

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

REF GXBCRABLP190-CE-10

Instrukcja użycia

IVD

Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich

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[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] i Xpert[®] to znaki towarowe firmy Cepheid, zarejestrowane w USA i w innych krajach.

Wszystkie inne znaki towarowe są własnością ich właścicieli.

NABYWCA TEGO PRODUKTU UZYSKUJE NIEZBYWALNE PRAWO DO UŻYWANIA TEGO PRODUKTU ZGODNIE Z NINIEJSZĄ INSTRUKCJĄ UŻYCIA. NABYWCA NIE UZYSKUJE ŻADNYCH INNYCH PRAW W SPOSÓB WYRAŹNY, DOROZUMIANY LUB PRZEZ ESTOPPEL. PONADTO NABYWCA TEGO PRODUKTU NIE UZYSKUJE ŻADNYCH PRAW DO ODSPRZEDAŻY TEGO PRODUKTU.

© 2022–2023 Cepheid.

Opis zmian można znaleźć w części Historia zmianSekcja 26.

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

Do diagnostyki *in vitro*

1 Nazwa zastrzeżona

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

2 Nazwa powszechna lub zwyczajowa

Xpert BCR-ABL Ultra p190

3 Przeznaczenie

3.1 Przeznaczenie

Test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 jest testem diagnostycznym *in vitro* do stosowania w aparacie GeneXpert[®] Dx System firmy Cepheid do pomiaru ilościowego BCR-ABL p190 i transkryptów mRNA BCR-ABL1 i ABL1 w próbkach krwi obwodowej pobranych od pacjentów z rozpoznaną przewlekłą białaczką szpikową (CML) i ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) z dodatnim chromosomem Philadelphia (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] z ekspresją transkryptów fuzyjnych BCR-ABL1 typu e1a2. Test wykorzystuje zautomatyzowaną, ilościową, przebiegającą w czasie rzeczywistym reakcję łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-qPCR) i ma na celu pomiar współczynnika procentowego mRNA BCR-ABL1 p190 w porównaniu do mRNA ABL1 w t(9;22) u pacjentów z dodatnim wynikiem w kierunku CML lub ALL podczas monitorowania leczenia.

Test nie monitoruje innych transkryptów fuzyjnych wynikających z t(9;22) i nie jest przeznaczony do rozpoznawania CML ani ALL.

3.2 Użytkownik docelowy/Środowisko

Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 jest przeznaczony dla przeszkolonych użytkowników pracujących w środowisku laboratoryjnym.

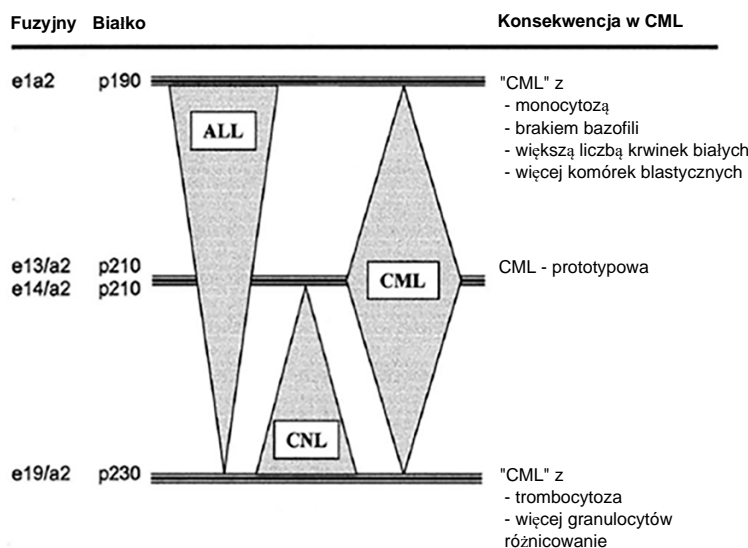
4 Podsumowanie i objaśnienie

Chromosom Philadelphia (Ph) jest skróconym chromosomem, który wynika z translokacji części 3' genu ABL na chromosomie 9 do części 5' genu BCR na chromosomie 22. Punkt odcięcia genu ABL jest dość stały, występujący na końcu 5' eksonu a2, podczas gdy punkty odcięcia genu BCR są zmienne, jednak są skupione głównie w 3 różnych regionach (regiony klastra punktów odcięcia lub bcr). W zależności od punktu odcięcia na chromosomie 22, segmenty różnej wielkości są połączone z sekwencjami 3' genu ABL. Istnieją duże (M-bcr), małe (m-bcr) i mikro punkty odcięcia, z których każdy powoduje różne wielkości transkryptów fuzyjnych mRNA.¹

Chromosom Ph obserwuje się u ponad 95% pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową (CML) i maksymalnie u 20-30% pacjentów dorosłych z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL), u 5% dzieci z ALL i u 1-2% pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML).¹

W CML BCR-ABL p210 występuje u ponad 95% pacjentów, a także u około 30% wszystkich pacjentów z ALL z dodatnim wynikiem w kierunku Ph (Ph+). BCR-ABL p190 występuje u pozostałych pacjentów z ALL z Ph+ i w rzadkich przypadkach u pacjentów z CML (1-3%). W CML mogą współistnieć BCR-ABL p210 i p190. Zarówno białka fuzyjne p210, jak i p190 wykazują zwiększoną aktywność fosfokinazy tyrozynowej w porównaniu z normalnym białkiem p145 c-abl.^{1,2}

U pacjentów z ALL z Ph+, postać p190 wykryto u około 80% dzieci z ALL z Ph+ i u 20–40% dorosłych pacjentów z ALL z Ph+.¹ Ponadto częstość występowania chromosomu Ph wzrasta wraz z wiekiem, i występuje u 10% pacjentów w wieku 15-30 lat, u 25% pacjentów w wieku 40-49 lat oraz u 20-40% pacjentów z ALL w wieku powyżej 50 lat.³⁻⁵



Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) to nowotwór hematologiczny, w którym istnieje nagromadzenie niedojrzałych, słabo zróżnicowanych białych krwinek (WBC); limfoblastów w szpiku kostnym, krwi i innych tkankach. ALL jest klasyfikowany jako rzadka postać raka (choroba sieroca o numerze ORPHA:513; GARD 522) z częstością występowania 1,7/100,000. W Stanach Zjednoczonych ALL jest najczęściej występującym nowotworem u dzieci w wieku od urodzenia do 15 roku życia, co stanowi 75% wszystkich przypadków białaczki dziecięcej.^{6, 7}

Obecność chromosomu Ph u pacjentów z ALL po leczeniu konsolidacyjnym jest istotnym czynnikiem prognozującym nawrót i zaleca się jego monitorowanie. Obecnie nie istnieją jednak żadne ustalone wytyczne określające częstość monitorowania pacjentów z ALL z wykorzystaniem pomiarów transkryptu BCR-ABL p190 w celu wykrycia minimalnej choroby szczątkowej (MRD). Wytyczne NCCN wskazują ostateczne terminy monitorowania BCR-ABL p210 u pacjentów z CML, zatem pomiar BCR-ABL p190 w celu monitorowania ALL jest przeprowadzany z podobną częstością.⁵

Przewlekła białaczka szpikowa (CML) charakteryzuje się obecnością chromosomu Ph u >95% przypadków związanych z BCR-ABL p210 i jedynie u 1-3% przypadków związanych z BCR-ABL p190.^{2,3}

W przeciwieństwie do wzorca międzynarodowego BCR-ABL Światowej Organizacji Zdrowia (WHO IS) dla transkryptu p210, obecnie nie ma uznanego na świecie zakresu referencyjnego, który można wykorzystać do normalizacji transkryptu fuzyjnego p190. Dlatego bieżące oznaczenia molekularne dla p190 zazwyczaj wykrywają transkrypt fuzyjny i zgłaszają go jako procent w stosunku do ekspresji genu kontroli wewnętrznej (np. ABL).

5 Zasada procedury

Xpert BCR-ABL Ultra p190 to zautomatyzowany test do pomiaru ilościowego transkryptów BCR-ABL p190 w postaci współczynnika BCR-ABL p190/ABL1. Badanie przeprowadza się w aparacie GeneXpert Dx System firmy Cepheid, który automatyzuje i integruje oczyszczanie próbek, amplifikuje kwas nukleinowy oraz wykrywanie sekwencji docelowej w prostych lub złożonych próbkach przy użyciu RT-PCR w czasie rzeczywistym i testów z nested-PCR. System składa się z aparatu, komputera oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań i wyświetlanie wyników. Systemy wymagają stosowania jednorazowych kartridży GeneXpert, które zawierają odczynniki do reakcji RT-PCR i odczynniki nested-PCR oraz w których odbywają się reakcje RT-PCR i Nested-PCR. Pełny opis systemu znajduje się w odpowiednim *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Kartridż Xpert BCR-ABL Ultra p190 zawiera odczynniki do wykrywania genów fuzyjnych BCR-ABL1 p190 powstałych w wyniku małego punktu odcięcia, translokacji e1a2 oraz transkryptu ABL1 jako kontroli endogennej próbek krwi obwodowej. Ilość transkryptu BCR-ABL1 p190 jest wyrażana ilościowo jako współczynnik procentowy BCR-ABL1 p190/ABL1. Każdy test Xpert BCR-ABL Ultra p190 zawiera dwie kontrole — kontrolę endogenną (ABL1) i kontrolę sondy (PCC). Kontrola endogenna ABL1 normalizuje wartość docelową BCR-ABL1 p190 i umożliwia upewnienie się, że do wykonania badania użyto odpowiedniej ilości próbki. Kontrola PCC weryfikuje nawadnianie odczynników, napełnienie próbki do PCR oraz obecność i działanie wszystkich składników reakcji w kartridżu, w tym sond i barwników.

6 Odczynniki i aparaty

6.1 Materiały dostarczone

Zestaw testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 (GXBCRABLP190-CE-10) zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek lub próbek kontroli jakości. Zestaw zawiera następujące elementy:

Odczynniki Xpert BCR-ABL Ultra		po 10 na zestaw
Proteinaza K (PK)		10 × 130 µl na fiolkę
Element	Składnik odczynnika	
Proteinaza K	< 5%	
Odczynnik do lizy (LY) (chlorek guanidyny)		10 × 5,3 ml na fiolkę
Element	Składnik odczynnika	
Chlorek guanidyny	25 - 50%	
Mocznik	25 - 50%	
Sodu dodecylo siarczan	< 2%	
Odczynnik do przemywania		10 × 2,9 ml na ampułkę
Element	Składnik odczynnika	
Etanol	< 50%	
Tiocyanian guanidyny	< 50%	
Xpert BCR-ABL Ultra p190 Kartridże testu ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi		10 na zestaw
Element	Składnik odczynnika	Ilość
Kulka 1 (liofilizowana)	Enzym: Polimeraza DNA Taq <50 j./kulkę	1 na kartridż
	dNTPs < 0,05%	
Mikrokulka 2 (liofilizowana)	Startery i sondy <0,005%	1 na kartridż
Kulka 3 (liofilizowana)	Startery i sondy <0,005%	1 na kartridż
Kulka 4 (liofilizowana)	Enzym: Polimeraza DNA Taq <50 j./kulkę	1 na kartridż
	dNTPs < 0,05%	
Odczynnik do płukania	Chlorek potasu < 4%	2 ml na kartridż
	Azydek sodu < 0,1%	
	Glikol polietylenowy < 15%	

	Tween 20 < 0,2%	
Odczynnik do elucji	Bufor zasadowy Trizma < 0,3%	2,5 ml na kartridż
	Bufor HCl Trizma < 0,1%	
	Azydek sodu < 0,05%	

Płyta CD**1 na zestaw**

- Plik definicji testu (ADF)
- Instrukcja importowania pliku ADF do oprogramowania GeneXpert Dx
- Instrukcja użycia (ulotka informacyjna)

Uwaga

Albumina surowicy bydłowej (BSA) zawarta w mikrokulkach stanowiących część tego produktu została uzyskana i wytworzona wyłącznie z osocza wołowego pochodzącego z USA. Zwierząt nie karmiono białkiem pochodzącym od przeżuwaczy ani innym białkiem zwierzęcym; zwierzęta przebadano zarówno przed ubojem, jak i po nim. Podczas przetwarzania nie nastąpiło wymieszanie materiału z innymi materiałami pochodzenia zwierzęcego.

Uwaga

Certyfikaty analizy i specyfikacje partii są dostępne w Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.

6.2 Materiały wymagane, ale nie dostarczone

- GeneXpert Dx System (numer katalogowy zależy od konfiguracji): Aparat GeneXpert, komputer, skaner kodów kreskowych i instrukcja obsługi.
- W przypadku aparatu GeneXpert Dx System: oprogramowanie GeneXpert Dx w wersji 6.2 lub nowszej
- Drukarka: jeśli wymagana jest drukarka, informacji o zakupie zalecanej drukarki udzieli Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.
- Wytrząsarka typu vortex
- Mikrowirówka (co najmniej 1000 × g)
- Pipety i końcówki pipet z filtrem aerozolowym
- Probówki stożkowe o pojemności 50 ml
- Bezwodny alkohol etylowy o czystości odczynnika

7 Przechowywanie i obsługa

- Składniki zestawu Xpert BCR-ABL Ultra p190 należy przechowywać w temperaturze 2–8°C do upływu terminu ważności podanego na etykiecie.
- Wieczko kartridża można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.
- Nie używać kartridży po upływie daty ważności.
- Odczynnik do przemywania to przezroczysty, bezbarwny płyn. Nie używać odczynnika do przemywania, który uległ zmętnieniu lub przebarwieniu.
- Na dwadzieścia (20) minut przed rozpoczęciem procedury należy wyjąć próbkę krwi, kartridż i odczynniki do przygotowania próbki z miejsca przechowywania, aby osiągnęły temperaturę pokojową (20–30°C).

