

# Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra

**REF** GXBCRABL-10

Instrukcja użycia

**IVD** CE

## **Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2022 Cepheid.

Cepheid<sup>®</sup>, logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> i Xpert<sup>®</sup> 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.

© 2019–2022 Cepheid.

Opis zmian można znaleźć w części Historia zmian Sekcja 27.

# Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra

---

Do diagnostyki *in vitro*

## 1 Nazwa zastrzeżona

Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra

## 2 Nazwa powszechna lub zwyczajowa

Xpert BCR-ABL Ultra

## 3 Przeznaczenie

Test Xpert BCR-ABL Ultra jest testem diagnostycznym *in vitro* do pomiaru ilościowego transkryptów mRNA BCR-ABL1 i ABL1 w próbkach krwi obwodowej pobranych od pacjentów z rozpoznaną przewlekłą białaczką szpikową (CML) t(9;22)-dodatnią z ekspresją transkryptów fuzyjnych BCR-ABL1 typu e13a2 i/lub e14a2. Test wykorzystuje zautomatyzowaną, ilościową reakcję łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-qPCR) w czasie rzeczywistym. Test Xpert BCR-ABL Ultra jest przeznaczony do pomiaru stosunku procentowego BCR-ABL1 do ABL1 w skali międzynarodowej (*IS*) oraz redukcji logarytmicznej odpowiedzi molekularnej (wartość MR) w stosunku do wartości wyjściowej 100% (*IS*) u pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową t(9;22)-dodatnią podczas monitorowania leczenia inhibitorami kinazy tyrozynowej (TKI).

Test nie umożliwia rozróżnienia między transkryptami fuzyjnymi e13a2/b2a2 a e14a2/b3a2 ani nie monitoruje innych rzadkich transkryptów fuzyjnych wynikających z wystąpienia translokacji t(9;22). Ten test nie jest przeznaczony do diagnostyki przewlekłej białaczki szpikowej.

Test Xpert BCR-ABL Ultra jest przeznaczony wyłącznie do użytku z systemem GeneXpert<sup>®</sup> Dx i GeneXpert Infinity firmy Cepheid.

## 4 Podsumowanie i objaśnienie

Przewlekła białaczka szpikowa (CML) to jedna z najbardziej powszechnych hematologicznych chorób rozrostowych, która odpowiada za 15–20% wszystkich przypadków białaczki.<sup>1</sup> Zapadalność na białaczkę CML wynosi około 1,8/100 000, co oznacza, że u 1 z każdych 55 555 mężczyzn i kobiet zostanie w trakcie ich życia zdiagnozowana białaczka CML.<sup>2</sup> Ponad 95% pacjentów z białaczką CML ma charakterystyczny chromosom Philadelphia (Ph1), który powstaje w wyniku wzajemnej translokacji między ramionami długimi chromosomów 9 i 22.<sup>2</sup> Translokacja polega na przeniesieniu genu Abelsona, tj. genu ABL1 (zwanego dalej genem ABL), z chromosomu 9 do punktu odcięcia (breakpoint cluster region, BCR) w chromosomie 22, co powoduje powstanie genu fuzyjnego BCR-ABL1 (zwanego dalej genem BCR-ABL). Gen fuzyjny wytwarza białko BCR-ABL — kinazę tyrozynową ze zmienioną aktywnością, która odgrywa kluczową rolę w rozwoju białaczki CML.<sup>3</sup> Test Xpert BCR-ABL Ultra wykrywa transkrypty mRNA translokacji chromosomowej dla białka p210 powstającego w wyniku wystąpienia dwóch głównych punktów odcięcia — translokacji e13a2/b2a2 i e14a2/b3a2.

Przydatność kliniczną monitorowania poziomów mRNA BCR-ABL przy pomocy reakcji RT-PCR ustalono w badaniu International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS), w którym pacjenci otrzymywali leczenie interferonami i/lub leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej (TKI). Wyniki BCR-ABL zostały znormalizowane według standaryzowanej wartości wyjściowej, wspólnej dla trzech laboratoriów biorących udział w badaniu.<sup>4</sup> Następnie zaproponowano odniesienie testów monitorujących BCR-ABL do skali międzynarodowej (*IS*), opierającej się na dwóch wartościach zdefiniowanych w badaniu IRIS, co pozwoliło na wyrażanie wyników z użyciem jednej skali.<sup>5</sup> Pierwszą z nich jest znormalizowana wartość wyjściowa reprezentująca wartość 100% (*IS*). Drugą jest większa odpowiedź molekularna (MMR), którą definiuje się jako 3-krotną redukcję logarytmiczną w stosunku do znormalizowanej wartości wyjściowej reprezentującej wartość 0,10% (*IS*)/MR3. 3-krotna redukcja logarytmiczna wiąże się z korzystnym wynikiem przeżycia.<sup>6</sup> W ten sposób testy molekularne znormalizowane do skali *IS* stanowią niezbędną pomoc dla klinicystów w postępowaniu u pacjentów z białaczką CML.<sup>6</sup>

Test Xpert BCR-ABL Ultra umożliwia pomiar ilościowy poziomu mRNA BCR-ABL jako wartość % (*IS*) poprzez wzorcowanie testu z międzynarodowym genetycznym panelem referencyjnym do pomiaru ilościowego mRNA BCR-ABL Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO). Zgodnie z zalecanym protokołem<sup>7</sup> firma Cepheid opracowała i zatwierdziła standardy dodatkowe pomiaru ilościowego, które odnoszą się do podstawowego panelu referencyjnego WHO. To umożliwia określenie właściwego dla serii współczynnika konwersji, w tym skuteczności testu (*E*) i współczynnika skalowania (*SF*), dla każdej serii zestawów testu Xpert BCR-ABL Ultra. Skuteczność wzorcowania w odniesieniu do standardów dodatkowych jest stale monitorowana.

## 5 Zasada procedury

Xpert BCR-ABL Ultra to zautomatyzowany test do pomiaru ilościowego transkryptów BCR-ABL w postaci współczynnika BCR-ABL/ABL. Test wykorzystuje zautomatyzowaną, ilościową reakcję łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-qPCR) w czasie rzeczywistym.

Test jest wykonywany w systemach GeneXpert Dx i GeneXpert Infinity firmy Cepheid. Systemy GeneXpert automatyzują i integrują oczyszczanie próbki, amplifikowanie kwasu nukleinowego i wykrywanie sekwencji docelowej w próbkach prostych lub złożonych przy pomocy testów RT-PCR i PCR. Systemy składają 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 PCR oraz w których odbywają się reakcje. Pełny opis systemu znajduje się w części *GeneXpert Dx System Operator Manual*, lub *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Test Xpert BCR-ABL Ultra zawiera odczynniki umożliwiające wykrywanie genów fuzyjnych BCR-ABL powstających w wyniku wystąpienia dwóch głównych punktów odcięcia p210 — translokacji e13a2/b2a2 i e14a2/b3a2 — oraz wykrywanie transkryptu ABL jako kontroli endogennej w próbkach krwi obwodowej.<sup>7,8,9,10,11</sup> Ilość transkryptów BCR-ABL w próbce pobranej od pacjenta jest zgłaszana jako współczynnik BCR-ABL/ABL, a także jako redukcja logarytmiczna odpowiedzi molekularnej (wartość MR) w stosunku do wartości wyjściowej 100% w skali międzynarodowej (*IS*) przy pomocy oprogramowania GeneXpert.

Każdy test Xpert BCR-ABL Ultra zawiera dwie kontrole — kontrolę endogenną ABL i kontrolę sondy (PCC). Kontrola endogenna ABL normalizuje wartość docelową BCR-ABL i umożliwia upewnienie się, że do wykonania badania użyto odpowiedniej ilości próbki. Kontrola PCC weryfikuje nawadnianie odczynników, napełnienie probówki 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 (GXBCRABL-10) zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek lub próbek kontroli jakości.

<b>Xpert BCR-ABL Ultra Odczynniki</b>	<b>po 10 na zestaw</b>
• Proteinaza K (PK)	10 × 130 µl na fiolkę
• Odczynnik do lizy (LY) (chlorek guanidyny)	10 × 5,3 ml na fiolkę
• Odczynnik do przemywania (1)	10 × 2,9 ml na ampułkę
• Etanol	
• Tiocyjanian guanidyny	
<b>Xpert BCR-ABL Ultra Kartridże testu ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi</b>	<b>10 na zestaw</b>
• Kulki 1, 2, 3 i 4 (liofilizowane)	Po 1 na kartridż
• Odczynnik do płukania	2,0 ml na kartridż
• Odczynnik do elucji	2,5 ml na kartridż

**Płyta CD** **1 na zestaw**

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

Świadectwo analizy 1 na zestaw

**Uwaga** Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej [www.cephid.com](http://www.cephid.com) lub [www.cephidinternational.com](http://www.cephidinternational.com) w karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

**Uwaga** Albumina surowicy bydlęcej (BSA) zawarta w kulkach w tym produkcie 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.

## 6.2 Materiały wymagane, ale nie dostarczone

- Aparat GeneXpert Dx lub system GeneXpert Infinity (numer katalogowy zależy od konfiguracji): Aparat GeneXpert, komputer, skaner kodów kreskowych i instrukcja obsługi.
- W wypadku systemu GeneXpert Dx: oprogramowanie GeneXpert Dx w wersji 5.1 lub nowszej
- W przypadku systemów GeneXpert Infinity-80 i Infinity-48s: oprogramowanie Xpertise w wersji 6.6 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

## 6.3 Materiały zalecane, ale niedostarczone

Xpert BCR-ABL IS Panel C130, numer katalogowy C130, kontrola jakości firmy Maine Molecular Quality Controls, Inc.

## 7 Przechowywanie i obsługa

- Składniki zestawu Xpert BCR-ABL Ultra 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 odczynnik 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 Prevention<sup>12</sup> oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.<sup>13</sup>

Przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i obsługi próbek biologicznych.

Charakterystyka wydajności tego testu została ustalona wyłącznie dla krwi pobranej do probówek zawierających EDTA. Nie oceniono skuteczności tego testu z innymi rodzajami próbek.

Wiarygodne wyniki zależą od odpowiedniego pobierania, transportowania, przechowywania i przetwarzania próbek. Nieprawidłowe wyniki testu mogą wynikać z niewłaściwego pobierania, obchodzenia się lub przechowywania próbek, błędu technicznego, pomieszczenia próbek lub dlatego, że stężenie transkrypty docelowego w próbce jest poniżej granicy wykrywalności testu. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w ulotce informacyjnej oraz *GeneXpert Dx System Operator Manual* i *GeneXpert Infinity System Operator Manual* pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.

Użycie testu 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 użyte 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, wówczas próbki biologiczne i użyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.<sup>14</sup>

## 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 innymi odczynnikami.

Nie wolno otwierać pokrywy kartridża testu Xpert BCR-ABL Ultra 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.

Zaleca się, aby przed rozpoczęciem badań kartridże testu Xpert BCR-ABL Ultra osiągnęły temperaturę pokojową (20–30 °C).

Każdy jednorazowy kartridż testu Xpert BCR-ABL Ultra 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, jeśli odczynnik został dodany do niewłaściwego otworu.

