θραύσης e1a2 αραιώθηκαν σε στοχευόμενο επίπεδο 0,0065%. Εξετάστηκαν διακόσια δεκαπέντε επαναληπτικά δείγματα από 4 χειριστές σε 3 παρτίδες kit εξετάσεων για 3 ημέρες.

Πίνακας 4. Επαληθευμένο όριο ανίχνευσης σε %

Σημείο θραύσης	Θετικά/Επαναληπτικά δείγματα	% θετικών δειγμάτων	Μέση % αναλογία
e1a2	206/215	96,0%	0,0065%

Xpert BCR-ABL Ultra p190 Το LoD της εξέτασης για το e1a2 είναι 0,0065%.

Το όριο ποσοτικοποίησης (LoQ) εκτιμήθηκε με τα δεδομένα που λήφθηκαν από τις μελέτες LoD και γραμμικότητας. Υπολογίστηκε η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση για τις τιμές % BCR-ABL p190/ABL για τα επαναληπτικά δείγματα σε επίπεδα ίσα με το LoD ή μεγαλύτερα, με θετικότητα μεγαλύτερη ή ίση με 95%. Το LoQ αναφέρεται ως το ελάχιστο αναφερόμενο % BCR-ABL p190/ABL που μπορεί να ποσοτικοποιηθεί αξιόπιστα, εκπληρώνοντας τον στόχο ακρίβειας για την ανίχνευση του μεταγραφήματος e1a2 με θετικότητα μεγαλύτερη από ή ίση με 95%, με τυπική απόκλιση λογαριθμικής μείωσης (log reduction, LR) $\leq 0,36$ LR. Το LoQ της εξέτασης περιορίζεται από το LoD της εξέτασης. Συνεπώς, το LoQ προσδιορίστηκε ότι είναι ίσο με το LoD, 0,0065%. Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν επίσης έναντι των κριτηρίων αποδοχής για την τυπική απόκλιση (SD) $\leq 0,36$ LR και βρέθηκαν ότι ήταν εντός των κριτηρίων αποδοχής.

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη ορίου τυφλού (Limit of Blank, LoB) για να εκτιμηθεί η υψηλότερη % αναλογία BCR-ABL p190/ABL που είναι πιθανόν να ανιχνευθεί σε $\geq 95\%$ των αρνητικών για p190 δειγμάτων ολικού αίματος με EDTA. Το LoB της εξέτασης προσδιορίστηκε από 387 έγκυρα σύνολα δεδομένων σε μια μη παραμετρική ανάλυση χωρίς λογοκρισία, όπως περιγράφεται στο CLSI EP17-A2, για την εκτίμηση ενός LoB 0,00032% BCR-ABL p190/ABL.

20.3 Αναλυτική ειδικότητα

Η αναλυτική ειδικότητα του Xpert BCR-ABL Ultra p190 αξιολογήθηκε με την εξέταση δειγμάτων ολικού αίματος με EDTA από είκοσι (20) υγιείς δότες (χωρίς ΧΜΛ και χωρίς ΟΛΛ). Κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τετραπλούν.

Σήμα BCR-ABL p190 ανιχνεύτηκε σε ένα από τα 80 επαναληπτικά δείγματα, καταδεικνύοντας ότι η εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 είχε αναλυτική ειδικότητα για το μεταγράφημα BCR-ABL p190 ίση με 98,8%.

20.4 Επιμόλυνση λόγω μεταφοράς δείγματος

Διεξήχθη μια μελέτη για να δείξει ότι οι αυτόνομες φύσιγγες μίας χρήσης GeneXpert αποτρέπουν την επιμόλυνση λόγω μεταφοράς από φύσιγγες που αναλύονται διαδοχικά στην ίδια μονάδα. Για να καταδειχθεί αυτό, αναλύθηκαν αρνητικά δείγματα μετά από πολύ υψηλά θετικά δείγματα στην ίδια μονάδα GeneXpert. Αυτή η μελέτη περιλάμβανε την επεξεργασία φυσιολογικού **ΑΡΝΗΤΙΚΟΥ (NEGATIVE)** δείγματος EDTA (αίμα αρνητικό για ΟΛΛ) στην ίδια μονάδα GeneXpert αμέσως μετά από ένα υψηλά **ΘΕΤΙΚΟ (POSITIVE)** δείγμα (προσομοιωμένο αίμα θετικό για ΟΛΛ) με κύτταρα SUP-B15 που ενοφθαλμίστηκαν με αρνητικό για ΟΛΛ αίμα ώστε να αποδώσουν $\geq 10\%$. Το σχήμα εξέτασης επαναλήφθηκε 10 φορές για κάθε δείγμα, ξεκινώντας και τελειώνοντας με αρνητικό δείγμα, στις δύο μονάδες GeneXpert, με αποτέλεσμα 21 αρνητικά και 20 θετικά ανά μονάδα. Και τα είκοσι θετικά για BCR-ABL p190 δείγματα αναφέρθηκαν σωστά ως **ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [###%] (BCR-ABL p190 DETECTED [###%])**, ενώ τα είκοσι ένα αρνητικά για BCR-ABL p190 δείγματα αναφέρθηκαν σωστά ως **ΔΕΝ ANIXNEYTHKE BCR-ABL p190 [Επαρκές μεταγράφημα ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