8 Ostrzeżenia i środki ostrożności**8.1 Ogólne**

- Do diagnostyki *in vitro*
- Wszystkie próbki biologiczne, w tym użyte kartridże i odczynniki, należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne. Ponieważ często niemożliwe jest określenie, który z preparatów biologicznych może być zakaźny, ze wszystkimi należy pracować, zachowując standardowe środki ostrożności. Wytyczne dotyczące obsługi próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention⁹ oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁰

- Należy przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w instytucji w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i próbkami biologicznymi.
- Charakterystyka wydajności tego testu została ustalona wyłącznie dla krwi pobranej do probówek zawierających EDTA. Nie oceniono wydajności tego testu z innymi rodzajami próbek.
- Wiarygodne wyniki zależą od odpowiedniego pobierania, transportowania, przechowywania i przetwarzania próbek. Nieprawidłowe wyniki mogą wynikać z niewłaściwego pobierania, obchodzenia się lub przechowywania próbek, błędów technicznego, pomieszania próbek lub dlatego, że stężenie transkrypty docelowego w próbce jest poniżej granicy wykrywalności testu. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w ulotce informacyjnej oraz dokumencie *GeneXpert Dx System Operator Manual* jest niezbędne do uniknięcia uzyskiwania błędnych wyników.
- Użycie testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 poza zalecanymi zakresami czasu i temperatury przechowywania zestawu lub odczynników może prowadzić do uzyskania błędnych lub nieważnych wyników.
- Preparaty biologiczne, produkty służące do przenoszenia materiału i zużyte kartridże należy traktować jako materiały potencjalnie zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w instytucji procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania zużytych kartridży i niewykorzystanych odczynników. Te materiały mogą stanowić niebezpieczne materiały chemiczne, których usuwanie musi się odbywać zgodnie ze swoistymi krajowymi lub regionalnymi przepisami dotyczącymi usuwania. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania odpadów, wówczas próbki biologiczne i zużyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi WHO (Światowa Organizacja Zdrowia, World Health Organization) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.¹¹

8.2 Próbką

- Podczas transportu należy utrzymywać odpowiednie warunki przechowywania, aby zapewnić stabilność próbki (patrz Sekcja 10). Nie oceniano stabilności próbki w innych, niż zalecane, warunkach transportu.
- Nie zamrażać próbek krwi pełnej.
- Aby uzyskać prawidłowe wyniki, próbki należy pobierać, przechowywać i transportować w odpowiedni sposób.


8.3 Test/odczynnik

- Nie wolno zastępować odczynników testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 innymi odczynnikami.
- Nie wolno otwierać wieczka kartridża testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 w celu innym niż dodanie odczynnika do przemywania.
- Nie używać kartridża, który upadł po wyjęciu z opakowania.
- Nie wolno potrząsać kartridżem. Potrząsanie kartridżem lub jego upuszczenie po otwarciu wieczka kartridża może prowadzić do uzyskania nieważnych wyników. Nie umieszczać etykiety z identyfikatorem próbki na wieczku kartridża ani na etykiecie z kodem kreskowym.
- Nie używać kartridża z uszkodzoną etykietą z kodem kreskowym. Nie wolno używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona.
- Kartridże Xpert BCR-ABL Ultra p190 używane do badania powinny mieć temperaturę pokojową (20–30°C).
- Każdy jednorazowy kartridż testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 służy do wykonania jednego badania. Nie używać ponownie przetworzonych kartridży.
- Nie używać ponownie końcówek pipet.
- Nie używać kartridża, jeśli wydaje się wilgotny lub jeśli uszczelka wieczka wygląda na uszkodzoną.
- Nie używać kartridża testu Xpert BCR-ABL Ultra p190, jeśli odczynnik został dodany do niewłaściwego otworu. Nie wolno otwierać kartridża testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 po zakończeniu badania.
- Należy przygotować zestaw pipet i odczynników wyłącznie do przygotowania próbki.
- Stosować czyste fartuchy laboratoryjne i rękawiczki. Zmieniać rękawiczki między obsługą każdej próbki.
- W przypadku rozlania próbek lub kontroli należy założyć rękawiczki i usunąć rozlaną substancję przy pomocy papierowych ręczników. Dokładnie czyścić i dezynfekować wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze za pomocą świeżo przygotowanego roztworu 0,5% podchlorynu sodu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej (wybielacz do użytku domowego, rozcieńczony w proporcjach 1:10). Końcowe stężenie aktywnego chloru powinno wynosić 0,5%. Po wyschnięciu obszaru roboczego należy przetrzeć powierzchnię roztworem etanolu o stężeniu 70%. W przypadku sprzętu należy postępować zgodnie z zaleceniami producenta dotyczącymi dekontaminacji sprzętu. Alternatywnie można postępować zgodnie z obowiązującymi w placówce standardowymi procedurami dotyczącymi zanieczyszczenia lub rozlania substancji.
- Zużyte kartridże mogą zawierać potencjalnie zakaźne materiały, jak również wysoko amplifikowany cel (cele) PCR. Nie otwierać ani nie próbować zmieniać żadnej części kartridża do usunięcia.

9 Zagrożenia chemiczne^{12,13}

Uwaga Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej www.cepheid.com lub www.cepheidinternational.com na karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

Uwaga Poniższe informacje dotyczą proteiny K, odczynników do lizy, przemywania i płukania.

- Piktogramy GHS ONZ określające rodzaj zagrożenia: 
- Hasło ostrzegawcze: NIEBEZPIECZEŃSTWO
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące rodzaj zagrożenia**
 - Działa szkodliwie po połknięciu H302
 - Wysoce łatwopalna ciecz i pary H225
 - Działa drażniąco na skórę H315
 - Powoduje poważne podrażnienia oczu H319
 - Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy H336
 - Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne H341
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności**
 - **Zapobieganie**
 - Przed użyciem należy zapoznać się ze specjalnymi instrukcjami zamieszczonymi w Karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej
 - Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.
 - Stosować środki ochrony osobistej: rękawice, okulary, maskę ochronną i odzież.
 - Stosować wyłącznie w pomieszczeniach dobrze wentylowanych.
 - Przechowywać z dala od źródeł ciepła, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i/lub gorących powierzchni.
 - Unikać wdychania mgły, oparów, rozpylonej cieczy.
 - Dokładnie umyć ręce po użyciu.
 - **Reagowanie**
 - W przypadku POŻARU: Użyć odpowiednich środków gaśniczych.
 - W przypadku DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie.
 - W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem.
 - W przypadku ROZLANIA: Natychmiast zdjąć zanieczyszczoną odzież. W przypadku kontaktu ze skórą lub włosami spłukać wodą/prysznicem.
 - W przypadku wystąpienia PODRAŻNIENIA SKÓRY: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - W przypadku DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są obecne. Dokładnie płukać oczy wodą przez kilka minut. W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - Szczególne postępowanie: patrz dodatkowe środki pierwszej pomocy w karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej.
 - W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - **Przechowywanie/usuwanie**
 - Przechowywać w warunkach chłodniczych.
 - Przechowywać pojemniki szczelnie zamknięte.
 - Zawartość i/lub pojemnik usuwać zgodnie z miejscowymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi przepisami.

10 Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek

- Test wymaga próbek krwi pełnej pobieranych do probówek próżniowych z EDTA. Przed wykonaniem testu próbki można przechowywać w temp. 2-8 °C przez 72 godziny. Nie należy oddzielać osocza od komórek.
- Właściwe pobieranie, przechowywanie i transportowanie próbek ma krytyczne znaczenie dla działania tego testu.

11 Procedura

11.1 Przed rozpoczęciem

Na dwadzieścia (20) minut przed rozpoczęciem procedury należy wyjąć próbkę krwi, odczynniki do przygotowania próbki i kartridże z miejsca przechowywania, aby osiągnęły temperaturę pokojową. Odwirować krótko proteinazę K (PK) w mikrowirówce.

Ważne Przed przygotowaniem próbki wyjąć kartridż z teksturowego opakowania. (Patrz Sekcja 11.2 Przygotowanie próbki.)

Ważne Rozpocząć badanie w aparacie GeneXpert Dx w ciągu jednej godziny od momentu dodania próbki do kartridża.

11.2 Przygotowanie próbki

11.2.1 Przygotowanie próbki z nieznaną liczbą białych krwinek (WBC) lub z próbkami z mniej niż 30 milionami białych krwinek/ml

1. Na dno nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml dodać 100 µl proteinazy K (PK).
2. Upewnić się, że próbka krwi została dobrze wymieszana poprzez odwrócenie probówki do pobierania krwi 8 razy bezpośrednio przed pipetowaniem. Zapoznać się z instrukcją producenta dotyczącą probówki do pobierania krwi z EDTA.
3. Do probówki już zawierającej proteinazę K dodać 4 ml próbki krwi.
4. Mieszać zawartość próbki w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 3 sekundy.
5. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę.
6. Do tej samej probówki dodać 2,5 ml odczynnika do lizy (LY).

Uwaga Zachować pozostałą ilość odczynnika do lizy do ponownego wykorzystania w Kroku 13.

7. Mieszać zawartość próbki w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
8. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut.
9. Mieszać zawartość próbki w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
10. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut.
11. Wymieszać próbkę, 10 razy stukając w spód probówki.
12. Przenieść 1 ml przygotowanego lizatu do nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml.

Uwaga Pozostałą ilość lizatu można wykorzystać do ponownego badania. Przechowywać pozostałą ilość lizatu w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 4 godziny albo w temperaturze –20°C lub niższej przez maksymalnie 24 tygodnie.

13. Do nowej probówki stożkowej zawierającej lizat dodać 1,5 ml odczynnika do lizy (LY) zachowanego w Kroku 6.
14. Mieszać zawartość próbki w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
15. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 10 minut.
16. Do tej samej probówki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego o czystości odczynnika (dostarczany przez użytkownika).
17. Mieszać zawartość próbki w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Odstawić na bok.
18. Usunąć wszelkie pozostałości odczynnika PK lub LY.

11.2.2 Przygotowanie próbki z liczbą białych krwinek większą niż 30 milionów komórek/ml

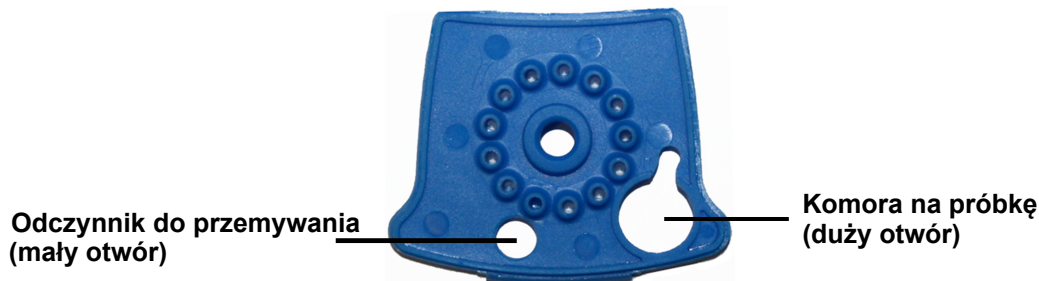
1. Na dno nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml dodać 100 µl proteinazy K (PK).
2. Upewnić się, że próbka krwi została dobrze wymieszana poprzez odwrócenie probówki do pobierania krwi 8 razy bezpośrednio przed pipetowaniem. Zapoznać się z instrukcją producenta dotyczącą probówki do pobierania krwi z EDTA.

3. Do próbki już zawierającej proteinazę K dodać 50 µl próbki krwi.
4. Mieszać zawartość próbki w wyrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 3 sekundy.
5. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę.
6. Do tej samej próbki dodać 2,5 ml odczynnika do lizy (LY).
7. Mieszać zawartość próbki w wyrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
8. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut.
9. Mieszać zawartość próbki w wyrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
10. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut.
11. Do tej samej próbki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego o czystości odczynnika (dostarczany przez użytkownika).
12. Mieszać zawartość próbki w wyrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund. Odstawić na bok.
13. Usunąć wszelkie pozostałości odczynnika PK lub LY.

11.3 Przygotowywanie kartridża

Aby dodać próbkę do kartridża Xpert BCR-ABL Ultra p190:

1. Wyjąć kartridż z kartonowego opakowania.
2. Sprawdzić kartridż pod kątem uszkodzeń. W razie uszkodzenia nie używać kartridża.
3. Unieść wieczko kartridża i przenieść całą zawartość ampułki z odczynnikiem do płukania (1) do komory na odczynnik do płukania (mały otwór). Patrz Ilustracja 1.
4. Przenieść pipetą całą przygotowaną próbkę do komory na próbkę (duży otwór). Patrz Ilustracja 1.



Ilustracja 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Kartridż testu (widok z góry)

5. Zamknij wieczko kartridża. Upewnij się, że wieczko zostało mocno zatrzaśnięte. Rozpocząć test (patrz Sekcja 11.4, Rozpoczynanie badania).

11.4 Rozpoczynanie badania

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Ważne Przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że w aparacie jest uruchomione oprogramowanie GeneXpert Dx w wersji 6.2 lub nowszej oraz że do oprogramowania zaimportowano odpowiedni plik definicji testu.