Nie wolno otwierać kartridża testu Xpert BCR-ABL Ultra po zakończeniu badania.

Nadmiernie wysoka liczba krwinek białych może spowodować wzrost ciśnienia w kartridżu i prowadzić do przerwania analizy.


Należy przygotować zestaw pipet i odczynników wyłącznie do przygotowania próbek.

Stosować czyste fartuchy laboratoryjne i rękawiczki. Zmieniać rękawiczki między obsługą każdej próbki.

W przypadku rozlania próbek lub kontroli należy założyć rękawice i usunąć rozlaną substancję za pomocą papierowych ręczników. Następnie należy dokładnie wyczyścić zanieczyszczony obszar przy pomocy świeżo przygotowanego roztworu rozcieńczonego w stosunku 1:10 wybielacza chlorowego. Ostateczne stężenie aktywnego chloru powinno wynosić 0,5%, niezależnie od stężenia wybielacza w danym kraju. Czas kontaktu powinien wynosić co najmniej dwie minuty. Upewnić się, że obszar roboczy jest suchy, a następnie usunąć pozostałości wybielacza za pomocą 70% roztworu denaturowanego etanolu. Przed kontynuowaniem pracy należy poczekać, aż powierzchnia całkowicie wyschnie. Ewentualnie można postępować zgodnie z obowiązującymi w instytucji standardowymi procedurami dotyczącymi zanieczyszczenia lub rozlania substancji. W przypadku sprzętu należy postępować zgodnie z zaleceniami producenta dotyczącymi dekontaminacji sprzętu.

## 9 Zagrożenia chemiczne<sup>15,16</sup>

**Uwaga** Poniższe informacje dotyczą całego produktu zawierającego proteinazę K oraz odczynniki do lizy, przemywania i płukania.

- Piktogramy GHS ONZ określające rodzaj zagrożenia: 
- Hasło ostrzegawcze: NIEBEZPIECZEŃSTWO
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące rodzaj zagrożenia**
  - Działa szkodliwie po połknięciu
  - Wysoce łatwopalna ciecz i pary
  - Działa drażniąco na skórę
  - Powoduje poważne podrażnienia oczu.
  - Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy
  - Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności**
  - **Zapobieganie**
    - Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
    - Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.
    - Przechowywać z dala od źródeł ciepła, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i/lub gorących powierzchni. Palenie wzbronione.
    - Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty.
    - Unikać wdychania mgły/par/rozpylonej cieczy.
    - Dokładnie umyć po użyciu.
    - Stosować wyłącznie na zewnątrz lub w dobrze wentylowanym pomieszczeniu.
    - Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
    - Stosować wymagane środki ochrony indywidualnej.
  - **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 z lekarzem.
    - W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznicem.
    - Zastosować określone leczenie (patrz informacje uzupełniające dotyczące pierwszej pomocy).
    - Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.
    - W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

- W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.
- W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
- W PRZYPADKU narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
- **Przechowywanie/usuwanie**
  - Przechowywać w chłodnym miejscu.
  - Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty.
  - Przechowywać pod zamknięciem.
  - Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z miejscowymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi przepisami.

## 10 Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek

- Próbkę pełnej krwi powinny być pobierane do probówek z EDTA zgodnie z wytycznymi placówki użytkownika. Podczas badania stabilności próbek, próbki krwi wykazywały stabilność do 72 godzin, jeśli były przechowywane w warunkach chłodniczych ( $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ). Nie należy oddzielać osocza od komórek.
- Właściwe pobieranie, przechowywanie i transportowanie próbek ma krytyczne znaczenie dla skuteczności tego testu. Stabilność próbki w warunkach transportu i przechowywania innych niż wymienione poniżej nie została oceniona pod kątem testu Xpert BCR-ABL Ultra.

## 11 Procedura

### 11.1 Przed rozpoczęciem

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

**Ważne**

**W przypadku używania systemu GeneXpert Dx System badanie należy rozpocząć w ciągu 1 godziny od momentu dodania do kartridża próbki przygotowanej z użyciem odczynnika do próbek. W przypadku używania systemu GeneXpert Infinity System należy rozpocząć badanie i umieścić kartridż na przenośniku w ciągu 15 minut od momentu dodania do kartridża próbki przygotowanej z użyciem odczynnika do próbek. Oprogramowanie Xpertise monitoruje pozostały okres trwałości, tak aby badania zostały wykonane przed upływem jednogodzinnego okresu trwałości w urządzeniu.**

**Ważne**

**Przed przygotowaniem próbki wyjąć kartridż z teksturowego opakowania. (Patrz Sekcja 11.3).**

### 11.2 Przygotowanie próbki

1. Na dno nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml dodać 100  $\mu\text{l}$  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 próbkę w wyrzäsarce 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 próbkę w wyrzäsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
8. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 5 minut.
9. Mieszać próbkę w wyrzäsarce 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.



- Przenieść 1 ml przygotowanego lizatu do nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml.

**Uwaga**

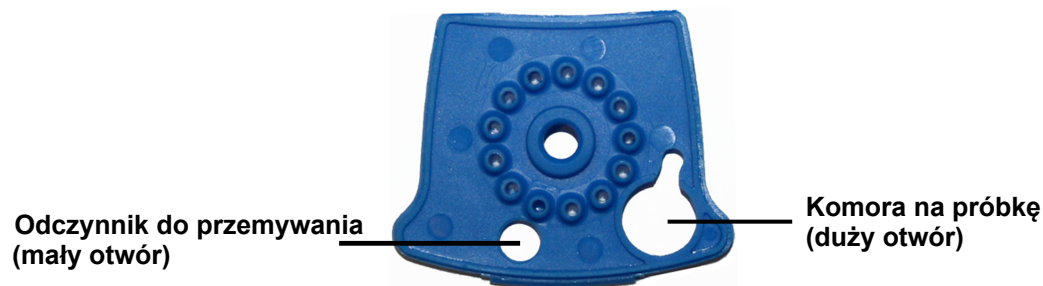
Pozostałość lizatu można przechowywać w temperaturze 2–8 °C przez maksymalnie 4 godziny lub w temperaturze –20 °C lub niższej przez maksymalnie 24 tygodnie.

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

### 11.3 Przygotowywanie kartridża

Aby dodać próbkę do kartridża Xpert BCR-ABL Ultra:

- Wyjąć kartridż z kartonowego opakowania.
- Sprawdzić kartridż pod kątem uszkodzeń. W razie zaobserwowania uszkodzenia nie używać kartridża.
- Otworzyć wieczko kartridża i przenieść całą zawartość ampułki z odczynnikiem do przemywania (1) do komory na próbkę (z małym otworem). Patrz Ilustracja 1.
- Przenieść pipetą całą przygotowaną próbkę do komory na próbkę (duży otwór). Patrz Ilustracja 1.



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

- Zamknąć wieczko kartridża. Upewnić się, że wieczko zostało mocno zatrząsnięte. Rozpocząć badanie (patrz Rozpoczynanie badania).

### 11.4 Rozpoczynanie badania

**Ważne**

Oprogramowanie Xpertise monitoruje pozostały okres trwałości, tak aby badania zostały wykonane przed upływem jednogodzinnego okresu trwałości w urządzeniu.

**Ważne**

W przypadku używania systemu *GeneXpert Dx*, przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że w systemie jest uruchomione oprogramowanie *GeneXpert Dx* w wersji 5.1 lub nowszej oraz że do oprogramowania zaimportowano odpowiedni plik definicji testu. Rozpocząć badanie w ciągu 1 godziny od momentu dodania próbki do kartridża.

**Ważne**

W przypadku używania systemu *GeneXpert Infinity* przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że w systemie jest uruchomione oprogramowanie *Xpertise* w wersji 6.6 lub nowszej oraz że do oprogramowania zaimportowano odpowiedni plik definicji testu. Umieścić kartridż w podajniku w ciągu 15 minut od momentu dodania próbki do kartridża.

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego modelu.

**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®.
  - lub
  - W przypadku używania aparatu *GeneXpert Infinity*, włączyć aparat. Oprogramowanie Xpertise zostanie uruchomione automatycznie. W przeciwnym razie należy dwukrotnie kliknąć ikonę skrótu oprogramowania Xpertise na pulpicie systemu Windows®.
2. Zalogować się do oprogramowania aparatu GeneXpert, podając nazwę użytkownika i hasło.
3. W oknie systemu **GeneXpert** kliknąć polecenie **Nowe badanie (Create Test)** (GeneXpert Dx) lub przycisk **Zlecenia (Orders) i Zleć badanie (Order Test)** (Infinity). 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 kartridża testu. Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym, oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: Wybór testu (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 nie jest dostępny, pojawi się ekran wskazujący, że plik definicji testu 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)** (GeneXpert Dx) lub **Prześlij (Submit)** (Infinity). W razie potrzeby wpisać hasło w wyświetlonym oknie dialogowym.
8. W przypadku systemu *GeneXpert Infinity* umieścić kartridż na taśmie transportowej. Kartridż zostanie załadowany automatycznie, rozpocznie się badanie, a zużyty kartridż zostanie umieszczony w pojemniku na odpady.

lub

W przypadku aparatu *GeneXpert Dx*:

- a) Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną lampką i załadować kartridż.
- b) Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona lampka przestanie migać. Po zakończeniu badania lampka przestanie świecić.
- c) Poczekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu. Wyjąć kartridż.
- d) Wyrzucić zużyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

**Uwaga**

Czas oczekiwania na wynik wynosi mniej niż 2,5 godziny (potrzeba około 30 minut na przygotowywanie próbki poza urządzeniem oraz 1 godziny i 45 minut na wykonanie badania).

## 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 *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego modelu.

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 kartridż 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 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

Wyniki są interpretowane automatycznie przez system GeneXpert na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji i wbudowanych algorytmów obliczeniowych, a następnie czytelnie wyświetlane w oknie Wyświetlanie wyników (View Results). Możliwe wyniki i interpretacje są przedstawione w Tabeli 1.