20.5 Ουσίες που ενδέχεται να προκαλούν δυνητική παρεμπόδιση

Αυτή η μελέτη αξιολόγησε πέντε ουσίες που ενδέχεται να υπάρχουν σε δείγματα ολικού αίματος με EDTA με δυνατότητα πρόκλησης παρεμπόδισης κατά την πραγματοποίηση της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190. Οι ενόσεις και τα επίπεδα που εξετάστηκαν (βλ. Πίνακας 5) βασίστηκαν στις οδηγίες του εγγράφου EP07-A2 του CLSI. Τα υλικά παρεμπόδισης εξετάστηκαν σε υπόβαθρο δειγμάτων ολικού αίματος ΟΛΛ με EDTA, που δημιουργήθηκαν τεχνητά με κύτταρα ΟΛΛ SUP-B15, αντιπροσωπεύοντας τρία επίπεδα με πέντε δείγματα ανά επίπεδο: >1%, 0,1-0,02% και αρνητικό. Οι μάρτυρες της εξέτασης αποτελούνταν από κύτταρα SUP-B15 σε ολικό αίμα με EDTA στο αντίστοιχο επίπεδο μεταγραφήματος BCR-ABL p190 χωρίς την ουσία παρεμπόδισης. Κάθε δείγμα ΟΛΛ εξετάστηκε απουσία και παρουσία πέντε μεμονωμένων υλικών παρεμπόδισης σε 4 επαναληπτικά δείγματα ανά κατάσταση.

Μια ουσία θεωρήθηκε ότι δεν προκαλεί παρεμπόδιση εάν κατά την παρουσία της, η μέση % αναλογία που παρατηρήθηκε ήταν εντός 3πλάσιας διαφοράς κατά τη σύγκριση με τον μάρτυρα.

Δεν παρατηρήθηκε καμία κλινικά σημαντική ανασταλτική επίδραση στην εξέταση Xpert BCR-ABL Ultra p190 με καμία από τις ουσίες παρεμπόδισης που αξιολογήθηκαν σε αυτήν τη μελέτη. Παρότι παρατηρήθηκε κάποιου βαθμού διακύμανση και στατιστικά σημαντική διαφορά (τιμή $p < 0,05$) σε ορισμένες από τις καταστάσεις που εξετάστηκαν, οι αναφερόμενες % αναλογίες για τις καταστάσεις της εξέτασης και τις καταστάσεις ελέγχου βρίσκονταν εντός του αποδεκτού 3πλάσιου εύρους.

Πίνακας 5. Εξετασθείσες ουσίες που ενδέχεται να προκαλούν παρεμπόδιση με τη χρήση της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190

Ουσίες παρεμπόδισης	Συγκέντρωση που εξετάστηκε
Μη συζευγμένη χολερυθρίνη	20 mg/dl
Χοληστερόλη, ολική	500 mg/dl
Τριγλυκερίδια, ολικά (λιπίδια)	3000 mg/dl
Ηπαρίνη	3500 U/l
EDTA (σύντομη λήψη)	900 mg/dl

21 Αναπαραγωγιμότητα και ακρίβεια

Η αναπαραγωγιμότητα και η ακρίβεια της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 αξιολογήθηκε σε μια πολυκεντρική μελέτη σύμφωνα με το έγγραφο EP05-A3 του CLSI, «Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline» και το έγγραφο EP15-A3 του CLSI, «User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline».

Ο Πίνακας 6 παρουσιάζει το πάνελ πέντε δειγμάτων που προετοιμάστηκαν και συμπεριλήφθηκαν σε αυτήν τη μελέτη.

Πίνακας 6. Πάνελ αναπαραγωγιμότητας για Xpert BCR-ABL Ultra p190

Αρ. δείγματος	Περιγραφή του πάνελ	Επίπεδο BCR-ABL p190/ABL που ανιχνεύθηκαν (ποσοστιαία αναλογία)
1	LR1: e1a2	~10%
2	LR2: e1a2	~1%
3	LR3: e1a2	0,1%
4	LR3.7: e1a2	~0,02%
5	Αρνητική	Δεν ανιχνεύτηκε

Καθένα από τα πέντε μέλη του πάνελ εξετάστηκε εις διπλούν, δύο φορές την ημέρα, σε έξι διαφορετικές ημέρες, από δύο διαφορετικούς χειριστές σε τρία διαφορετικά κέντρα. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις παρτίδες των κιτ της εξέτασης Xpert BCR-ABL Ultra p190 και κάθε χειριστής πραγματοποίησε εξέταση με μία παρτίδα (3 κέντρα x 2 χειριστές x 3 παρτίδες x 2 ημέρες (2 ημέρες εξέτασης ανά παρτίδα φυσιγγων) x 2 σειρές αναλύσεων x 2 επαναληπτικά δείγματα = 144 επαναληπτικά δείγματα/μέλος του πάνελ).