Uwaga Wykonywane czynności mogą być inne, jeśli administrator systemu zmienił domyślny cykl pracy.

1. Włączyć aparat GeneXpert:
W przypadku używania aparatu GeneXpert Dx najpierw włączyć aparat GeneXpert Dx, a następnie włączyć komputer. Oprogramowanie GeneXpert zostanie uruchomione automatycznie. W przeciwnym razie należy dwukrotnie kliknąć ikonę skrótu oprogramowania GeneXpert Dx na pulpicie systemu Windows®.
2. Zalogować się do oprogramowania aparatu GeneXpert, podając nazwę użytkownika i hasło.
3. W oknie systemu **GeneXpert** należy kliknąć **Nowe badanie** (Create Test) (GeneXpert Dx). Zostanie wyświetlone okno **Nowe badanie (Create Test)**. Pojawi się okno dialogowe **Skanowanie kodu kreskowego identyfikatora pacjenta (Scan Patient ID Barcode)**.

4. Zeskanować lub wpisać Identyfikator pacjenta (Patient ID). W wypadku wpisywania Identyfikatora pacjenta (Patient ID) należy upewnić się, że Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie **Wyświetlanie wyników (View Results)** oraz we wszystkich raportach. Pojawi się okno dialogowe **Skanowanie kodu kreskowego identyfikatora próbki (Scan Sample ID barcode)**.
5. Zeskanować lub wpisać Identyfikator próbki (Sample ID). W wypadku wpisywania Identyfikatora próbki (Sample ID) upewnić się, że Identyfikator próbki (Sample ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator próbki (Sample ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie **Wyświetlanie wyników (View Results)** oraz we wszystkich raportach. Pojawi się okno dialogowe **Skanowanie kodu kreskowego kartridża (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu testu. Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym, oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: Wybierz test (Select Assay), Identyfikator serii odczynników (Reagent Lot ID), Numer seryjny kartridża (Cartridge SN) i Data ważności (Expiration Date).

Uwaga

Jeśli nie można zeskanować kodu kreskowego na kartridżu testu, wówczas należy powtórzyć badanie z użyciem nowego kartridża. Jeśli kod kreskowy kartridża został zeskanowany w oprogramowaniu, a plik definicji testu (ADF) nie jest dostępny, pojawi się ekran wskazujący, że plik definicji testu (ADF) nie został wczytany do systemu. Jeśli pojawi się ten ekran, należy skontaktować się z centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.

7. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)**. W razie potrzeby wpisać hasło w wyświetlonym oknie dialogowym.
8. Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną lampką i załadować kartridż.
9. Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona lampka przestanie migać. Po zakończeniu badania lampka przestanie świecić.
10. Poczekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu. Wyjąć kartridż.
11. Wyrzucić zużyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

12 Wyświetlanie i drukowanie wyników

W niniejszym punkcie opisano podstawowe kroki umożliwiające wyświetlanie i drukowanie wyników. Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w dokumencie *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Kliknąć ikonę **Wyświetl wyniki (View Results)**, aby wyświetlić wyniki.
2. Po zakończeniu badania kliknąć przycisk **Raport (Report)** w oknie **Wyświetlanie wyników (View Results)**, aby wyświetlić i/lub utworzyć plik PDF z raportem.

13 Kontrola jakości

Każdy test zawiera kontrolę endogenną (ABL) i kontrolę sondy (PCC).

Kontrola endogenna ABL — Kontrola endogenna ABL umożliwia upewnienie się, że do wykonania badania użyto odpowiedniej ilości próbki. Ponadto ta kontrola wykrywa hamowanie reakcji real-time PCR testu związane z próbką. Kontrola ABL zakończy się powodzeniem, jeśli spełni przypisane kryteria akceptacji.

Kontrola sondy (PCC) — Przed rozpoczęciem reakcji PCR system GeneXpert mierzy sygnał fluorescencji z sond w celu monitorowania nawadniania kulek, napełnienia komory reakcyjnej i działania wszystkich składników reakcji w kartridżu. Kontrola PCC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni przypisane kryteria akceptacji.

14 Interpretacja wyników

Dane ilościowe testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 są dostarczane jako współczynnik procentowy BCR-ABL1 p190/ABL1. Przykłady możliwych wyników i interpretacji przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Możliwe wyniki testu i ich interpretacja

Kontrola sondy*	Ct ABL*	Ct e1a2*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 Wynik badania	Uwagi	
POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	WYNIK DODATNI (POS)	WYKRYTE BCR-ABL p190 [#,##%] (BCR-ABL p190 DETECTED [#,##%])	Podawana jest obliczona wartość współczynnika procentowego. Patrz Ilustracja 2.	
			WYKRYTE BCR-ABL p190 [poniżej granicy wykrywalności; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])	Obliczony współczynnik procentowy jest poniżej granicy wykrywalności i nie jest zgłaszany. Patrz Ilustracja 3.	
			WYKRYTE BCR-ABL p190 [powyżej górnej granicy oznaczenia ilościowego] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])	Obliczona wartość procentowa jest wyższa od granicy oznaczenia ilościowego i nie jest podawana. Patrz Ilustracja 4.	
	NIEPOWODZENIE (FAIL)	NIEPOWODZENIE (FAIL)	WYNIK UJEMNY (NEG)	NIE WYKRYTE BCR-ABL p190 [wystarczający transkrypt ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])	Wartość Ct e1a2 wynosi zero lub powyżej progu akceptacji. Patrz Ilustracja 5.
			WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)	NIEWAŻNY [zbyt wysoki transkrypt BCR-ABL] p190 (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])	Wartość Ct e1a2 mieści się w progu akceptacji.
			DODATNI, UJEMNY LUB NIEWAŻNY	NIEWAŻNY [brak transkryptu ABL] (INVALID [No ABL transcript])	Wartość Ct ABL wynosi zero. Nie wykryto ABL (No ABL detected). Patrz Ilustracja 6.
			DODATNI, UJEMNY LUB NIEWAŻNY	NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Wartość Ct ABL przekracza próg akceptacji. Patrz Ilustracja 7.
DODATNI, UJEMNY LUB NIEWAŻNY	NIEWAŻNY [zbyt wysoki transkrypt ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])	Wartość Ct ABL jest poniżej progu akceptacji.			
DODATNI, UJEMNY LUB NIEWAŻNY	NIEWAŻNY [zbyt wysokie transkrypty BCR-ABL i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL and ABL transcripts])	Zarówno wartości Ct e1a2, jak i ABL są poniżej progów akceptacji. Patrz Ilustracja 8.			
NIEPOWODZENIE (FAIL)	POWODZENIE lub NIEPOWODZENIE (PASS or FAIL)	DODATNI, UJEMNY LUB NIEWAŻNY	BŁĄD (ERROR)	Kontrola sondy nie spełnia kryteriów akceptacji. Patrz Ilustracja 9.	

* Szczegółowe informacje można znaleźć w karcie wyników analitu w oprogramowaniu systemu GeneXpert Dx

Systemy GeneXpert automatycznie obliczają wyniki na podstawie wartości cyklu progowego (Ct) wygenerowanych przez test oraz parametrów właściwych dla serii przypisanych podczas produkcji. Oprogramowanie zastosuje następujący algorytm, w którym wartość ΔCt (Delta Ct) jest uzyskiwana z Ct ABL minus Ct BCR-ABL p190, a wydajność (E) i współczynnik skalowania (SF) są wartościami właściwymi dla serii:

Uwaga

Współczynnik procentowy = $\text{sprawność}^{\Delta Ct} \times \text{Współczynnik skalowania} \times 100$

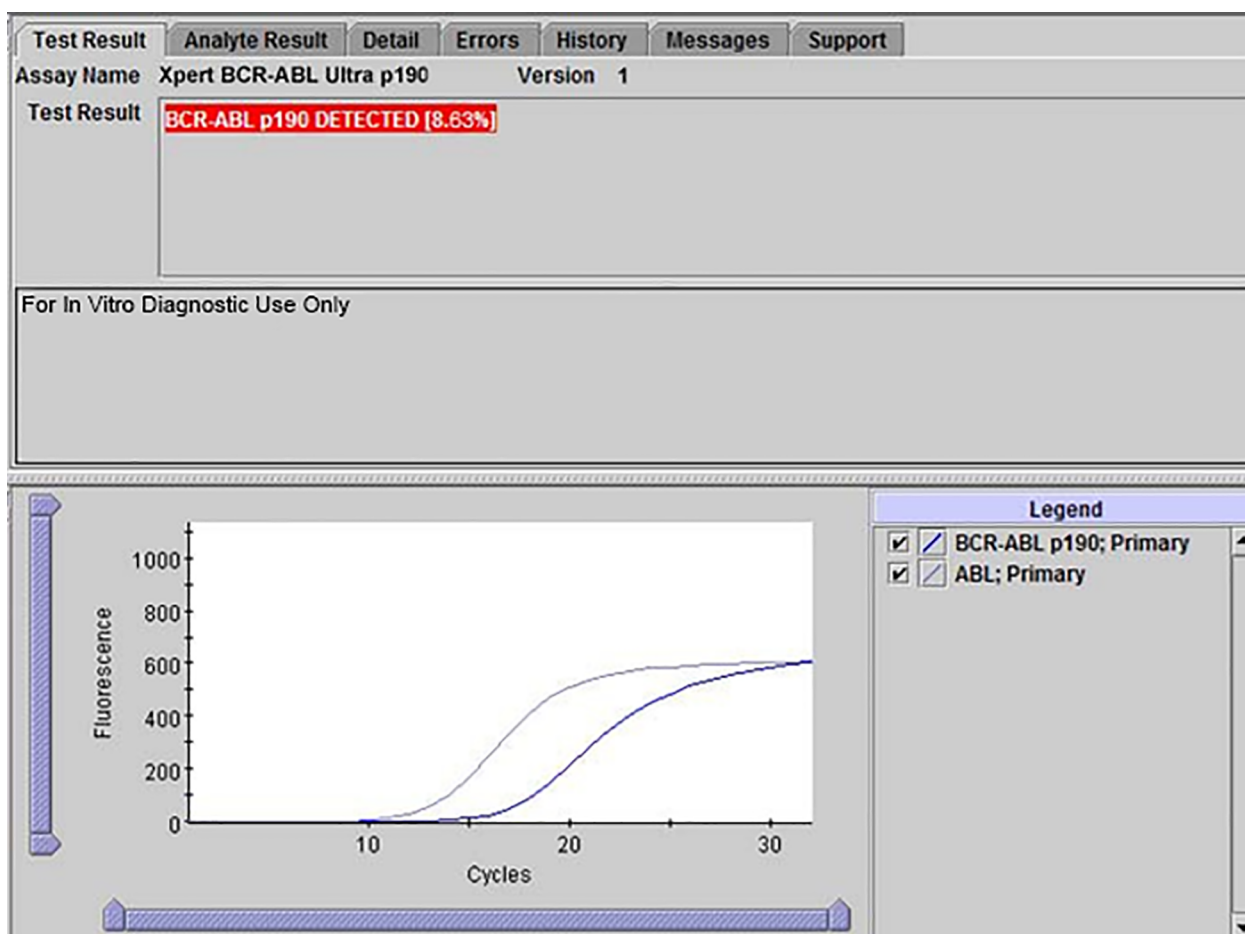
Uwaga Wartości współczynnika wydajności i skalowania kalibrują oznaczenie na podstawie ilościowych wartości transkryptów BCR-ABL1 p190 (e1a2) i ABL1 w celu skopiowania liczb syntetycznych RNA BCR-ABL p190 i ABL1 *in vitro* z transkrypcji podstawowych wzorców RNA (IVT-RNA). Wartości wydajności i współczynnika skalowania są osadzone w każdym kodzie kreskowym kartridża. Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej serii są dostępne za pośrednictwem centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.

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

W przypadku wyniku **WYKRYTY BCR-ABL p190 [#,##%]** (BCR-ABL p190 DETECTED [#,##%]) BCR-ABL p190 jest wykrywalny z wartością Ct BCR-ABL p190 większą niż lub równą „8” i mniejszą niż lub równą wartości granicznej „32” oraz z wartością Ct ABL większą niż lub równą „8” i mniejszą niż lub równą „18”.

Przykład: Ct ABL = 11,4; Ct BCR-ABL p190 = 15,6 ; $\Delta Ct = -4,2$
 Właściwa dla serii wartość $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $\%$ współczynnika = $2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63\%$

Wynik: **WYKRYTE BCR-ABL p190 [8,63%]** (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%]). Patrz Ilustracja 2.