Tabela 1. Wyniki testu Xpert BCR-ABL Ultra i ich interpretacja

Wynik	Interpretacja
<p><b>DODATNI (POSITIVE)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 2, Ilustracja 3, Ilustracja 4</p>	<p>Transkrypt BCR-ABL został wykryty.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• BCR-ABL DODATNI (POSITIVE) – został wykryty transkrypt BCR-ABL, którego wartość cyklu progowego (Ct) mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej wartości progowej.</li> <li>• Możliwe wyniki dodatnie: <ul style="list-style-type: none"> <li>• DODATNI [#,##% (IS) i MR#,##] (POSITIVE [#,##% (IS) and MR#,##]); Ilustracja 2.</li> <li>• DODATNI [powyżej górnej granicy liniowości oznaczenia ilościowego] (POSITIVE [Above upper LoQ]); Ilustracja 3.</li> <li>• DODATNI [poniżej granicy wykrywalności; &gt; MR4,52/&lt; 0,003% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; &gt;MR4.52/&lt;0.003% (IS)]); Ilustracja 4.</li> </ul> </li> <li>• ABL POWODZENIE (ABL PASS) – został wykryty transkrypt ABL, którego wartość cyklu progowego (Ct) mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej wartości progowej.</li> <li>• Jeśli wartość Ct ABL wynosi mniej niż 18, w reakcji było obecnych co najmniej 32 000 kopii ABL.<sup>17,18</sup></li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<p><b>UJEMNY (NEGATIVE)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 5.</p>	<p>Transkrypt BCR-ABL nie został wykryty.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• BCR-ABL — UJEMNY [dostateczny transkrypt ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript]): transkrypt BCR-ABL nie został wykryty, a jego wartość cyklu progowego (Ct) mieści się powyżej prawidłowego cyklu progowego.</li> <li>• ABL — POWODZENIE (PASS): został wykryty transkrypt ABL, którego wartość cyklu progowego (Ct) mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej wartości progowej</li> <li>• Jeśli wartość Ct ABL wynosi mniej niż 18, w reakcji było obecnych co najmniej 32 000 kopii ABL.<sup>17,18</sup></li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<p><b>WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 6.</p>	<p>Nie można określić stężenia transkryptów BCR-ABL.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• NIEWAŻNY (INVALID): nie można określić poziomu transkryptów BCR-ABL, ponieważ próbka zawiera zbyt wiele transkryptów BCR-ABL i/lub ABL. Dodatkowe instrukcje dotyczące powtórzenia badania próbki zawiera Sekcja 17.</li> <li>• ABL — NIEPOWODZENIE (FAIL): wartość cyklu progowego (Ct) ABL nie mieściła się w prawidłowym zakresie lub punkt końcowy znajdował się poniżej wartości progowej. Dodatkowe instrukcje dotyczące powtórzenia badania próbki zawiera Sekcja 17.</li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<p><b>BŁĄD (ERROR)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 7.</p>	<p>Nie można określić stężenia transkryptów BCR-ABL. Dodatkowe instrukcje dotyczące powtórzenia badania próbki zawiera Sekcja 17.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• BCR-ABL — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• ABL — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• Kontrola sondy — NIEPOWODZENIE (FAIL): wszystkie lub jeden wynik kontroli sondy był nieważny.</li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS) lub NIE DOTYCZY (NA) i Błąd ciśnienia (Pressure Abort).</li> </ul> <p>Jeśli kontrola sondy zakończyła się powodzeniem lub uzyskano wynik NIE DOTYCZY (NA), błąd został spowodowany wartością graniczną ciśnienia maksymalnego będącą poza dopuszczalnym zakresem lub awarią elementu systemu.</p>

Wynik	Interpretacja
<b>BRAK WYNIKU (NO RESULT)</b>	<p>Nie można określić stężenia transkryptów BCR-ABL. Nie można uzyskać wyniku badania z powodu zgromadzenia niewystarczających danych. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku. Dodatkowe instrukcje dotyczące powtórzenia badania próbki zawiera Sekcja 17.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• BCR-ABL — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• ABL — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• Kontrola sondy — NIE DOTYCZY (NA)</li> </ul>

#### 14.1 DODATNI [#,##% (IS) i MR#,##] (POSITIVE [#,##% (IS) and MR#,##])

Wykryto BCR-ABL na poziomie #,##% (IS) i MR#,##.

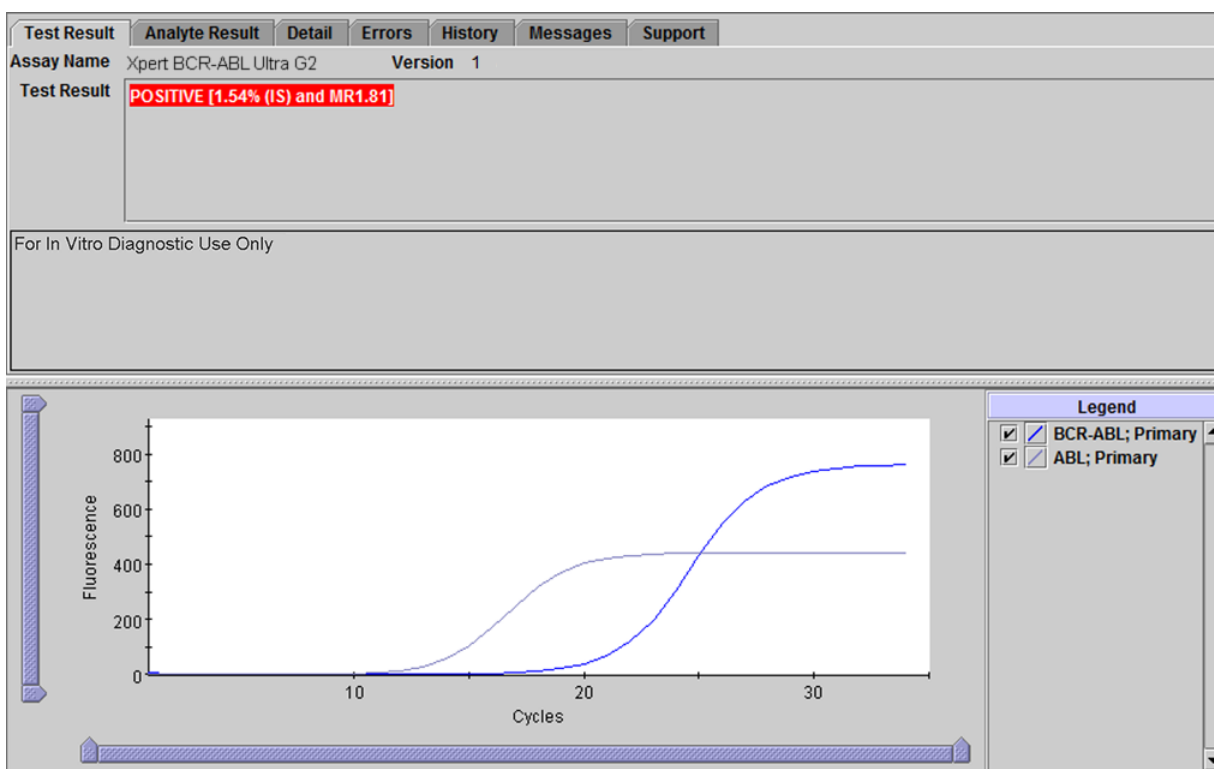
W przypadku wyniku **DODATNI [#,##% (IS) i MR#,##] (POSITIVE [#,##% (IS) and MR#,##])** BCR-ABL jest wykrywalny z wartością Ct BCR-ABL większą niż lub równą „8” i mniejszą niż lub równą wartości odcięcia „32” oraz z wartością Ct ABL większą niż lub równą „8” i mniejszą niż lub równą „18”. Oprogramowanie GeneXpert oblicza wartość % (IS) na podstawie poniższego równania, gdzie wartość Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) jest równa wartości Ct ABL minus wartość Ct BCR-ABL:

$$\% (IS) = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{współczynnik skalowania} (SF)$$

**Uwaga** Współczynnik skalowania (SF) to właściwy dla serii parametr, który jest zawarty w kodzie kreskowym kartridża testu. Wartość tego współczynnika oraz właściwa dla serii skuteczność testu ( $E_{\Delta Ct}$ ) są określane podczas badań w ramach kontroli jakości każdej serii testów przy pomocy standardów dodatkowych opracowanych na podstawie międzynarodowego genetycznego panelu referencyjnego do pomiaru ilościowego transkryptów BCR-ABL Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO).<sup>7</sup> Łącznie standardy dodatkowe oraz właściwe dla serii wartości  $E_{\Delta Ct}$  i SF umożliwiają odniesienie ilościowego wyniku testu do skali IS. Wartość  $E_{\Delta Ct}$  została ustawiona na 1,92, a wartość SF została ustawiona na 1,22 na potrzeby przedstawionego przykładu.

**Przykład:** Właściwa dla serii wartość  $E_{\Delta Ct} = 1,92$ ;  $SF = 1,22$   
Wartość Ct ABL testu = 11,3; Ct BCR-ABL = 18,0 ;  $\Delta Ct = -6,7$   
 $\% (IS) = 1,92^{(-6,7)} \times 100 \times 1,22 = 1,54\% (IS)$   
 $MR_{x,xx} = \log_{10}[100/\text{określona wartość } \% (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(1,54) = 2 - \log_{10}(1,54) = MR1,81.$

Wynik: **DODATNI [1,54% (IS) i MR1,81] (POSITIVE [1.54% (IS) and MR1.81])**. Patrz Ilustracja 2.



Ilustracja 2. Okno Wyświetlanie wyników (View Results) systemu GeneXpert  
Dx: DODATNI [1,54% (IS) i MR1,81] (POSITIVE [1.54% (IS) and MR1.81])

## 14.2 DODATNI [powyżej górnej granicy liniowości oznaczenia ilościowego] (POSITIVE [Above upper LoQ])

Wykryto BCR-ABL na poziomie  $>55\%$  (IS) i  $<MR0,26$ .

W przypadku wyniku **DODATNI [powyżej górnej granicy liniowości oznaczenia ilościowego] (POSITIVE [Above upper LoQ])** BCR-ABL jest wykrywalny z wartością Ct BCR-ABL 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”. Oprogramowanie GeneXpert oblicza wartość % (IS) na podstawie poniższego równania, gdzie wartość Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) jest równa wartości Ct ABL minus wartość Ct BCR-ABL:

$$\% (IS) = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{współczynnik skalowania} (SF)$$

Współczynnik skalowania ( $SF$ ) to właściwy dla serii parametr, który jest zawarty w kodzie kreskowym kartridża testu. Wartość tego współczynnika oraz właściwa dla serii skuteczność testu ( $E_{\Delta Ct}$ ) są określane podczas badań w ramach kontroli jakości każdej serii testów przy pomocy standardów dodatkowych opracowanych na podstawie międzynarodowego genetycznego panelu referencyjnego do pomiaru ilościowego transkryptów BCR-ABL Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO).<sup>7</sup> Łącznie standardy dodatkowe oraz właściwe dla serii wartości  $E_{\Delta Ct}$  i  $SF$  umożliwiają odniesienie ilościowego wyniku testu do skali IS. Wartość  $E_{\Delta Ct}$  została ustawiona na 1,92, a wartość  $SF$  została ustawiona na 1,10 na potrzeby przedstawionego przykładu.