Πίνακας 7. Τυπική απόκλιση και συντελεστής διακύμανσης (CV) με ποσοστιαία αναλογία (PR)

Μέλος του πάνελ	N	Μέσο	Κέντρο		Χειρ.		Παρτίδα		Ημέρα		Σειρά αναλύσεων		Εντός εξέτασης		Σύνολο	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (~10% αναλογία)	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% αναλογία)	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% αναλογία)	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% αναλογία)	143 ^a	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

^a Ένα δείγμα έδωσε απροσδιόριστο αποτέλεσμα κατά την εξέταση και την επαναληπτική εξέταση.

Ο συνολικός συντελεστής διακύμανσης (CV%) των αναφερόμενων ποσοτικών τιμών της ποσοστιαίας αναλογίας κυμαινόταν από 25,53 έως 77,30 για τα θετικά δείγματα. Το στοιχείο της διακύμανσης για τις αναφερόμενες τιμές της PR δεν ξεπερνούσε το 50% της συνολικής διακύμανσης της εξέτασης για τους ακόλουθους παράγοντες: από κέντρο σε κέντρο, από χειριστή σε χειριστή, από ημέρα σε ημέρα και από εκτέλεση σε εκτέλεση σειράς αναλύσεων. Η ανάλυση της διακύμανσης για την ποσοτική τιμή της μέσης PR έδωσε παρόμοια αποτελέσματα.

Πίνακας 8. Τυπική απόκλιση και συντελεστής διακύμανσης (CV) της λογαριθμικής μείωσης (LR)

Μέλος του πάνελ	N	Μέσο	Κέντρο		Χειρ.		Παρτίδα		Ημέρα		Σειρά αναλύσεων		Εντός εξέτασης		Σύνολο	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (~10% αναλογία)	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% αναλογία)	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% αναλογία)	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% αναλογία)	143 ^a	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

^a Ένα δείγμα έδωσε απροσδιόριστο αποτέλεσμα κατά την εξέταση και την επαναληπτική εξέταση.

Το ποσοστό συνολικού συντελεστή διακύμανσης (CV) των αναφερόμενων ποσοτικών τιμών της LR κυμαινόταν από 26,17 έως 88,68 για τα θετικά δείγματα.

22 Βιβλιογραφία

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.
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 (ανατρέξτε στην πιο πρόσφατη έκδοση). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (ανατρέξτε στην πιο πρόσφατη έκδοση).
11. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 16ης Δεκεμβρίου 2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, ο οποίος τροποποιεί και καταργεί τις οδηγίες 67/548/EOK και 1999/45/EK και τροποποιεί τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 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 Θέσεις Κεντρικών γραφείων της Cephoid

Κεντρικά γραφεία της εταιρείας

Cephoid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Κεντρικά γραφεία της Ευρώπης

Cephoid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

24 Τεχνική βοήθεια

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

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

Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής




















Τηλέφωνο: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cephoid.com

Γαλλία

Τηλέφωνο: + 33 563 825 319
Email: support@cephoideurope.com

Πληροφορίες επικοινωνίας για όλα τα γραφεία τεχνικής υποστήριξης της Cephoid διατίθενται στην ιστοσελίδα μας:
www.cephoid.com/en_US/support/contact-us.

25 Πίνακας συμβόλων

Σύμβολο	Σημασία
	Αριθμός καταλόγου
	Σήμανση CE – Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	<i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κωδικός παρτίδας
	Μην επαναχρησιμοποιείτε
	Ημερομηνία λήξης
	Προειδοποίηση
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Κατασκευαστής
	Χώρα κατασκευής
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <i>n</i> εξετάσεις
	Μάρτυρας
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Βιολογικοί κίνδυνοι
	Εύφλεκτα υγρά
	Τοξικότητα στην αναπαραγωγή και σε όργανα
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ελβετία
	Εισαγωγέας



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Τηλέφωνο: + 1 408 541 4191

Φαξ: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Τηλέφωνο: + 33 563 825 300

Φαξ: + 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 Ιστορικό αναθεωρήσεων

Περιγραφή αλλαγών: 302-6673, Αναθ. Β σε Αναθ. C

Σκοπός: Ενημερώσεις των οδηγιών χρήσης

Ενότητα	Περιγραφή της αλλαγής
8.3	Προσθήκη μιας προειδοποιητικής δήλωσης να μην ανοίγετε ή να μην τροποποιείτε τις φύσιγγες για απόρριψη.
11.2.1	Επικαιροποίηση της σημείωσης σχετικά με το υπόλοιπο υλικό λύσης.
17	Επικαιροποίηση των οδηγιών επανεξέτασης και διόρθωση των παραπομπών στις ενότητες.
19	Επικαιροποίηση των επισημάνσεων του διαγράμματος στο Σχήμα 10.
21	Ενημέρωση του περιεχομένου για την αναπαραγωγιμότητα και την ακρίβεια.
25	Προσθήκη των συμβόλων CH REP και του εισαγωγέα και περιγραφών στον πίνακα συμβόλων. Προσθήκη πληροφοριών CH REP και εισαγωγέα με διεύθυνση Ελβετίας.
26	Ενημέρωση πίνακα Ιστορικού αναθεωρήσεων.