Ilustracja 2. GeneXpert Dx Okno Wyświetlanie wyników (View Results): WYKRYTE BCR-ABL p190 [8,63%] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])

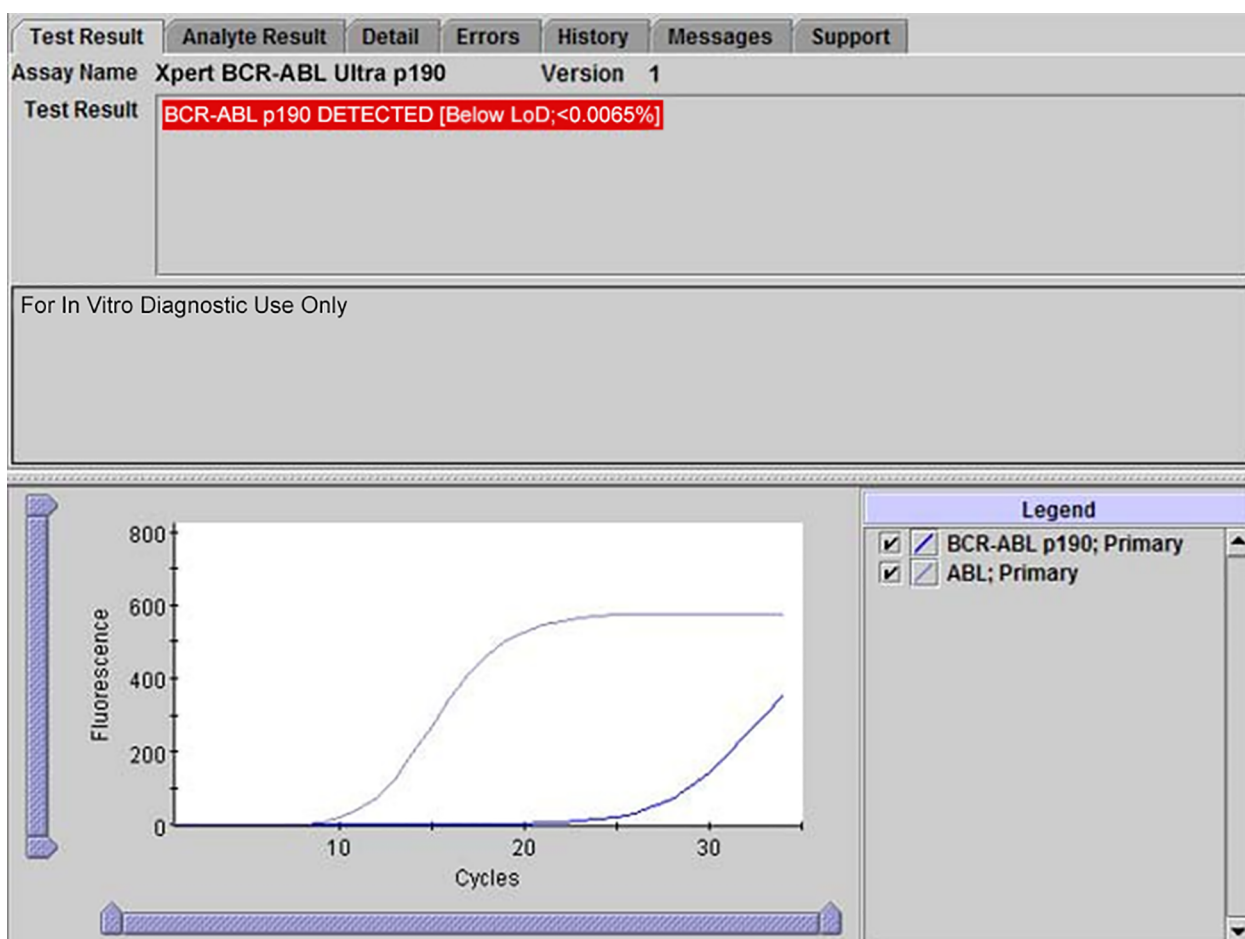
14.2 WYKRYTE BCR- ABL p190 [poniżej granicy wykrywalności; < 0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

Wykryto BCR-ABL p190 na poziomie < 0,0065%.

W przypadku wyniku „**WYKRYTE BCR-ABL p190 [Poniżej granicy wykrywalności; <0,0065%]**” (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%]) BCR-ABL p190 jest wykrywalny z wartością Ct BCR-ABL większą lub równą „8” i wartością graniczną mniejszą lub równą „32” oraz wartością Ct ABL większą lub równą „8” i mniejszą lub równą „18”.

Przykład: Ct ABL = 10,1; Ct BCR-ABL p190 = 24,8; $\Delta Ct = -14,8$
Właściwa dla serii wartość $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
Współczynnik % = $2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044\%$ jest mniejszy niż zdefiniowana granica wykrywalności dla badania granicy oznaczenia ilościowego przy 0,0065%

Wynik: **WYKRYTE BCR- ABL p190 [poniżej granicy wykrywalności; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**. Patrz Ilustracja 3.



Ilustracja 3. GeneXpert Dx Okno Wyświetlanie wyników (View Results): **WYKRYTE BCR- ABL p190 [poniżej granicy wykrywalności; < 0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**

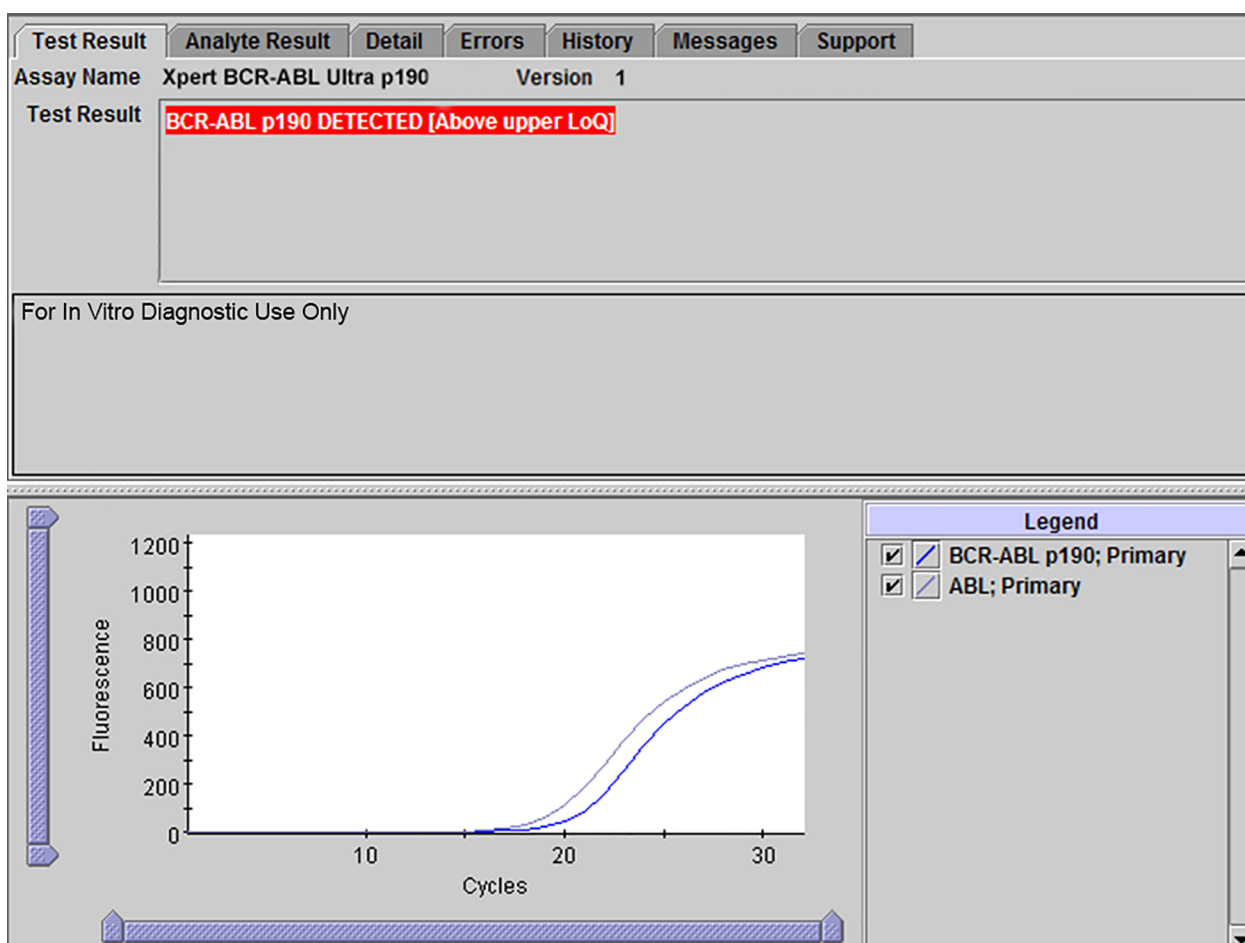
14.3 WYKRYTE BCR-ABL p190 [powyżej górnej granicy oznaczenia ilościowego] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

Wykryto BCR-ABL p190 na poziomie > 25%.

W przypadku wyniku **DODATNI BCR-ABL p190 [powyżej górnej granicy oznaczenia ilościowego] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])** BCR-ABL p190 jest wykrywalny z wartością Ct BCR-ABL p190 większą niż lub równą „8” i mniejszą niż lub równą wartości odcięcia „32” oraz z wartością Ct ABL większą niż lub równą „8” i mniejszą niż lub równą „18”.

Przykład: ABL Ct = 17,2; BCR-ABL p190 Ct = 18,7; $\Delta Ct = -1,6$
 Właściwa dla serii wartość $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $Współczynnik \% = 2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6\%$ jest większy niż zdefiniowana górna wartość granicy oznaczenia ilościowego dla badania przy 25%

Wynik: **WYKRYTE BCR-ABL p190 [powyżej górnej granicy oznaczenia ilościowego] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**. Patrz Ilustracja 4.



Ilustracja 4. GeneXpert Dx Okno Wyświetlanie wyników (View Results): **WYKRYTE BCR-ABL p190 [powyżej górnej granicy oznaczenia ilościowego] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**

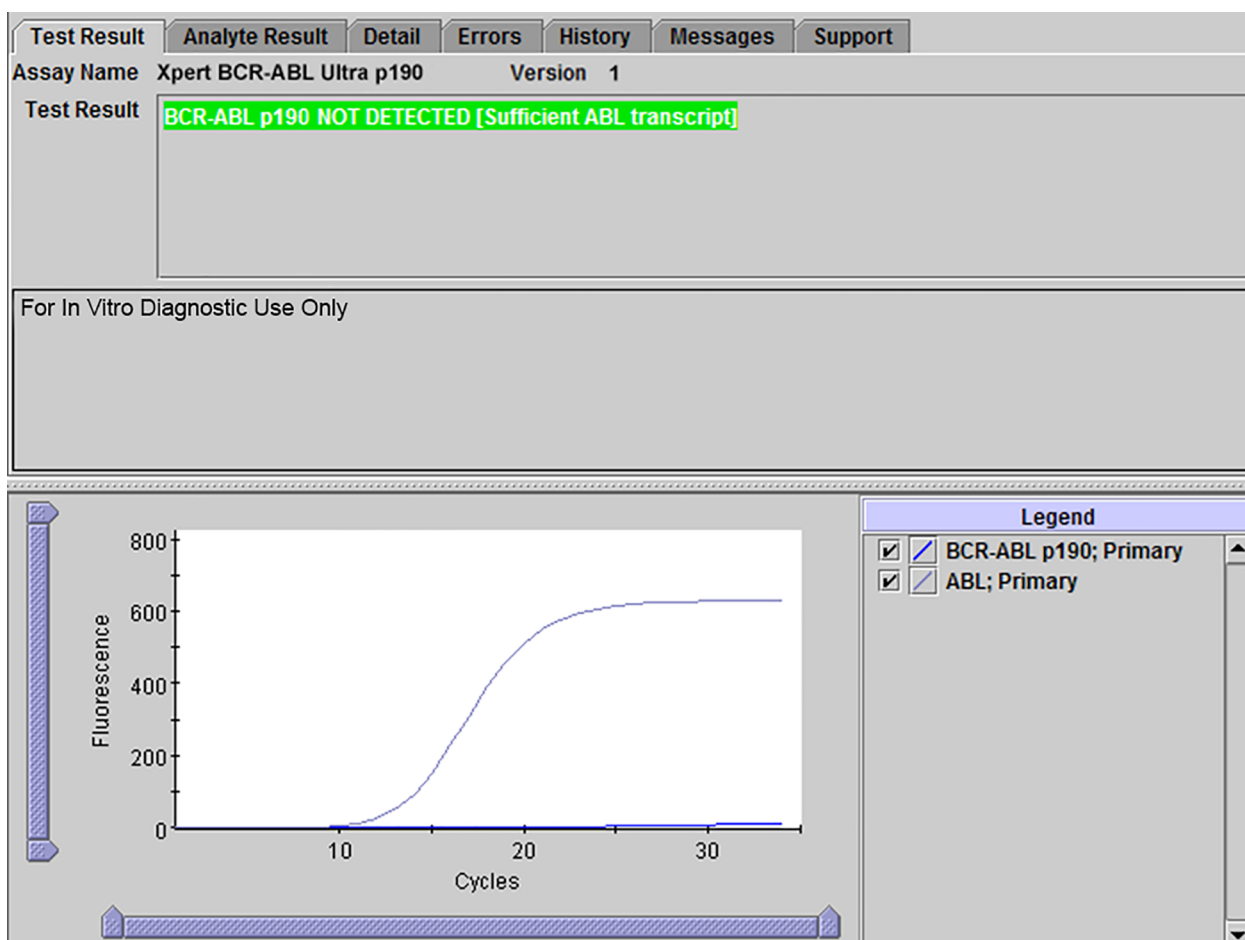
14.4 NIE WYKRYTE BCR-ABL p190 [wystarczający transkrypt ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

Nie wykryto BCR-ABL p190 z wartością Ct BCR-ABL p190 równą „0” lub większą niż wartość odcięcia „32” oraz wartością Ct ABL większą niż „8” i mniejszą niż lub równą „18”.

Jeśli nie można wykryć BCR-ABL p190 z wartością Ct BCR-ABL p190 równą „0” lub większą niż wartość odcięcia „32”, oprogramowanie GeneXpert najpierw sprawdza wartość Ct ABL w celu określenia, czy wartość Ct ABL jest większa niż lub równa „8” oraz mniejsza niż lub równa „18”, aby potwierdzić wynik „Dostateczny transkrypt ABL (Sufficient ABL transcript)”. Patrz Tabela 2.