### Uwaga

#### Przykład:

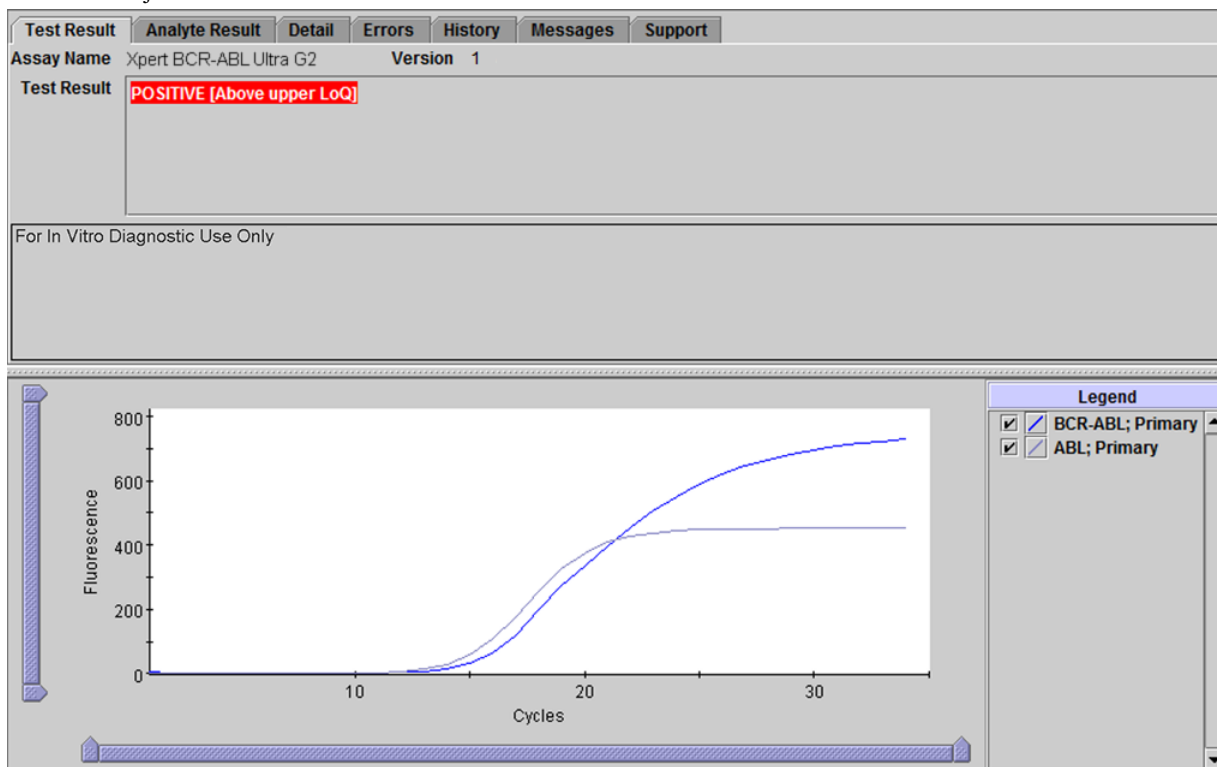
Właściwa dla serii wartość  $E_{\Delta Ct} = 1,92$ ;  $SF = 1,10$

Wartość Ct ABL testu = 13,4; Ct BCR-ABL = 14,2 ;  $\Delta Ct = -0,8$

$\% (IS) = 1,92^{(-0,8)} \times 100 \times 1,10 = 65\%$  wynosi więcej niż zdefiniowana górna granica liniowości oznaczenia ilościowego testu wynosząca 55% (IS)

$MRx,xx = \log_{10}[100/\text{określona wartość } \% (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(65) = 2 - \log_{10}(65)$   
= MR0,19 wynosi mniej niż zdefiniowana górna granica liniowości oznaczenia ilościowego testu wynosząca MR0,26.

Wynik: **DODATNI** [powyżej górnej granicy liniowości oznaczenia ilościowego] (**POSITIVE** [Above upper LoQ]).  
 Patrz Ilustracja 3.



**Ilustracja 3. Okno Wyświetlanie wyników (View Results) systemu GeneXpert Dx: DODATNI [powyżej górnej granicy liniowości oznaczenia ilościowego] (POSITIVE [Above upper LoQ])**

### 14.3 DODATNI [poniżej granicy wykrywalności; MR4,52/0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])

Wykryto BCR-ABL na poziomie <0.0030% (IS) and >MR4,52.

W przypadku wyniku **DODATNI [poniżej granicy wykrywalności; MR4,52/0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])** BCR-ABL jest wykrywalny z wartością Ct BCR-ABL 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”. Oprogramowanie GeneXpert oblicza wartość % (IS) na podstawie poniższego równania, gdzie wartość Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) jest równa wartości Ct ABL minus wartość Ct BCR-ABL

$$\% (IS) = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{współczynnik skalowania} (SF)$$

Współczynnik skalowania (SF) to właściwy dla serii parametr, który jest zawarty w kodzie kreskowym kartridża testu. Wartość tego współczynnika oraz właściwa dla serii skuteczność testu ( $E_{\Delta Ct}$ ) są określane podczas badań w ramach kontroli jakości każdej serii testów przy pomocy standardów dodatkowych opracowanych na podstawie międzynarodowego genetycznego panelu referencyjnego do pomiaru ilościowego transkryptów BCR-ABL Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO).<sup>7</sup> Łącznie standardy dodatkowe oraz właściwe dla serii wartości  $E_{\Delta Ct}$  i SF umożliwiają odniesienie ilościowego wyniku testu do skali IS. Wartość  $E_{\Delta Ct}$  została ustawiona na 1,91, a wartość SF została ustawiona na 1,14 na potrzeby przedstawionego przykładu.

#### Uwaga

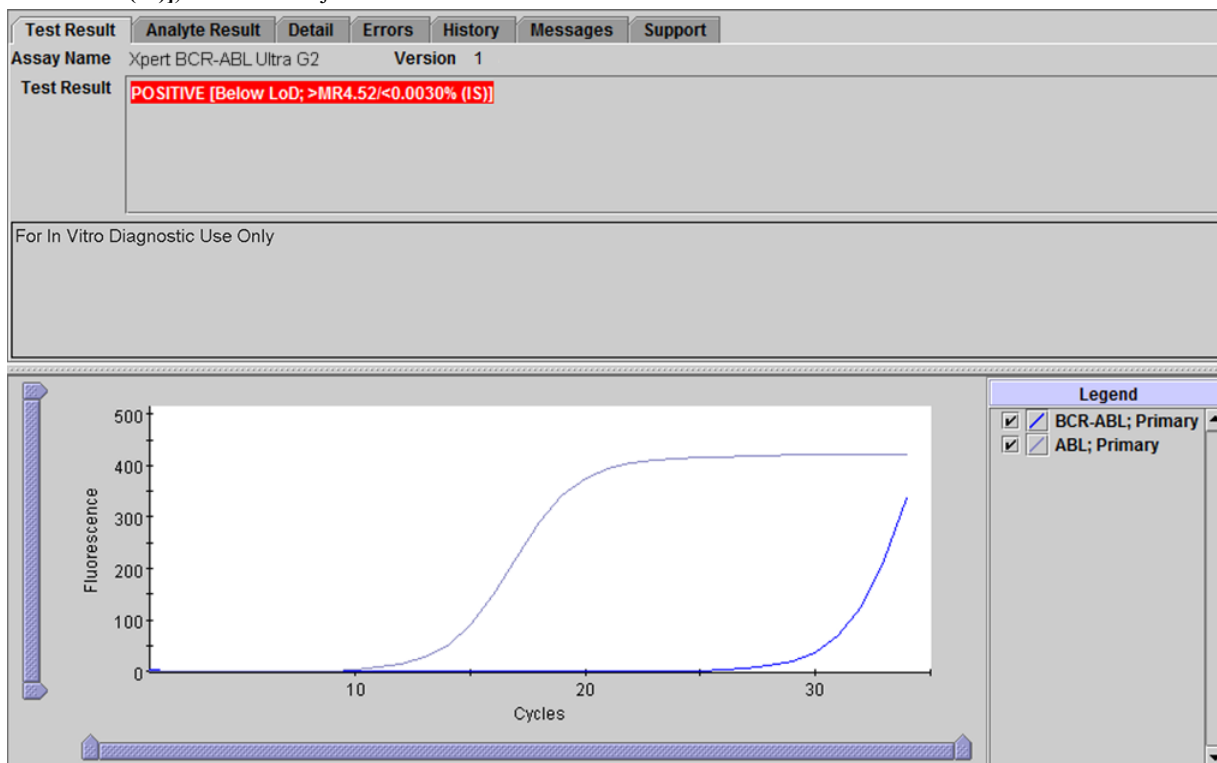
**Przykład:** Właściwa dla serii wartość  $E_{\Delta Ct} = 1,91$ ;  $SF = 1,14$

Wartość Ct ABL testu = 12,5; Ct BCR-ABL = 29 ;  $\Delta Ct = -16,6$

$\% (IS) = 1,91^{(-16,6)} \times 100 \times 1,14 = 0,0025\%$  wynosi mniej niż zdefiniowana granica wykrywalności testu wynosząca 0,0030% (IS)

$MR_{x,x} = \log_{10}[100/\text{określona wartość } \% (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(0,0025) = 2 - \log_{10}(0,0025) = MR_{4,60}$  wynosi więcej niż zdefiniowana granica wykrywalności testu wynosząca MR4,52.

Wynik: DODATNI [poniżej granicy wykrywalności; MR4,52/0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)]). Patrz Ilustracja 4.



Ilustracja 4. Okno Wyświetlanie wyników (View Results) systemu GeneXpert Dx: DODATNI [poniżej granicy wykrywalności; MR4,52/0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])

#### 14.4 UJEMNY [dostateczny transkrypt ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])

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

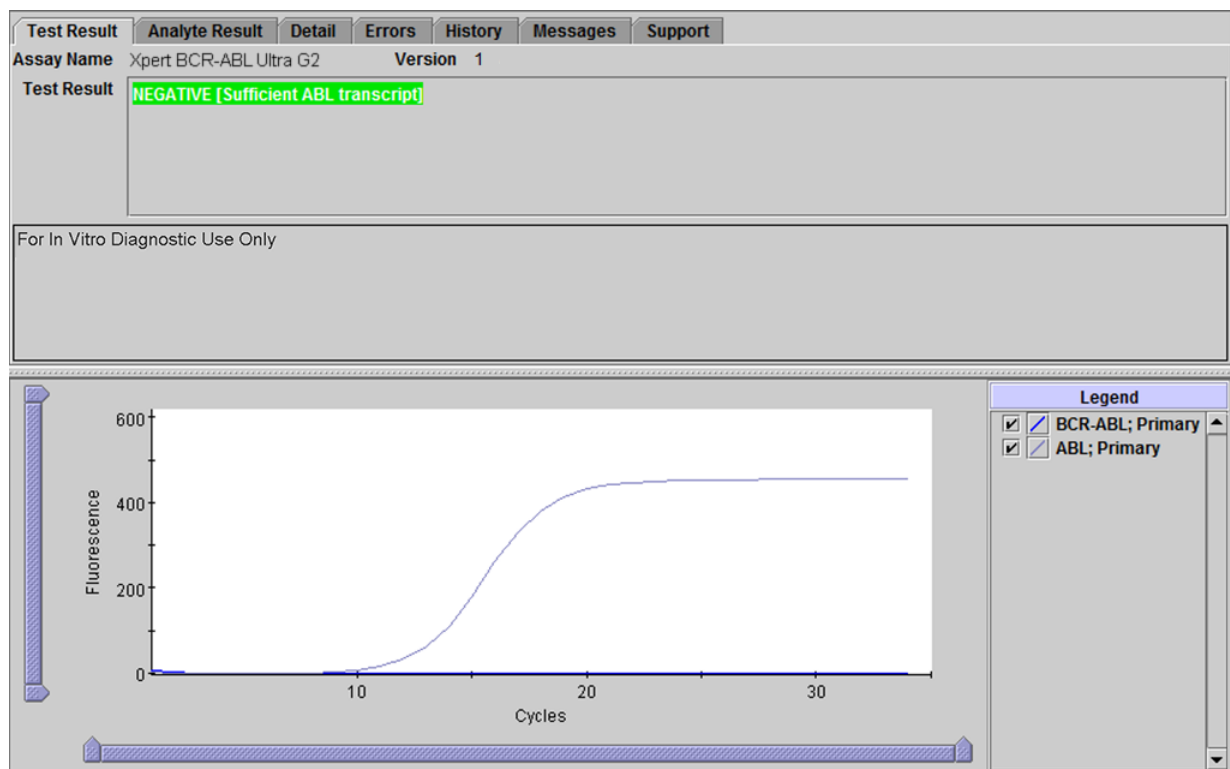
Jeśli nie można wykryć BCR-ABL z wartością Ct BCR-ABL równą „0” lub większą niż wartość odcięcia „32”, oprogramowanie GeneXpert najpierw sprawdza wartość Ct ABL w celu określenia, czy wartość Ct ABL jest większa niż lub równa „8” oraz mniejsza niż lub równa „18”, aby potwierdzić wynik „Dostateczny transkrypt ABL (Sufficient ABL transcript)”. Patrz Tabela 1.

##### Przykład:

Wartość Ct BCR-ABL testu = 0; Ct ABL = 11,3 jest mniejsza niż „18”.

Wynik: UJEMNY [dostateczny transkrypt ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript]). Patrz Ilustracja 5.





Ilustracja 5. Okno Wyświetlanie wyników (View Results) systemu GeneXpert Dx: UJEMNY [dostateczny transkrypt ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])

## 14.5 NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

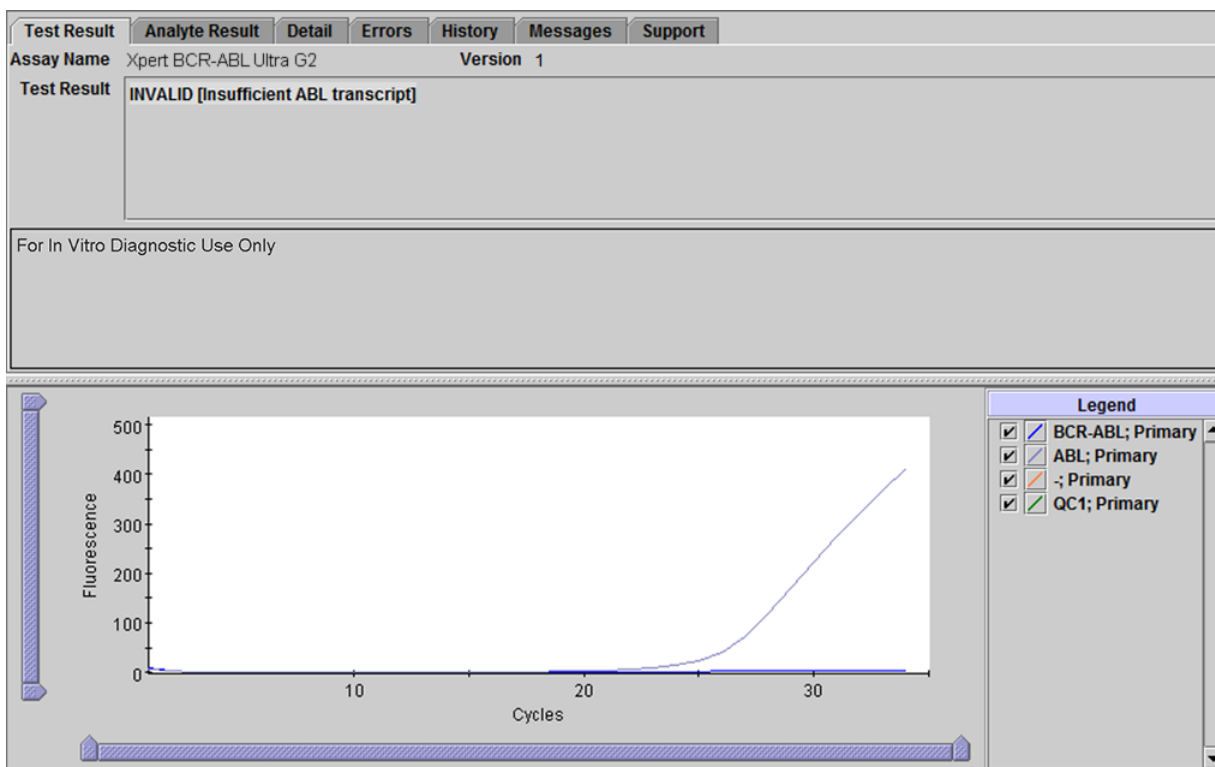
Transkrypt BCR-ABL został wykryty lub nie został wykryty w przypadku wartości Ct ABL większej niż „18”.

W przypadku gdy transkrypt BCR-ABL 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 17.

### Przykład:

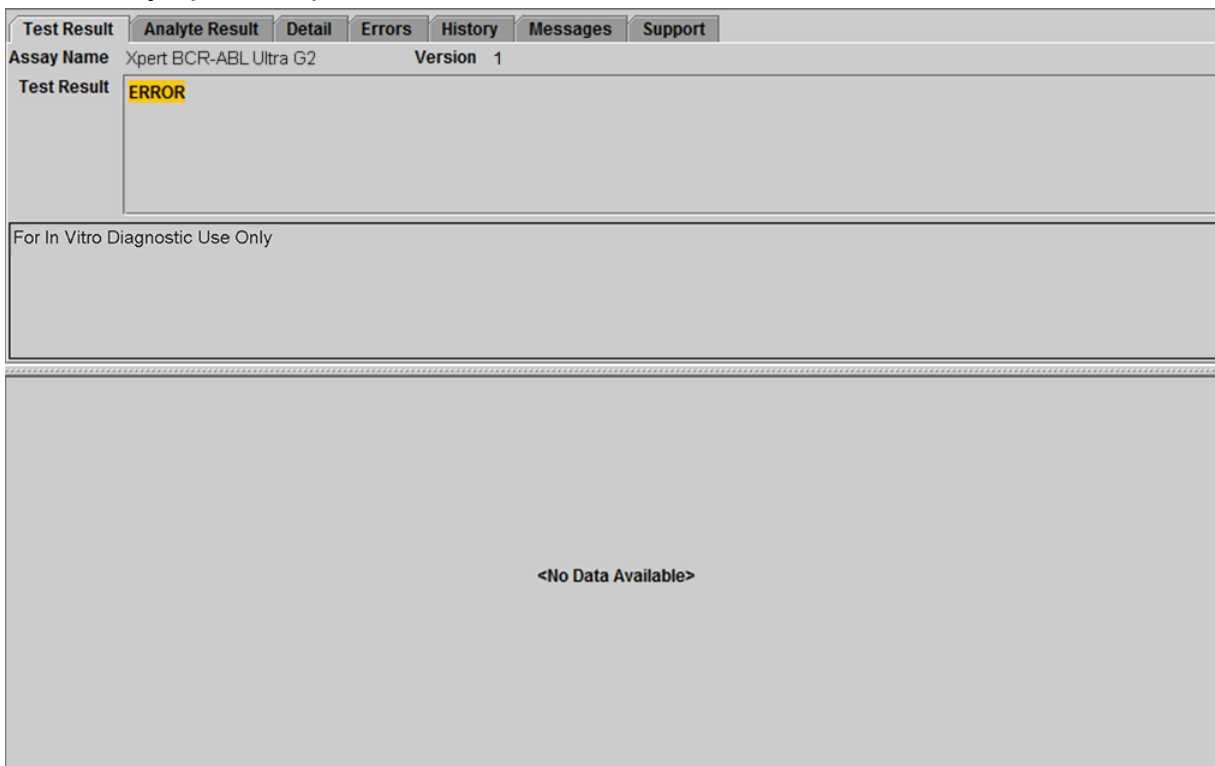
wartość Ct BCR-ABL testu = 0; wartość Ct ABL = 24 jest większa niż „18”.

Wynik: NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript]). Patrz Ilustracja 6.



Ilustracja 6. Okno Wyświetlanie wyników (View Results) systemu GeneXpert Dx: NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

## 14.6 BŁĄD (ERROR)



Ilustracja 7. Okno Wyświetlanie wyników (View Results) systemu GeneXpert Dx: BŁĄD (ERROR)

## 15 Wyniki ilościowe

Z każdym zestawem testu Xpert BCR-ABL Ultra jest dostarczane świadectwo analizy zawierające właściwą dla serii krzywą wzorcową dla zestawu Xpert BCR-ABL Ultra oraz wartość skuteczności ( $E_{ACT}$ ). Wartość efektywności jest zawarta w kodzie kreskowym kartridża Xpert BCR-ABL Ultra. Szczegółowe obliczenia wartości skuteczności można znaleźć w certyfikacie analizy. Każda seria zestawów zawiera również właściwy dla serii współczynnik skalowania ( $SF$ ) zawarty w kodzie kreskowym, który umożliwia odniesienie wyniku ilościowego testu do skali międzynarodowej ( $IS$ ).<sup>7</sup> Wyniki badania są przedstawiane z wynikiem ilościowym testu w postaci skali % ( $IS$ ) oraz odpowiedzi molekularnej ( $MR$ ) (patrz Tabela 2 i Tabela 3). Te wartości ilościowe należy interpretować w kontekście precyzji testu Xpert BCR-ABL (patrz punkt Sekcja 22, Precyzja i odtwarzalność).

**Tabela 2. Korelacja redukcji logarytmicznej, skali międzynarodowej ( $IS$ ) i odpowiedzi molekularnej ( $MR$ )**

Redukcja logarytmiczna wartości % BCR-ABL/ABL ( $IS$ )	MR	% BCR-ABL/ABL ( $IS$ ) <sup>a</sup>
0	0	100
1	1	10
2	2	1
3	3	0,1
4	4	0,01
4,5	4,5	0,0032
5	5	0,001

<sup>a</sup> % BCR-ABL/ABL ( $IS$ ) = % ( $IS$ ).