Przykład: Wartość Ct BCR-ABL p190 testu = 0; Ct ABL = 11,6 jest mniejsza niż „18”.

Wynik: **NIE WYKRYTE BCR-ABL p190 [wystarczający transkrypt ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])** Patrz Ilustracja 5.



Ilustracja 5. GeneXpert Dx Okno Wyświetlanie wyników (View Results): NIE WYKRYTE BCR-ABL p190 [wystarczający transkrypt ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

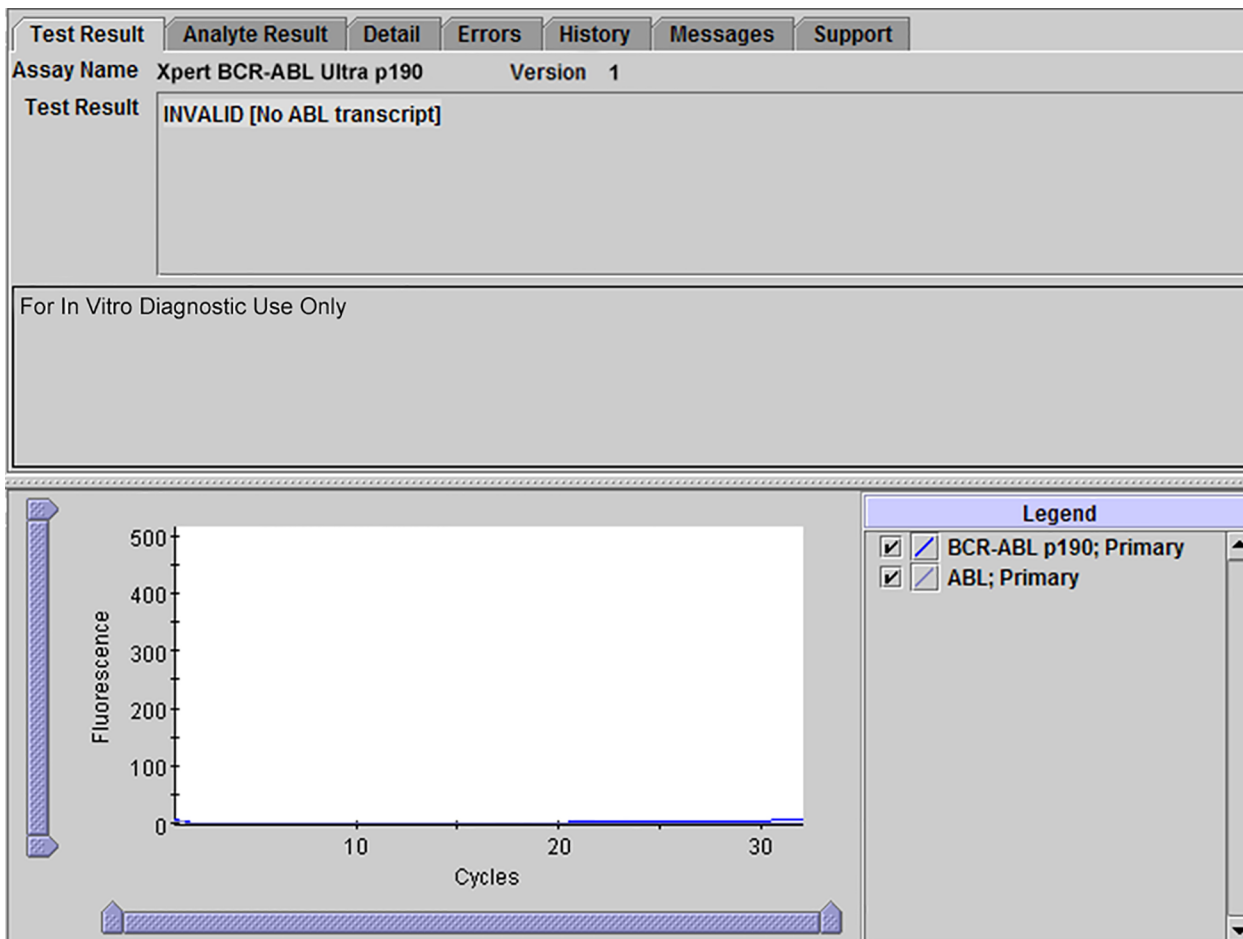
14.5 NIEWAŻNY [brak transkryptu ABL] (INVALID [No ABL transcript])

BCR-ABL p190 nie wykryto w przypadku wartości Ct ABL równej „0”.

W przypadku gdy transkrypt BCR-ABL p190 zostanie wykryty lub nie zostanie wykryty, oprogramowanie GeneXpert najpierw szuka wartości Ct ABL, aby potwierdzić, czy wartość Ct ABL jest mniejsza lub równa „18” w celu zapewnienia „wystarczającego transkryptu ABL”. Patrz Sekcja 16, Wskazówki diagnostyczne - przewodnik.

Przykład: BCR-ABL p190 Ct = 0; ABL Ct = 0.

Wynik: **NIEWAŻNY [brak transkryptu ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Patrz Ilustracja 6.



**Ilustracja 6. GeneXpert Dx Okno Wyświetlanie wyników (View Results):
NIEWAŻNY [brak transkryptu ABL] (INVALID [No ABL transcript])**

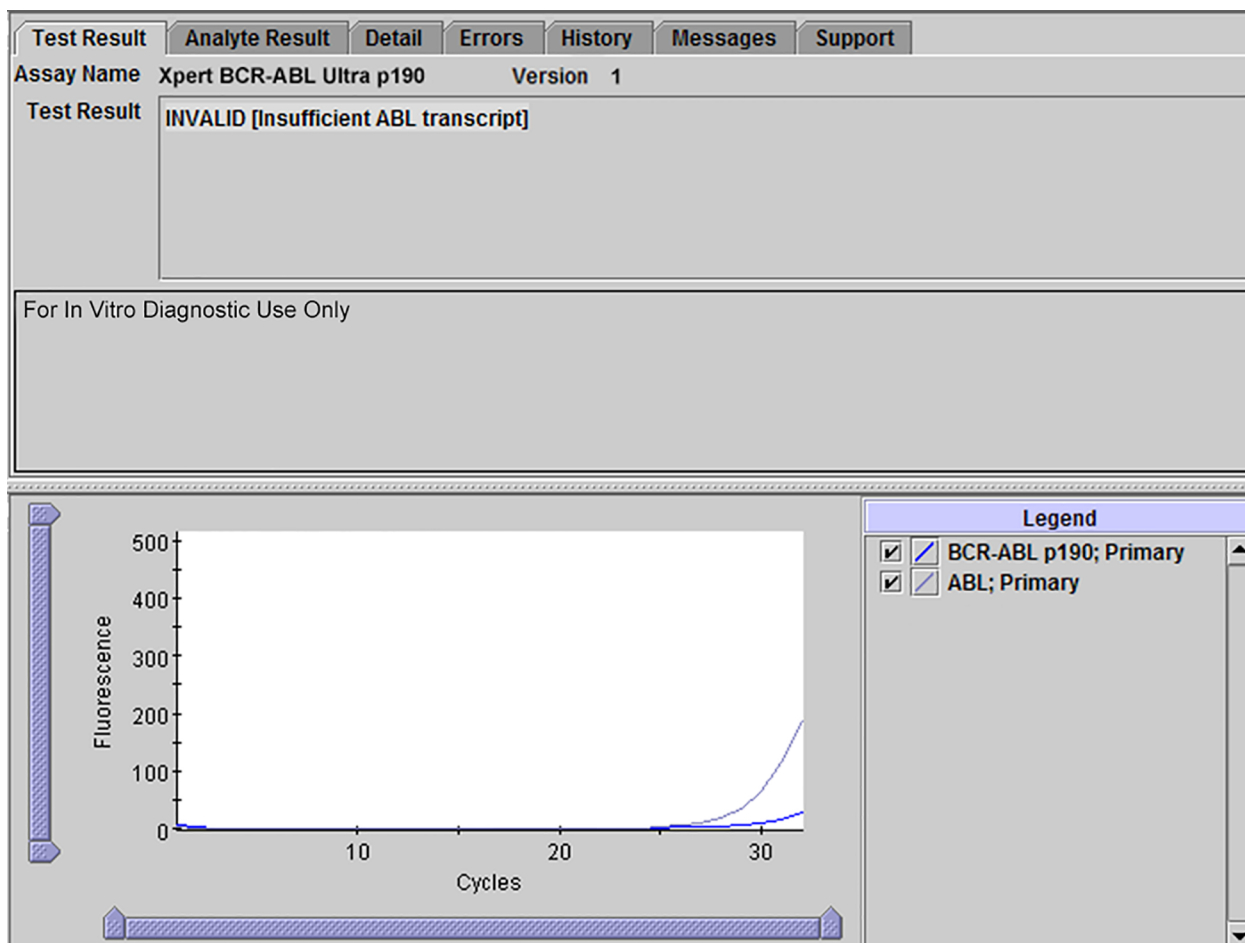
14.6 NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

Transkrypt BCR-ABL p190 został wykryty lub nie został wykryty w przypadku wartości Ct ABL większej niż „18”.

W przypadku gdy transkrypt BCR-ABL p190 zostanie wykryty lub nie zostanie wykryty, oprogramowanie GeneXpert najpierw szuka wartości Ct ABL, aby potwierdzić, czy wartość Ct ABL jest mniejsza lub równa „18” w celu zapewnienia „wystarczającego transkryptu ABL”. Patrz Sekcja 16, Wskazówki diagnostyczne - przewodnik.

Przykład: wartość Ct BCR-ABL p190 = 31,2; wartość Ct ABL = 28 jest większa niż „18”.

Wynik: **NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).**
Patrz Ilustracja 7.



Ilustracja 7. GeneXpert Dx Okno Wyświetlanie wyników (View Results): NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

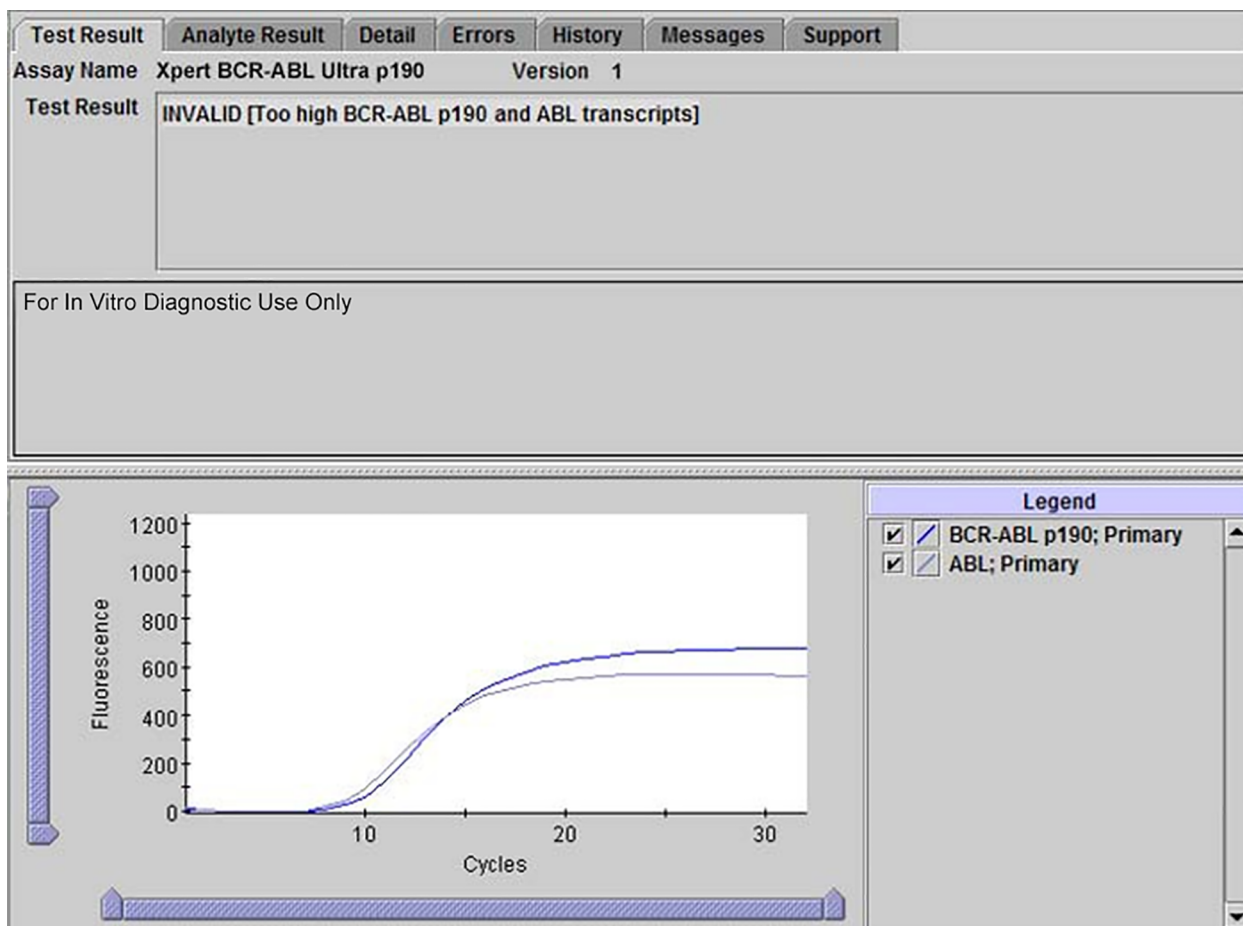
14.7 NIEWAŻNY [zbyt wysokie transkrypty BCR-ABL p190 i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

Wykryto BCR-ABL p190 zarówno dla BCR-ABL p190, jak i Ct ABL poniżej „8”.