$MR_{xx,x} = \log_{10}[100/\text{określona wartość \% } (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}[\text{określona wartość \% } (IS)] = 2 - \log_{10}[\text{określona wartość \% } (IS)]$

**Tabela 3. Przykładowe wyniki testu Xpert BCR-ABL Ultra**

Test	BCR-ABL		ABL		Xpert BCR-ABL Ultra Wynik testu	Uwagi
	Ct	Wynik	Ct	Wynik		
1	7,1	WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)	7,3	NIEPOWODZENIE (FAIL)	NIEWAŻNY [zbyt wysokie transkrypty BCR-ABL i ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL and ABL transcripts])	Obliczona wartość %: 149,92%
2	8,1	WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)	7,9	NIEPOWODZENIE (FAIL)	NIEWAŻNY [zbyt wysoki transkrypt ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])	Obliczona wartość %: 121,05%
3	7,9	WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)	8,1	POWODZENIE (PASS)	NIEWAŻNY [zbyt wysoki transkrypt BCR-ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL transcript])	Obliczona wartość %: 149,92%
4	11,4	WYNIK DODATNI (POS)	10,9	POWODZENIE (PASS)	DODATNI [powyżej górnej granicy liniowości oznaczenia ilościowego] (POSITIVE [Above upper LoQ])	Obliczona wartość %: 78,92%
5	18,2	WYNIK DODATNI (POS)	13,5	POWODZENIE (PASS)	DODATNI [33,93% ( $IS$ ) i MR0,47] (POSITIVE [33.93% ( $IS$ ) and MR0.47])	Obliczona wartość %: 33,93%

Test	BCR-ABL		ABL		Xpert BCR-ABL Ultra Wynik testu	Uwagi
	Ct	Wynik	Ct	Wynik		
6	21,4	WYNIK DODATNI (POS)	13,4	POWODZENIE (PASS)	DODATNI [4,68% (IS) i MR1,33] (POSITIVE [4.68% (IS) and MR1.33])	Obliczona wartość %: 4,68%
7	28,6	WYNIK DODATNI (POS)	15,2	POWODZENIE (PASS)	DODATNI [0,012% (IS) i MR3,92] (POSITIVE [0.012% (IS) and MR3.92])	Obliczona wartość %: 0,012%
8	30,0	WYNIK DODATNI (POS)	12,7	POWODZENIE (PASS)	DODATNI [poniżej granicy wykrywalności; MR4,52/0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])	Obliczona wartość %: 0,008%
9	0	WYNIK UJEMNY (NEG)	13,3	POWODZENIE (PASS)	UJEMNY [dostateczny transkrypt ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	0%
10	31,6	WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)	18,2	NIEPOWODZENIE (FAIL)	NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	ND.
11	0	WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)	18,6	NIEPOWODZENIE (FAIL)	NIEWAŻNY [niedostateczny transkrypt ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	ND.
12	0	WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)	0	NIEPOWODZENIE (FAIL)	NIEWAŻNY [brak transkryptu ABL] (INVALID [No ABL transcript])	ND.
13	0	BRAK WYNIKU (NO RESULT)	0	BRAK WYNIKU (NO RESULT)	BŁĄD (ERROR)	Na przykład błąd 5017: niepowodzenie kontroli sondy [ABL]

## 16 Ograniczenia testu

- Produkt jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- Test nie jest przeznaczony do stosowania z zewnętrznymi kalibratorami.
- Precyzja testu nie została wykazana ani nie jest zapewniona poniżej MR4.5.
- Test nie jest wskazany do określania, czy należy przerwać leczenie TKI ani do monitorowania pacjenta po przerwaniu leczenia.
- Skuteczność testu Xpert BCR-ABL Ultra weryfikowano wyłącznie za pomocą procedur opisanych w niniejszej ulotce informacyjnej. Modyfikacja tych procedur może wpłynąć na skuteczność 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 (NaCitrate), kożuszek leukocyтарно-пłytkowy ani szpik kostny.
- Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem, obsługą lub przechowywaniem próbki bądź wymieszaniem próbek. Ważne przestrzeganie instrukcji zawartych w niniejszej ulotce informacyjnej pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra jest przeznaczony wyłącznie do wykrywania, ale nie rozróżniania, transkryptów fuzyjnych p210 BCR-ABL e13a2/b2a2 i e14a2/b3a2. Nie oceniono możliwości wykrywania transkryptów fuzyjnych innych niż opisane w niniejszej instrukcji użycia. Test nie wykrywa mniejszych lub mikrotranslokacji, mikrodelekcji ani mutacji.
- Xpert BCR-ABL Ultra nie jest przeznaczony do wykrywania e1a2 (p190), e19a2 (p230) ani innych mniejszych translokacji, które mogą być obecne w próbce krwi obwodowej pochodzącej od pacjenta z białaczką.
- Xpert BCR-ABL Ultra nie wykrywa zaburzonych transkryptów fuzyjnych e13a2/b2a2, w których fragmenty sekwencji obok punktu odcięcia są usuwane.

- W przypadku niektórych próbek o bardzo dużej liczbie krwinek białych (powyżej 30 milionów komórek/ml) Xpert BCR-ABL Ultra może zgłaszać wyniki **NIEWAŻNY (INVALID)** (typ 2) z powodu nadmiernych poziomów BCR-ABL lub ABL w próbce. Dodatkowe informacje zawiera Tabela 4.
- 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 (0,0030% (IS)/MR4,52), 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.
- Wyniki testu Xpert BCR-ABL Ultra powinny być wykorzystywane w połączeniu z historią pacjenta, w tym informacjami klinicznymi i laboratoryjnymi, zgodnie z wytycznymi NCCN, ELN i ESMO, jeśli te mają zastosowanie, w celu dokonania pełnej interpretacji klinicznej i zarządzania leczeniem pacjenta.
- W przypadku niektórych pacjentów z bardzo niskimi poziomami transkryptu BCR-ABL1 (tj. poniżej granicy wykrywalności 0,0030% (IS) lub powyżej MR4,52) możliwe jest uzyskanie wyniku **UJEMNY [dostateczny transkrypt ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])**. W związku z tym, wynik ujemny nie oznacza braku obecności małych stężeń komórek białaczkowych u pacjenta.
- Test zatwierdzono do użytku w systemie GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI) oraz w systemie GeneXpert Infinity System (Infinity-48s i Infinity-80).

## 17 Rozwiązywanie problemów

Tabela 4. Rozwiązywanie problemów

Wynik badania	Możliwe przyczyny	Wskazówki
<b>WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)</b>	Typ 1: Niepowodzenie kontroli endogennej ABL: <ul style="list-style-type: none"> <li>Niska jakość próbki</li> <li>Hamowanie przebiegu reakcji RT-PCR</li> <li>Jeśli ABL Ct &gt; 18 i/lub punkt końcowy &lt; 200</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sprawdzić jakość próbki (np. czy przestrzegano wymagań dotyczących przechowywania próbki, w tym czasu i temperatury).</li> <li>Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w punkcie 18.1. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1).</li> </ul>
	Typ 2: Nie można określić poziomu transkryptów BCR-ABL, ponieważ próbka zawiera zbyt wiele transkryptów BCR-ABL i/lub ABL (Ct < 8)	Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w punkcie 18.2. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2).
<b>BŁĄD (ERROR) (kod 2008)</b>	Przekroczona wartość graniczna ciśnienia (komunikat o błędzie 2008)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sprawdzić jakość próbki</li> <li>Sprawdzić, czy liczba krwinek białych nie jest znacznie podwyższona.</li> <li>Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w punkcie 18.2. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) (kod 2008) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 2).</li> </ul>
<b>ERROR (kody 5006, 5007, 5008, and 5009<sup>a</sup>)</b>	Niepowodzenie kontroli sondy	Powtórzyć badanie z użyciem oryginalnej próbki (jeśli jest dostępna) lub zachowanego lizatu oraz nowego kartridża, wykonując procedurę opisaną w punkcie 18.1. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1).
<b>BRAK WYNIKU (NO RESULT)</b>	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 punkcie 18.1. Procedura powtórzenia badania w przypadku wyniku BŁĄD (ERROR) lub NIEWAŻNY (INVALID) (typ 1).

<sup>a</sup> Ta lista kodów BŁĄD (ERROR) nie jest kompletna.

## 18 Powtarzanie badań

### 18.1 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 odcięcia Ct ( $Ct > 18$ ) lub punktem końcowym poniżej wartości progowej ( $< 200$ ). Patrz również Tabela 4.

1. 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, „Przygotowanie próbki”.

-LUB-

Jeśli objętość próbki krwi jest *niewystarczająca*, wówczas można powtórzyć badanie z użyciem zachowanego lizatu uzyskanego w Sekcja 11.2, „Przygotowanie próbki”, kroku 12.

- a) Jeśli zachowany lizat uzyskany w Sekcja 11.2, „Przygotowanie próbki”, 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 wytrząsarce 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 przygotowanego 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. Mieszać próbkę w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
  5. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 10 minut.
  6. Do tej samej probówki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego o czystości odczynnika (niedostarczonego).
  7. Mieszać próbkę w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
  8. 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.
  9. Przenieść pipetą całą przygotowaną próbkę do komory na próbkę (duży otwór). Patrz Ilustracja 1.
  10. Zamknij wieczko kartridża. Rozpocząć badanie (patrz Sekcja 11.4).

### 18.2 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 4.

1. Na dno nowej probówki stożkowej o pojemności 50 ml dodać 100 µl proteiny K (PK).
2. 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 4.

-LUB-

Jeśli objętość próbki krwi jest *niewystarczająca*, wówczas można powtórzyć badanie z użyciem zachowanego lizatu uzyskanego w Sekcja 11.2, „Przygotowanie próbki”, kroku 12.

- a) Jeśli zachowany lizat uzyskany w Sekcja 11.2, „Przygotowanie próbki”, 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 wytrząsarce 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 3.
3. Do probówki już zawierającej proteinazę K dodać 50 µl próbki krwi, jeśli jest dostępna, lub 80 µl pozostałości lizatu uzyskanego w kroku Sekcja 11.2, „Przygotowanie próbki”.
    - a) Mieszać próbkę w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 3 sekundy.
    - b) Inkubować w temperaturze pokojowej przez 1 minutę.

4. Do nowej probówki stożkowej zawierającej lizat dodać 2,5 ml odczynnika do lizy (LY).
5. Mieszać próbkę w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
6. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 10 minut.
7. Do tej samej probówki stożkowej dodać 2 ml bezwodnego alkoholu etylowego o czystości odczynnika (niedostarczonego).
8. Mieszać próbkę w wytrząsarce typu Vortex z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 10 sekund.
9. 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.
10. Przenieść pipetą całą przygotowaną próbkę do komory na próbkę (duży otwór). Patrz Ilustracja 1.
11. Zamknij wieczko kartridża. Rozpocząć badanie (patrz Sekcja 11.4).

## 19 Wartości oczekiwane

Zakres Xpert BCR-ABL Ultra obejmuje kluczowe kliniczne punkty decyzji dotyczące monitorowania CML (od MR 1 do 4,5)<sup>5</sup> z ilościowym wykrywaniem mRNA BCR-ABL (transkrypty e13a2/b2a2 lub e14a2/b3a2) i kontrolą endogenną mRNA ABL. Oczekiwane wartości mieszczą się w zakresie Xpert BCR-ABL Ultra od 0,0030 do 55% (IS) (MR4,52 do MR0,26).

## 20 Skuteczność kliniczna

Skuteczność kliniczną Xpert BCR-ABL Ultra oceniono w czterech ośrodkach w Stanach Zjednoczonych w ramach wieloośrodkowego badania klinicznego. W trzech dodatkowych ośrodkach wyłącznie pobierano próbki. Badanie przeprowadzono z użyciem świeżych, prospektywnie pobranych próbek krwi pełnej z EDTA od pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową na dowolnym etapie choroby, po przeprowadzeniu wstępnej diagnozy, którzy byli lub nie byli wcześniej poddawani leczeniu inhibitorami kinazy tyrozynowej lub innemu leczeniu pod kątem przewlekłej białaczki szpikowej. Ponadto badanie obejmowało pozostałości próbek przechowywane w postaci zamrożonych lizatów, które przygotowano z próbek krwi pełnej z EDTA pobranych od tej samej populacji pacjentów. Skuteczność Xpert BCR-ABL Ultra porównano ze skutecznością testu molekularnego dopuszczonego do użytku przez agencję FDA, który umożliwia wykrywanie i pomiar ilościowy transkryptów mRNA typów translokacji p210 (e13a2/b2a2 lub e14a2/b3a2) i wykorzystuje ABL jako transkrypt mRNA kontroli endogennej.