W przypadku gdy transkrypt BCR-ABL p190 zostanie wykryty lub nie zostanie wykryty, oprogramowanie GeneXpert najpierw szuka wartości Ct ABL, aby potwierdzić, czy wartość Ct ABL jest mniejsza lub równa „18” w celu zapewnienia „wystarczającego transkryptu ABL”. Patrz Sekcja 16, Wskazówki diagnostyczne - przewodnik.

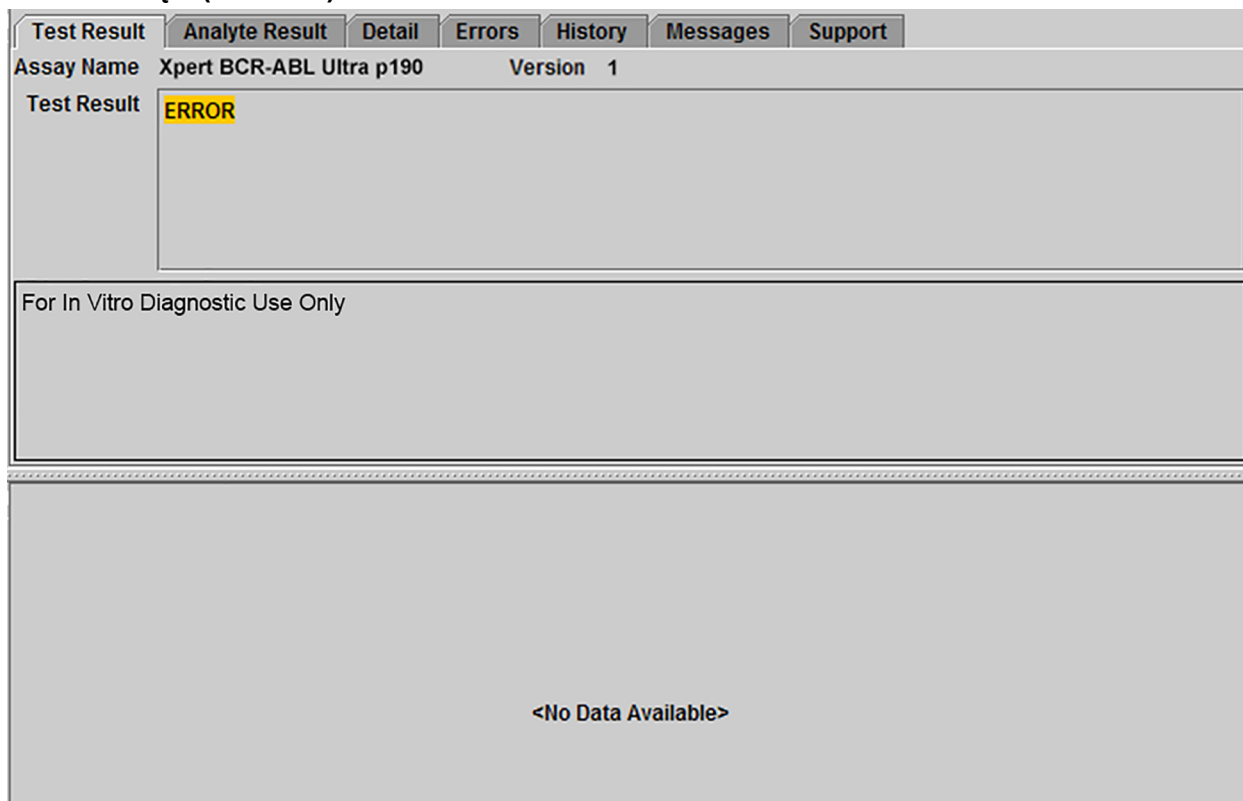
Przykład: Wartość Ct BCR-ABL p190 = 7,9; Ct ABL = 7,6 jest mniejsza niż „8”.

Wynik: **NIEWAŻNY [zbyt wysokie transkrypty BCR-ABL i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL and ABL transcripts])**. Patrz Ilustracja 8.



Ilustracja 8. GeneXpert Dx Okno Wyświetlanie wyników (View Results): NIEWAŻNY [zbyt wysokie transkrypty BCR-ABL p190 i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

14.8 BŁĄD (ERROR)



Ilustracja 9. GeneXpert Dx Okno Wyświetlanie wyników (View Results): BŁĄD (ERROR)

15 Ograniczenia

- Produkt jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- Test nie jest przeznaczony do stosowania z zewnętrznymi kalibratorami.
- Test nie jest wskazany do określania, czy należy przerwać leczenie TKI ani do monitorowania pacjenta po przerwaniu leczenia.
- Wydajność testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 weryfikowano wyłącznie za pomocą procedur opisanych w niniejszej instrukcji użycia. Modyfikacja tych procedur może wpłynąć na wydajność testu.
- Ten produkt został zatwierdzony pod kątem stosowania z próbkami krwi pobranymi do probówek z EDTA.
- Nie używać heparyny jako antykoagulantu, ponieważ może ona powodować zahamowanie reakcji PCR.
- Nie zatwierdzono próbek typu: cytrynian sodu (Na Citrate), kożuszek leukocytarno-płytkowy ani szpik kostny.
- Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem, obsługą lub przechowywaniem próbki bądź pomieszaniem próbek. Ścisłe przestrzeganie instrukcji użycia pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 jest przeznaczony wyłącznie do wykrywania transkryptów fuzyjnych e1a2 BCR-ABL p190. Nie oceniono możliwości wykrywania transkryptów fuzyjnych innych niż opisane w niniejszej instrukcji użycia. Test nie wykrywa dużych ani mniejszych punktów odcięcia, mikrodelecji ani mutacji.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 nie jest przeznaczony do wykrywania e13a2/b2a2 i 314a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) ani innych mniejszych translokacji, które mogą być obecne w próbce krwi obwodowej pochodzącej od pacjenta z białaczką.
- W przypadku niektórych próbek o bardzo dużej liczbie krwinek białych (powyżej 30 milionów komórek/ml) Xpert BCR-ABL Ultra p190 może zgłaszać wyniki **NIEWAŻNY (INVALID)** (typ 2) z powodu nadmiernych poziomów BCR-ABL p190 lub ABL w próbce. Dodatkowe informacje zawiera Tabela 2.
- Niektóre próbki z bardzo niskimi poziomami transkryptu ABL lub z liczbą krwinek białych mniejszą niż 150 000 komórek/ml mogą być zgłaszane jako wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** (typ 1). Wynik niejednoznaczny nie wyklucza braku obecności bardzo małych stężeń komórek białaczkowych u pacjenta.
- Transkrypt CML p230 z mikropunktem odcięcia e19a2 może zgłaszać wynik dodatni BCR-ABL poniżej granicy wykrywalności testu (0,0065%), gdy jest badany przy wysokich poziomach sekwencji docelowych (> 3,52 log powyżej granicy wykrywalności).

- Mutacje lub polimorfizmy w regionach wiązania starterów lub sond mogą wpływać na wykrywanie nowych lub nieznanych wariantów, co może prowadzić do uzyskania wyniku fałszywie ujemnego.
- W przypadku niektórych pacjentów z bardzo niskimi stężeniami transkryptu BCR-ABL1 (tj. poniżej granicy wykrywalności 0,0065%) wynik może być podawany jako **NIE WYKRYTE BCR-ABL p190 [wystarczający transkrypt ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. W związku z tym, wynik ujemny nie oznacza braku obecności małych stężeń komórek białaczkowych u pacjenta.
- Test został zatwierdzony do użytku z modelami GeneXpert Dx System (GX-i, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

16 Rozwiązywanie problemów

Tabela 2. Rozwiązywanie problemów

Wynik badania	Możliwe przyczyny	Wskazówki
WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)	Typ 1: Niepowodzenie kontroli endogennej ABL: <ul style="list-style-type: none"> • Niska jakość próbki • Hamowanie przebiegu reakcji RT-PCR • Jeśli ABL Ct > 18 i/lub punkt końcowy < 200 	<ul style="list-style-type: none"> • Sprawdzić jakość próbki (np. czy przestrzegano wymagań dotyczących przechowywania próbki, w tym czasu i temperatury). • Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w punkcie Sekcja 17.1. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1).
	Typ 2: Nie można określić poziomu transkryptów BCR-ABL, ponieważ próbka zawiera zbyt wiele transkryptów BCR-ABL p190 i/lub ABL (Ct < 8)	Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w Sekcja 17.2. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2).
BŁĄD (ERROR) (kod 2008)	Przekroczona wartość graniczna ciśnienia (komunikat o błędzie 2008)	<ul style="list-style-type: none"> • Sprawdzić jakość próbki • Sprawdzić, czy liczba krwinek białych nie jest znacznie podwyższona • Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w Sekcja 17.2. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2).
BŁĄD (ERROR) (kod 5006, 5007, 5008 i 5009)^{a)}	Niepowodzenie kontroli sondy	Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w Sekcja 17.1. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1).

Wynik badania	Możliwe przyczyny	Wskazówki
BRAK WYNIKU (NO RESULT)	Błąd zbierania danych. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku lub gdy nastąpiła awaria zasilania.	Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w Sekcja 17.1. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1).

^a Ta lista kodów BŁĄD (ERROR) nie jest kompletna.

17 Powtarzanie badań

17.1 Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1)

Należy powtórzyć badanie próbek z wynikami **BŁĄD (ERROR)** lub **NIEWAŻNY (INVALID)** spowodowanymi wartością cyklu progowego (Ct) ABL przekraczającą maksymalną prawidłową wartość graniczną Ct (Ct > 18) lub punktem końcowym poniżej wartości progowej (< 200). Patrz również Tabela 2.

1. Zmierzyć objętość próbki krwi:

- Jeśli dostępna jest *wystarczająca* objętość próbki krwi, wówczas należy powtórzyć badanie z użyciem pierwotnej probówki do pobierania próbki krwi zgodnie z procedurą, której opis zawiera Sekcja 11.2.1.
- LUB-
- Jeśli objętość próbki krwi jest *niewystarczająca*, wówczas można powtórzyć badanie z użyciem zachowanego lizatu uzyskanego w Sekcja 11.2.1 kroku 12.
 - a. Jeśli zachowany lizat uzyskany w Sekcja 11.2.1 kroku 12 jest przechowywany w stanie zamrożonym, przed użyciem należy go doprowadzić do temperatury pokojowej.
 - b. Upewnić się, że lizat jest dobrze wymieszany poprzez wymieszanie próbki w wyrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund i odstawienie próbki na 3 minuty do zniknięcia pęcherzyków powietrza. Należy przejść do kroku 2.

2. Przenieść 1 ml zachowanego lizatu do nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml.
3. Do nowej probówki stożkowej zawierającej lizat dodać 1,5 ml odczynnika do lizy (LY).
4. Wykonać kroki 14–17 opisane w punkcie Sekcja 11.2.1, aby uzyskać końcowy lizat.
5. Otworzyć wieczko kartridża i przenieść całą zawartość ampułki z odczynnikiem do przemywania (1) do komory na odczynnik do przemywania (z małym otworem). Patrz Ilustracja 1.
6. Przenieść pipetą całą przygotowaną próbkę do komory na próbkę (duży otwór), patrz Ilustracja 1.
7. Zamknąć wieczko kartridża. Rozpocząć badanie (patrz Sekcja 11.4).

17.2 Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2)

Należy powtórzyć badanie próbek, dla których poziomy transkryptów BCR-ABL i/lub ABL są poniżej prawidłowej minimalnej wartości odcięcia Ct (Ct < 8) i/lub w przypadku przekroczenia wartości granicznej ciśnienia. Patrz również Tabela 2.

1. Na dno nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml dodać 100 µl proteiny K (PK).

2. Zmierzyć objętość próbki krwi:

- Jeśli dostępna jest *wystarczająca* objętość próbki krwi, wówczas należy powtórzyć badanie z użyciem pierwotnej probówki do pobierania próbki krwi. Upewnić się, że próbka krwi została dobrze wymieszana poprzez odwrócenie probówki do pobierania krwi 8 razy bezpośrednio przed pipetowaniem. Należy przejść do kroku 3.
- LUB-
- Jeżeli objętość próbki krwi jest *niewystarczająca*, wówczas można powtórzyć badanie z użyciem zachowanego lizatu uzyskanego w Sekcja 11.2.1 kroku 12.

- a. Jeżeli zachowany lizat uzyskany w Sekcja 11.2.1 kroku 12 jest przechowywany w stanie zamrożonym, przed użyciem należy go doprowadzić do temperatury pokojowej. W przypadku używania zamrożonego lizatu przed użyciem należy poczekać, aż osiągnie on temperaturę pokojową.
 - b. Upewnić się, że lizat jest dobrze wymieszany poprzez wymieszanie próbki w wyrzäsarce typu Vortex z maksymalnÄ prędkościÄ w trybie ciÄgłym przez 10 sekund i odstawienie próbki na 3 minuty do znikniÄcia pęcherzyków powietrza. Należy przejść do kroku 3.
3. Do próbki juŹ zawierajÄcej proteinazę K dodać 50 µl oryginalnej próbki krwi, jeŹeli jest dostępnÄ, lub 80 µl zachowanego lizatu uzyskanego w Sekcja 11.2.1 kroku 12.
 4. Mieszaj zawartość próbki w wyrzäsarce typu Vortex z maksymalnÄ prędkościÄ w trybie ciÄgłym przez 3 sekundy.
 5. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę.
 6. Wykonaj kroki 6-13 opisane w punkcie Sekcja 11.2.2, aby uzyskać koñcowy lizat.
 7. Otworzyć wieczko kartridŹa i przenieść caÄ zawartość ampulki z odczynnikiem do przemywania (1) do komory na odczynnik do przemywania (z małym otworem). Patrz Ilustracja 1.
 8. Przenieść pipetÄ caÄ przygotowanÄ próbkę do komory na próbkę (duŹy otwór). Patrz Ilustracja 1.
 9. Zamknij wieczko kartridŹa. Rozpocząć badanie (patrz Sekcja 11.4).