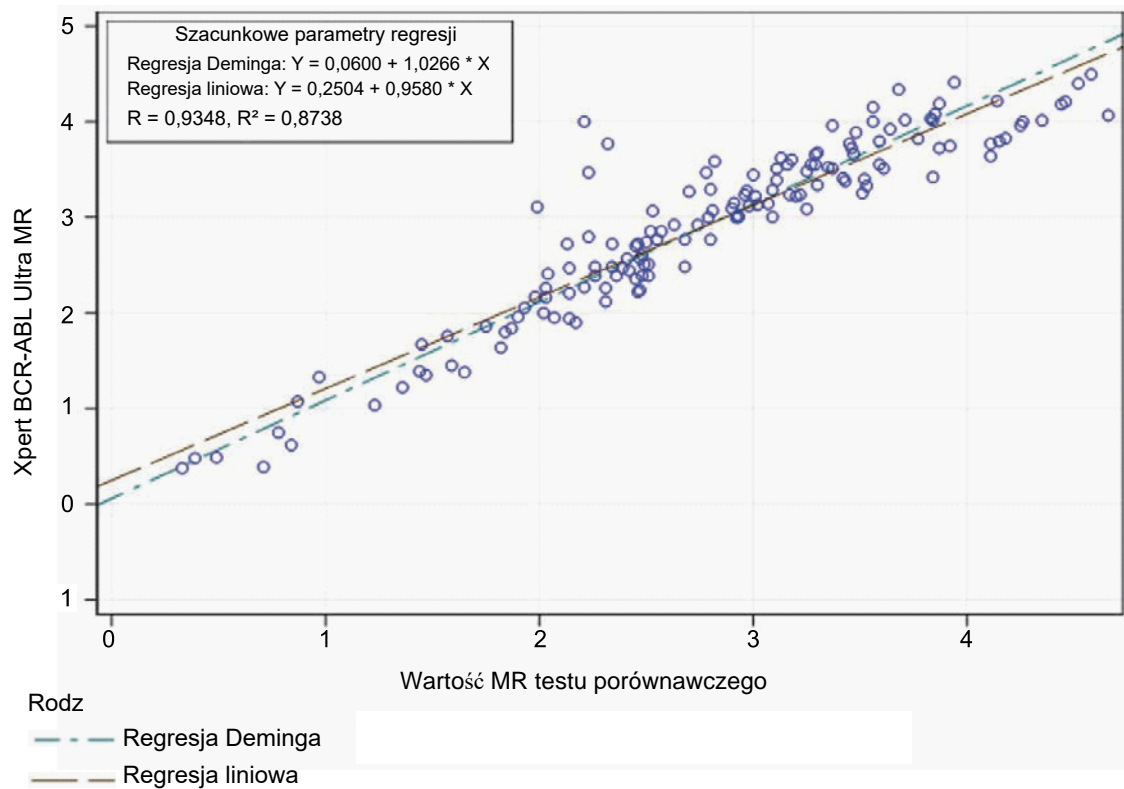
Łącznie 266 zakwalifikowanych próbek początkowo zarejestrowano w badaniu, spośród których 57 wykluczono z uwagi na użycie przestarzałej procedury metody ekstrakcji (27), nieukończenie pobierania krwi przez uczestnika (8), opóźnienie w transporcie lub badaniu (6), objętość niewystarczającą do wykonania badania (6), niepowodzenie testu porównawczego (6) lub wykonanie badania z użyciem niewłaściwego pliku definicji testu Xpert BCR-ABL Ultra (4), co dało 209 przebadanych próbek.

Spółród 209 próbek 97,1% (203/209) badań wykonanych przy pomocy Xpert BCR-ABL Ultra zakończyło się powodzeniem przy pierwszej próbie, co dało wstępną częstotliwość wyników nieokreślonych równą 2,9% (6/209), a 99,5% (208/209) zakończyło się powodzeniem po powtórzeniu badania, co dało końcową częstotliwość wyników nieokreślonych równą 0,5% (1/209).

Spółród 208 próbek dostępnych do analizy 150 (72,1%) stanowiło próbki zamrożonego lizatu, a 58 (27,9%) stanowiło świeże, prospektywnie pobrane próbki, dla których dostępne były dane demograficzne. Spółród świeżych próbek 24 (41,4%) pobrano od kobiet uczestniczących w badaniu, a 34 (58,6%) pobrano od mężczyzn uczestniczących w badaniu. Średni wiek uczestników, od których uzyskano świeże próbki, wynosił 60,5 roku (zakres 28–85 lat).

Spółród 208 wyników dostępnych do analizy 147 miało wyniki w ilościowym zakresie raportowania dla obu testów [0,0030% do 55% (IS)/MR4,52 do MR0,26] w przypadku Xpert BCR-ABL Ultra oraz 0,0020% do 50% (IS)/MR4,72 do MR0,30 w przypadku testu porównawczego]: 117 spośród nich to wyniki dla zamrożonych pozostałości lizatów, a 30 to wyniki dla świeżych, prospektywnie pobranych próbek. Skuteczność Xpert BCR-ABL Ultra w porównaniu ze skutecznością testu porównawczego oceniono z użyciem regresji Deminga w celu określenia nachylenia i punktu przecięcia. Ilustracja 8 przedstawia wyniki analizy regresji Deminga i regresji liniowej dla 147 wyników badań (wartości MR).

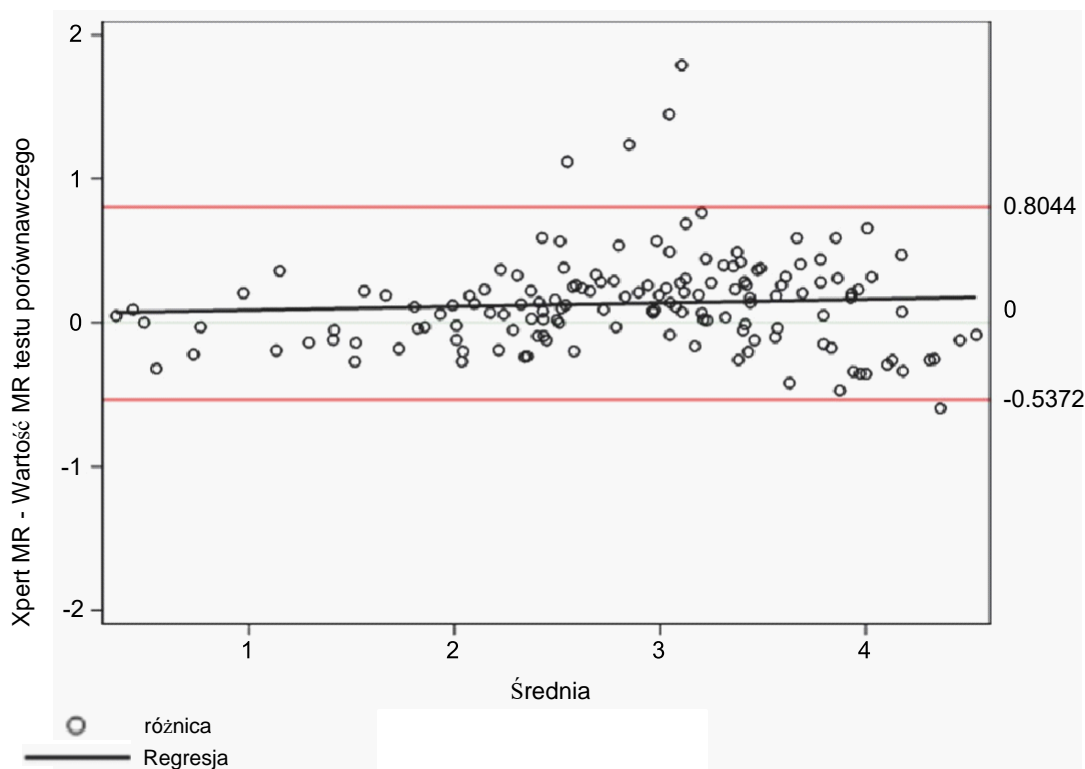




**Ilustracja 8. Analizy regresji Deminga i regresji liniowej**

Nachylenie i punkt przecięcia dla regresji Deminga wyniosły odpowiednio 1,0266 i 0,0600. Przewidywane odchylenie MMR (MR3) obliczone na podstawie tych wyników wyniosło MR0,1244 (95% przedział ufności w zakresie 0,0969–0,1519).

Przeprowadzono również analizę różnicy Blanda-Altmana z użyciem 147 wyników ilościowych będących w zakresie raportowania dla Xpert BCR-ABL Ultra i testu porównawczego. Wykres Blanda-Altmana (patrz Ilustracja 9) przedstawia górne i dolne odchylenie standardowe 2SD dla zaobserwowanej średniej różnicy. Przedstawiono również linię trendu odchylenia w zakresie wartości MR.



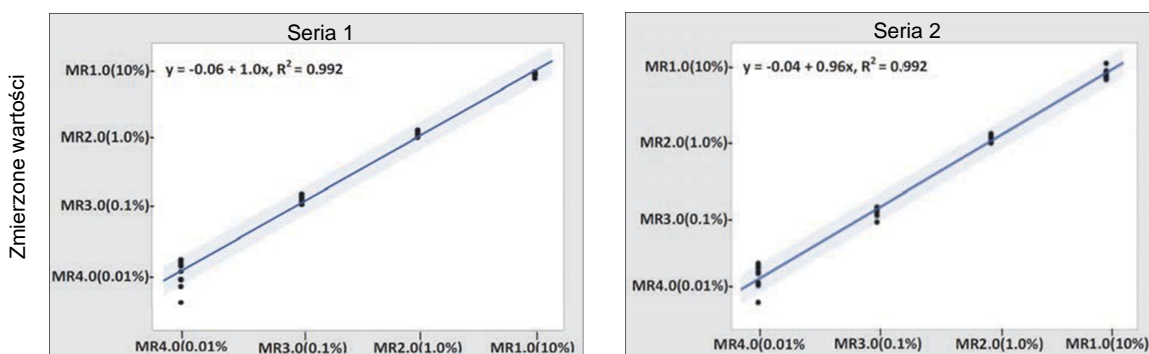
**Ilustracja 9. Analiza różnicy Blanda-Altmana wartości MR testu Xpert BCR-ABL Ultra w porównaniu z wartością MR testu porównawczego BCR-ABL**

Obliczona średnia różnica (odchylenie) wyniosła 0,1336 przy wartości odchylenia standardowego równej 0,3354. Większość (96,6%, 142/147) wyników znajdowała się w zakresie 2SD (między -0,5372 a 0,8044).