18 Wartości oczekiwane

Zakres Xpert BCR-ABL Ultra p190 obejmuje kluczowe kliniczne punkty decyzyjnych w zakresie monitorowania CML i ALL. Oczekiwane wartości sÄ wyrażone jako współczynnik procentowy mRNA BCR-ABL p190 (e1a2) do mRNA ABL i mieszczą się w zakresie od 0,0065% do 25%. Pomiaru poniŹej tego zakresu sÄ zgłaszane jako niewykryte lub poniŹej granicy wykrywalności (LoD). Pomiaru powyŹej tego zakresu sÄ zgłaszane jako powyŹej granicy oznaczenia iloŹciowego (LoQ). Szczegóły znaleźć można w Sekcja 14.

19 Skuteczność kliniczna

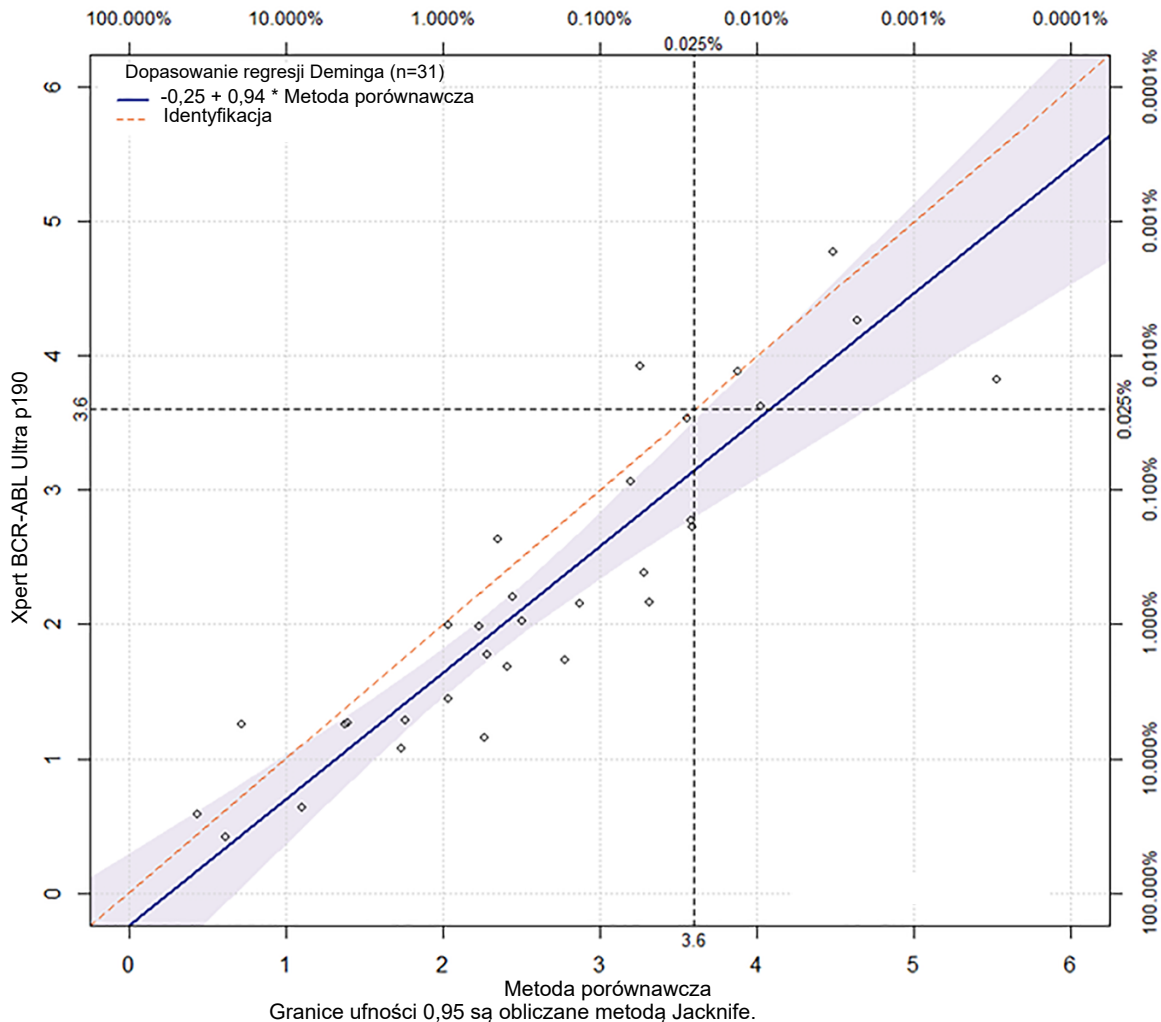
Skuteczność klinicznÄ Xpert BCR-ABL Ultra p190 oceniono w trzech ośrodkach w Stanach Zjednoczonych w ramach wieloośrodkowego badania klinicznego. Badanie przeprowadzono przy uŹyciu próbek krwi obwodowej z EDTA prospektywnie pobieranych od pacjentów z ostrÄ białaczkÄ limfoblastycznÄ (ALL) i przewlekÄ białaczkÄ szpikowÄ (CML) podczas monitorowania leczenia. Ponadto badanie obejmowało pozostałości próbek przechowywane w postaci zamroŹonych klinicznych lizatów, które przygotowano z próbek krwi pełnej z EDTA pobranych od tej samej populacji pacjentów. Wydajność testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 porównano z badaniem molekularnym, które wykrywa i kwantyfikuje transkrypty mRNA dla p190 [t(9;22)(q34;q11)] z dodatnim wynikiem w kierunku CML i ALL u pacjentów z ekspresjÄ transkrypcji fuzyjnej BCR-ABL1 typu e1a2, i wykorzystuje ABL jako kontrolę endogennÄ transkrypty mRNA.

Do tego badania włączono łącznie 47 próbek. Spośród tych 47 próbek w przypadku 9 uzyskano wynik RNA < 100 ng/ml i zostały one wykluczone z analiz. W sumie 9 próbek wyłączono z badania, pozostawiając 38 próbek włączonych do ostatecznego zestawu danych. Należy zauwaŹyć, Źe wszystkie 9 wyłączonych próbek uzyskało waŹne wyniki testu Xpert BCR-ABL Ultra p190.

Wiek i płeć zostały zebrane dla 38 próbek włączonych do tego badania. Próbki pobrano od 25 męŹczyzn (65,8%) i 13 kobiet (34,2%). Wszystkie próbki pochodzÄ od pacjentów w wieku od 20 do 88 lat, a średnia wieku wynosi 54,5 roku. DwadzieŹcia trzy (61%) próbki pobrano od pacjentów z rozpoznaną ALL, a 15 (39%) próbek pobrano od pacjentów z z rozpoznaną CML.

Spośród 38 kwalifikujÄcych się próbek siedem (7) próbek zostało wyłączonych z regresji Deminga, poniewaŹ miały one wynik ujemny w co najmniej jednym z badañ. W analizie regresji Deminga uwzględniono trzydzieŹci jeden próbek w ramach zakresów iloŹciowych obu testów.

Analiza regresji Deminga dla wyników współczynnika procentowego (PR) wykazuje dobrÄ współzaleŹność miÄdzy Xpert BCR-ABL Ultra p190 a pomiarami metody porównawczej w odniesieniu do pomiaru PR. Punkt przecięcia wynosił 0,01, a nachylenie wynosiło 1,08; oba spełniały kryteria akceptacji. Współczynnik korelacji r Pearsona wynosił 0,814. Redukcja logarytmiczna (LR) została przeprowadzona w celu normalizacji rozkładu danych PR. Przeprowadzono analizę regresji Deminga z wykorzystaniem pomiarów LR i przedstawiono jÄ poniŹej w Ilustracja 10.



Ilustracja 10. Regresja Deminga w przypadku LR

Ilustracja 10 wykazuje wysoką korelację między Xpert BCR-ABL Ultra p190 i testami metody porównawczej w przypadku pomiarów LR. Regresja Deminga ma nachylenie 0,94 i punkt przecięcia -0,25. Wyniki regresji Deminga dla wartości LR również spełniają kryteria akceptacji dla punktu przecięcia i nachylenia. Ogólna współzależność (Pearsona) $r=0,904$ była wysoka.

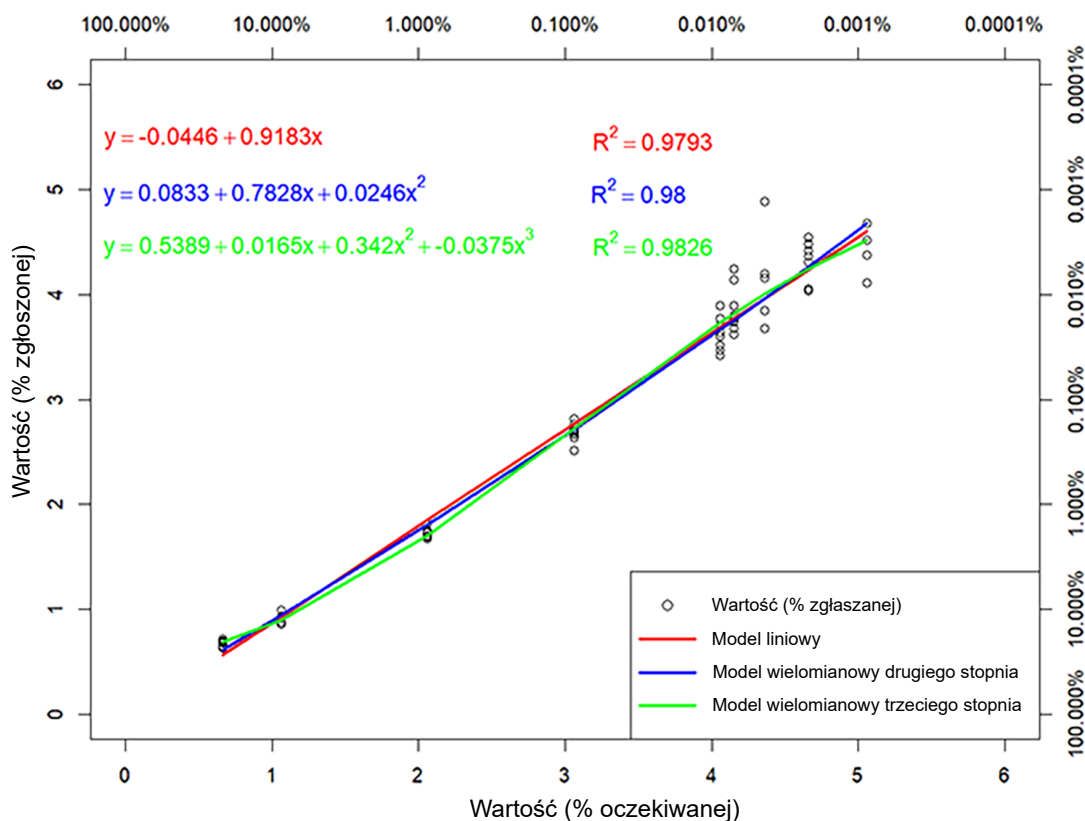
Dodatknie przewidywane odchylenie 0,01 w raportowaniu procentowym (LR: -0,39) oraz rozkład wskazują, że w przypadku większości próbek test Xpert mierzy wyższe stężenie transkrypcji p190 w porównaniu z metodą porównawczą. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 wykazał wysoką korelację 0,904 z metodą porównawczą i wykazywał niskie odchylenie przy użyciu pomiarów LR. Odsetek wyniku nieokreślonego obserwowany w tym badaniu wyniósł 0%, a kryteria akceptacji wyniku nieokreślonego $\leq 5\%$ również zostały spełnione. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 wykazał akceptowalną zgodność z metodą porównawczą, co wykazano za pomocą nachylenia i punktu przecięcia w analizie regresji Deminga.

20 Skuteczność analityczna

20.1 Liniowość / zakres dynamiczny

Liniowość została oceniona dla małego punktu odcięcia e1a2, przy użyciu całkowitej wartości RNA z linii komórkowych SUP-B15 ALL. Całkowita wartość RNA transkryptu BCR-ABL p190 została rozcieńczana w lizacie tła przygotowanym z próbek klinicznych z ujemnym wynikiem w kierunku ALL do docelowych zakresów od ~25% do 0,001% (LR [redukcja logarytmiczna] od 0,60 do LR5). Elementy panelu, w tym poziom ujemny, badano z użyciem dwóch serii zestawów testu w 4 powtórzeniach na serię zestawów.

Badania i analizy statystyczne prowadzono zgodnie z wytycznymi EP06-A organizacji CLSI. Analizy regresji liniowej wykonano dla wielomianów pierwszego, drugiego i trzeciego stopnia. Wyniki dla każdego punktu odcięcia e1a2 uznano za liniowe, jeśli współczynniki regresji wielomianowej były nieistotne (wartości $p > 0,05$). Krzywa regresji liniowej jest pokazana w Ilustracja 11 poniżej.



Ilustracja 11. Krzywe regresji liniowej dla transkryptu punktu odcięcia e1a2

Punkty przecięcia regresji, nachylenia i wartości R^2 oszacowane na podstawie modelu liniowego przedstawia Tabela 3.

Tabela 3. Współczynniki regresji na podstawie modelu liniowego

Punkt odcięcia	Punkt przecięcia	Nachylenie	R^2
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Łącznie dane świadczą o liniowości od wartości ~25%/LR 0,60 do 0,001%/LR5 z maksymalnym odchyleniem standardowym równym 0,26. Zakres raportowania wynosi od granicy liniowości równej 25%/LR0,6 do granicy oznaczenia ilościowego równej 0,0065%/LR4,19.

20.2 Czulość analityczna (granica wykrywalności, granica oznaczenia ilościowego, granica próby ślepej)

Granica wykrywalności (LoD) została oszacowana dla punktu odcięcia e1a2 poprzez badanie seryjnych rozcieńczeń wszystkich dodatnich próbek klinicznych [$>10\%$]. Dane dla wszystkich rozcieńczeń, a granicę wykrywalności oszacowano na podstawie analizy regresji probitowej. W wyniku przeprowadzonej analizy oszacowano wartość granicy wykrywalności na 0,0070% dla punktu odcięcia e1a2.

Granice wykrywalności zweryfikowano, adaptując nieparametryczną metodę opisaną w wytycznych EP17-A2 organizacji CLSI (Tabela 4). Trzy niepowtarzalne próbki dodatnie pod kątem ALL reprezentujące punkt odcięcia e1a2 rozcieńczono do poziomu docelowego wynoszącego 0,0065%. Dwieście piętnaście powtórzeń badano przez 4 operatorów przy pomocy 3. serii zestawów testu przez 3 dni.

Tabela 4. Zweryfikowana granica wykrywalności w postaci %

Punkt odcięcia	Dodatnie/powtórzenia	% wyników dodatnich	Średni współczynnik %
e1a2	206/215	96,0%	0,0065%

Xpert BCR-ABL Ultra p190 Granica wykrywalności dla e1a2 wynosi 0,0065%.

Granice oznaczenia ilościowego oszacowano na podstawie danych uzyskanych podczas badań granicy wykrywalności i liniowości. Średnią i odchylenie standardowe dla wartości % BCR-ABL p190/ABL obliczono dla powtórzeń na poziomach równych granicy wykrywalności lub większych ze współczynnikiem wyników dodatnich większym niż lub równym 95%. Granica oznaczenia ilościowego jest podawana jako minimalna raportowana wartość procentowa BCR-ABL p190/ABL, która może być wiarygodnie oceniona ilościowo, spełniająca cel precyzji wykrywania transkrypcji e1a2 z wynikiem dodatnim większym lub równym 95%, z odchyleniem standardowym redukcji logarytmicznej (LR) $\leq 0,36$ LR. Granica oznaczenia ilościowego testu jest ograniczona przez granicę wykrywalności testu; z tego względu granicę oznaczenia ilościowego określono jako równą granicy wykrywalności, 0,0065%. Wyniki oceniono również w odniesieniu do kryteriów akceptacji dla odchylenia standardowego (SD) $\leq 0,36$ LR i mieściły się w kryteriach akceptacji.

Badanie granicy próby ślepej (LoB) zostało przeprowadzone w celu oszacowania najwyższego współczynnika % BCR-ABL p190/ABL, który prawdopodobnie może zostać wykryty w $\geq 95\%$ próbek krwi pełnej z EDTA z ujemnym wynikiem p190. Badanie granicy próby ślepej zostało określone na podstawie 387 ważnych punktów danych w nieparametrycznej analizie bez określania ostatniej daty, zgodnie z opisem w CLSI EP17-A2, w celu oszacowania wartości granicy próby ślepej wynoszącej 0,00032% BCR-ABL p190/ABL.

20.3 Swoistość analityczna

Swoistość analityczną Xpert BCR-ABL Ultra p190 oceniono analizując próbki krwi pełnej z EDTA pobrane od dwudziestu (20) zdrowych dawców (ujemne w kierunku CML i AML). Każdą próbkę badano w czterech powtórzeniach.

Sygnal BCR-ABL p190 został wykryty w jednym z 80 powtórzeń, wykazując, że test Xpert BCR-ABL Ultra p190 wykazuje swoistość analityczną w kierunku wykrywania transkryptu BCR-ABL p190 wynoszącą 98,8%.

20.4 Przenoszenie zanieczyszczeń

Przeprowadzono badanie mające na celu wykazanie, że samowystarczalne i jednorazowe kartridże GeneXpert zapobiegają przenoszeniu zanieczyszczeń z kartridży używanych kolejno w tym samym module. W tym celu wykonano badania próbek ujemnych po wykonaniu badań próbek bardzo wysoko dodatnich w tym samym module aparatu GeneXpert. Badanie to polegało na przygotowaniu próbki od zdrowej osoby z wynikiem **UJEMNYM** z EDTA (krew z ujemnym wynikiem w kierunku ALL) w tym samym module GeneXpert, bezpośrednio po próbce z wynikiem wysoce **DODATNIM** (krew z symulowanym wynikiem dodatnim w kierunku ALL) z komórkami SUP-B15 dodanymi do krwi z ujemnym wynikiem w kierunku ALL, aby uzyskać wynik $\geq 10\%$. Schemat testu obejmował 10 powtórzeń w przypadku każdej próbki, rozpoczynając i kończąc na próbce z wynikiem ujemnym, na dwóch modułach GeneXpert, co daje 21 ujemnych i 20 dodatnich wyników na moduł. Wszystkie dwadzieścia próbek dodatnich BCR-ABL p190 zostało prawidłowo zgłoszonych jako **WYKRYTE BCR-ABL p190 [#,#%] (BCR-ABL p190 DETECTED [###%])**, podczas gdy wszystkie dwadzieścia jeden próbek ujemnych BCR-ABL p190 zostało prawidłowo zgłoszonych jako **NIETYKRYTE BCR-ABL p190 [wystarczający transkrypt ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

20.5 Potencjalnie interferujące substancje

W tym badaniu oceniono pięć substancji mogących występować w próbkach krwi pełnej z EDTA i mogących zakłócać wydajność testu Xpert BCR-ABL Ultra p190. Badane związki chemiczne i poziomy (patrz Tabela 5) oparto na wytycznych EP07-A2 organizacji CLSI. Zakłócenia badano w tle próbek ALL krwi pełnej z EDTA, z pozorowanymi komórkami SUP-B15 ALL, reprezentującymi trzy poziomy z pięcioma próbkami dla każdego poziomu: >1%, 0,1-0,02% i wartość ujemna. Kontrole badania obejmowały komórki SUP-B15 próbki krwi pełnej z EDTA na odpowiednim poziomie transkryptów BCR-ABL p190 bez substancji interferującej. Każdą próbkę ALL badano bez obecności i z obecnością pięciu poszczególnych substancji interferujących w 4 powtórzeniach na każdy warunek.

Substancję uznawano za nieinterferującą, jeśli w przypadku jej obecności obserwowany współczynnik średniej % mieścił się w granicy 3-krotnej różnicy w porównaniu z kontrolą.

Nie zaobserwowano klinicznie znaczącego działania hamującego na test Xpert BCR-ABL Ultra p190 w przypadku jakiegokolwiek z substancji interferujących ocenianych w tym badaniu. Mimo że zaobserwowano pewną zmienność i statystycznie istotne różnice (wartość $p < 0,05$) w przypadku niektórych z badanych warunków, zgłaszane współczynniki % dla warunków testu i warunków kontroli mieściły się w dopuszczalnym zakresie 3-krotności.

Tabela 5. Badane potencjalnie interferujące substancje za pomocą Xpert BCR-ABL Ultra p190

Substancje interferujące	Badane stężenie
Bilirubina niezwiązana	20 mg/dl
Cholesterol całkowity	500 mg/dl
Triglicerydy (lipidy)	3000 mg/dl
Heparyna	3500 U/l
EDTA (krótkie pobranie)	900 mg/dl

21 Odtwarzalność i precyzja

Odtwarzalność i precyzję testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 oceniono w wielośrodkowym badaniu zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3 „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline” (Ocena precyzji działania metod pomiaru ilościowego; zatwierdzone wytyczne) i EP15-A3 „User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline” (Weryfikacja działania użytkownika pod kątem precyzji i dokładności, zatwierdzone wytyczne) organizacji CLSI.

Tabela 6 przedstawia panel pięciu próbek, które zostały przygotowane i włączone do niniejszego badania.

Tabela 6. Panel odtwarzalności Xpert BCR-ABL Ultra p190

Nr próbki	Opis panelu	Wykryto stężenie BCR-ABL p190/ABL (współczynnik procentowy) (BCR-ABL p190/ABL Level Detected (percent ratio))
1	LR1: e1a2	~10%
2	LR2: e1a2	~1%
3	LR3: e1a2	~0,1%
4	LR3.7: e1a2	~0,02%
5	Wynik ujemny	Nie wykryto

Każdy z pięciu elementów panelu badano w dwóch powtórzeniach dwa razy na dzień w trakcie sześciu różnych dni z udziałem każdego z dwóch różnych operatorów w trzech różnych placówkach. Użyto trzech serii zestawów testu Xpert BCR-ABL Ultra p190, a każdy operator wykonywał badania z użyciem jednej serii (3 placówki × 2 operatorów × 3 serie × 2 dni (2 dni badania na serię kartridża) × 2 serie × 2 powtórzenia = 144 powtórzenia/element panelu).

Tabela 7. Odchylenie standardowe i współczynnik zmienności (CV) z wskaźnikiem procentowym (PR)

Element panelu	N	Średnia	Ośrodek		Operator		Seria		Dzień		Seria		W ramach testu		Łącznie	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (współczynnik ~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 (współczynnik ~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 (współczynnik ~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 (współczynnik ~0,02%)	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 Jedna próbka miała wynik nieokreślony zarówno w badaniu, jak i w ponownym badaniu.

Całkowity współczynnik zmienności (CV%) wskaźnika procentowego raportujących wartości ilościowych przyjmował wartości w zakresie od 25,53 do 77,30 dla próbek dodatnich. Element zmienności dla wartości raportujących wskaźnika procentowego nie przekroczył 50% całkowitej zmienności testu dla następujących czynników: pomiędzy ośrodkami, pomiędzy operatorami, pomiędzy dniami i pomiędzy seriami. Analiza zmienności w zakresie wartości ilościowej średniego wskaźnika procentowego dała podobne wyniki.

Tabela 8. Odchylenie standardowe i współczynnik zmienności (CV) redukcji logarytmicznej (LR)

Element panelu	N	Średnia	Ośrodek		Operator		Partia		Dzień		Seria		W ramach testu		Łącznie	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (współczynnik ~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
LR 2: e1a2 (współczynnik ~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
LR 3: e1a2 (współczynnik ~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
LR 3.7: e1a2 (współczynnik ~0,02%)	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 Jedna próbka miała wynik nieokreślony zarówno w badaniu, jak i w ponownym badaniu.

Całkowity procentowy współczynnik zmienności (CV) raportujących wartości ilościowych LR przyjmował wartości w zakresie od 26,17 do 88,68 dla próbek dodatnich.

22 Piśmiennictwo

1. Faderl S. et al. Clinical Significance of Cytogenic 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. Sierpień 2007 r. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=513.
8. White H. E. et al. Establishment of the First World Health Organization international genetic reference panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood*. 2010; 116:e111-e117.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokument M29 (patrz najnowsze wydanie).
11. Health-care Waste. Światowa Organizacja Zdrowia. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. ROZPORZĄDZENIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.
13. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 marca 2012 r.) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

23 Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

Siedziba główna firmy

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Siedziba główna w Europie

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

24 Wsparcie techniczne

Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid należy przygotować następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikaty o błędach (jeśli występują)
- Wersja oprogramowania i numer znacznika serwisowego komputera (w odpowiednim przypadku)

USA




















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

Francja

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

Dane kontaktowe wszystkich centrów wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie internetowej:
www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

25 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Oznaczenie CE — zgodność z normami europejskimi
	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Kod partii
	Nie używać ponownie
	Data ważności
	Ostrzeżenie
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do przeprowadzenia n testów
	Kontrola
	Ograniczenie temperatury
	Zagrożenia biologiczne
	Łatwopalne ciecze
	Działanie szkodliwe na rozrodczość i na narządy
	Upoważniony przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii
	Importer



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Faks: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300

Faks: + 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 Historia zmian

Opis zmian: 302-6673, wer. B do wer. C

Przeznaczenie: Aktualizacje instrukcji użycia

Punkt	Opis zmiany
8.3	Dodano ostrzeżenie o tym, aby nie otwierać i nie zmieniać kartridżów do usunięcia.
11.2.1	Zaktualizowana informacja dotycząca pozostałej ilości lizatu.
17	Zaktualizowane instrukcje powtórnego badania i poprawione piśmiennictwo dotyczące punktu.
19	Zaktualizowane oznaczenia diagramów na Ilustracji 10.
21	Zaktualizowane informacje dotyczące odtwarzalności i precyzji.
25	Dodano symbole „CH REP” i „Importer” oraz ich definicje w tabeli symboli. Dodano informacje „CH REP” i „Importer” oraz adres w Szwajcarii.
26	Zaktualizowano tabelę historii zmian.