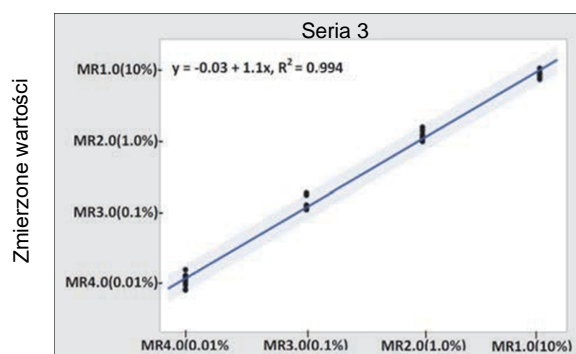
## 21 Skuteczność analityczna

### 21.1 Identyfikowalność z panelem WHO

Identyfikowalność z 1. międzynarodowym genetycznym panelem referencyjnym do pomiaru ilościowego translokacji BCR-ABL przy pomocy RQ-PCR Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) (kod NIBSC: 09/138) wykazano, wykonując pomiary panelu referencyjnego WHO z użyciem 3 serii testu Xpert BCR-ABL Ultra i porównując zmierzone wartości z wartościami opublikowanymi w instrukcji użycia panelu referencyjnego.<sup>19</sup> Każdy z 4 elementów panelu referencyjnego badano w co najmniej 10 powtórzeniach na serię zestawów testu. Zmierzone wartości MR dla każdego poziomu panelu podstawowego WHO obliczono poprzez regresję do każdej serii testu Xpert BCR-ABL Ultra (tj. elementy panelu WHO traktowano jako próbki kliniczne i dopasowano do modelu regresji liniowej krzywej standardowej testu). Ponadto zmierzone wartości MR porównano z opublikowanymi wartościami MR przy pomocy dodatkowej analizy regresji w celu określenia wartości nachylenia i punktu przecięcia. Wartość nachylenia linii była zbliżona do jedności (0,96 do 1,1), a obliczona wartość punktu przecięcia była zbliżona do 0 (-0,03 do -0,06).



Opublikowane wartości % (IS)/MR dla standardu podstawowego WHO



Opublikowane wartości % (IS)/MR dla standardu podstawowego WHO

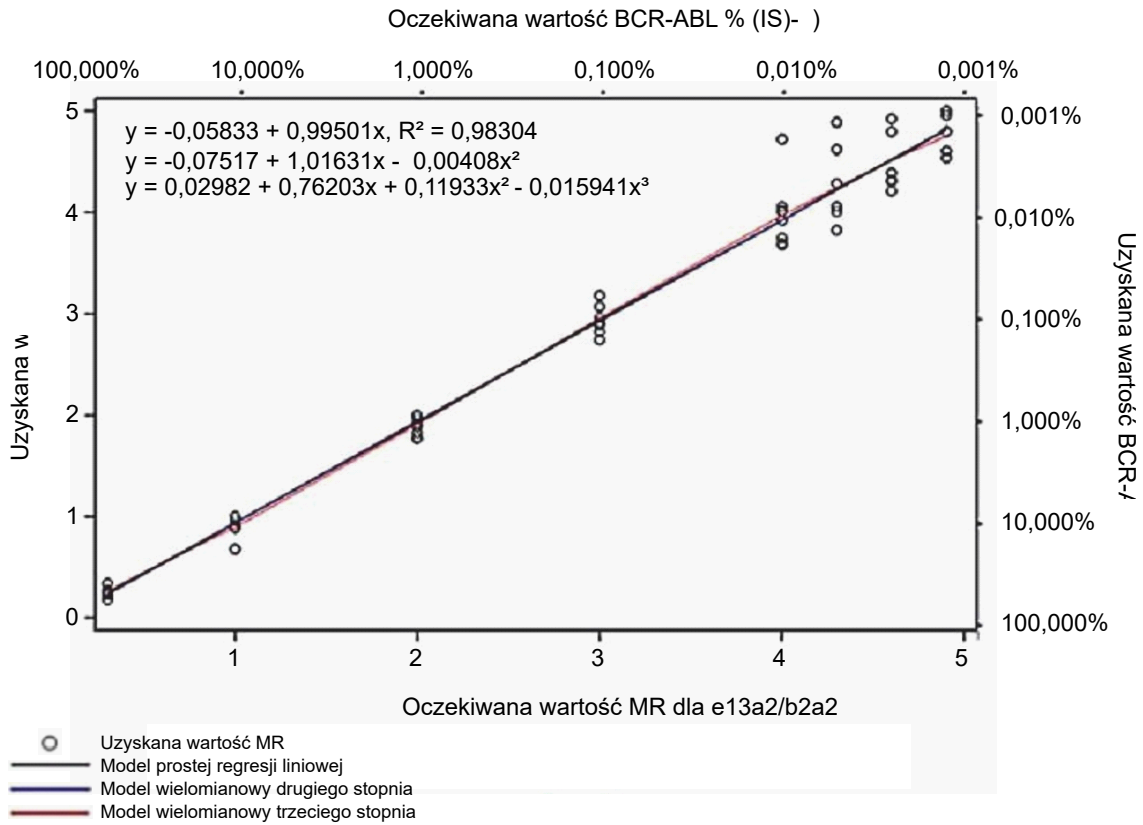
### Ilustracja 10. Zmierzone i opublikowane wartości dla podstawowego panelu referencyjnego WHO, seria do serii.

Wartości RM wygenerowane przez zestaw testu Xpert BCR-ABL Ultra (oś y) naniesiono w odniesieniu do wartości MR opublikowanych w instrukcji użycia podstawowego panelu referencyjnego WHO (oś x). Trzy serie są reprezentowane przez (czarne) punkty danych. Analizy regresji i przedziały ufności są oparte na danych dla każdej oddzielnej serii.

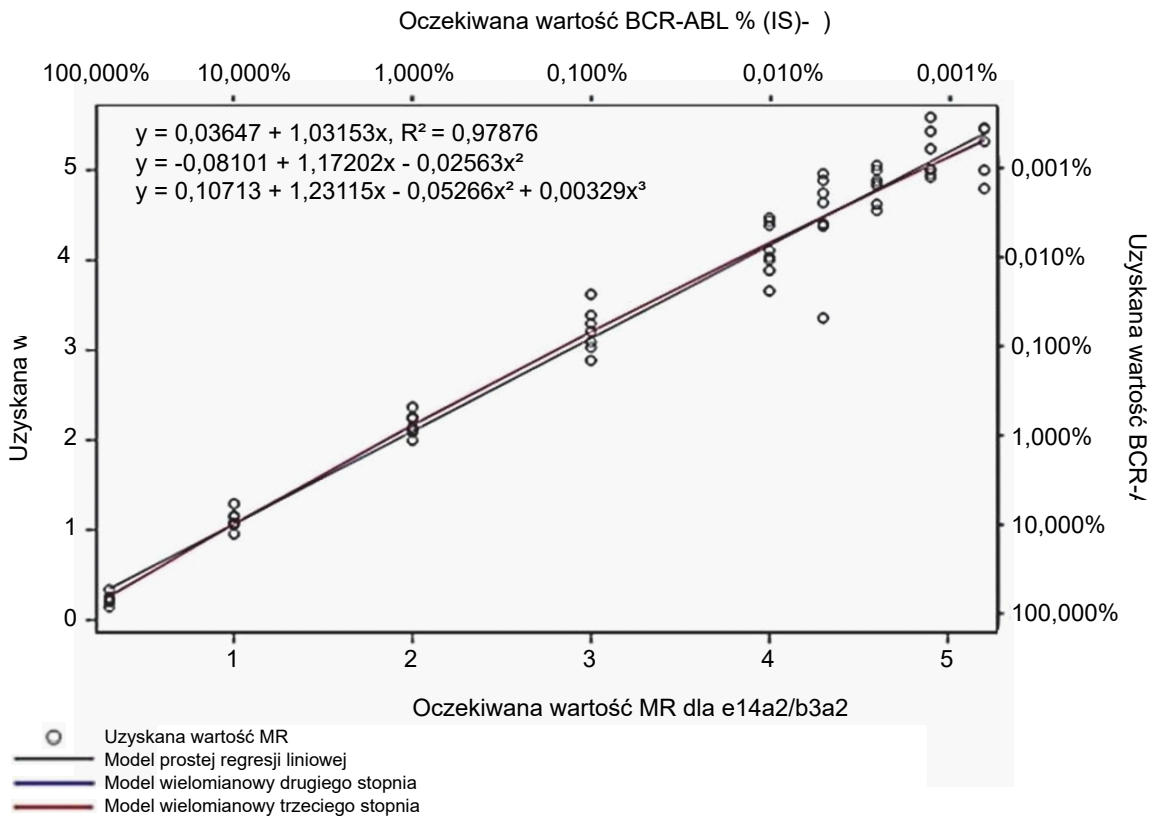
## 21.2 Liniowość / zakres dynamiczny

Liniowość oceniono niezależnie dla każdego z dwóch głównych punktów odcięcia, e13a2/b2a2 i e14a2/b3a2, z użyciem próbek klinicznych CML swoistych pod kątem wysokiego poziomu punktu odcięcia e13a2/b2a2 lub e14a2/b3a2. Lizat każdej próbki CML z wysokim poziomem transkryptu BCR-ABL rozcieńczono w lizacie tła przygotowanym z próbki klinicznej ujemnej pod kątem CML do zakresów sekwencji docelowych wynoszących od około 50% (IS)/MR0,30 do 0,000625% (IS)/MR5,20. 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 uznano za liniowe, jeśli współczynniki regresji wielomianowej były nieistotne (wartości  $p > 0,05$ ). Krzywe regresji liniowej dla obu transkryptów przedstawia Ilustracja 11 i Ilustracja 12 poniżej.



Ilustracja 11. Krzywe regresji liniowej dla transkryptu punktu odcięcia e13a2/b2a2



Ilustracja 12. Krzywe regresji liniowej dla transkryptu punktu odcięcia e14a2/b3a2

Punkty przecięcia regresji, nachylenia i wartości  $R^2$  oszacowane na podstawie modelu liniowego przedstawia Tabela 5.

**Tabela 5. Współczynniki regresji na podstawie modelu liniowego**

Punkt odjęcia	Punkt przecięcia	Nachylenie	$R^2$
e13a2/b2a2	-0,05833	0,99501	0,98304
e14a2/b3a2	0,03647	1,03153	0,9788

Łącznie dane świadczą o liniowości od wartości co najmniej 55% (IS)/MR0,26 do około 0,0019% (IS)/MR4,75 z maksymalnym odchyleniem standardowym równym 0,26. Zakres raportowania wynosi od granicy liniowości równej 55% (IS)/MR0,26 do granicy liniowości oznaczenia ilościowego równej 0,0030% (IS)/MR4,52.

### 21.3 Czułość analityczna (granica wykrywalności, granica liniowości oznaczenia ilościowego, granica próby ślepej)

Granice wykrywalności (LoD) oszacowano dla punktów odjęcia e13a2/b2a2 i e14a2/b3a2, badając rozcieńczenia seryjne próbek wysoko dodatnich pod kątem CML [ $> 10\%$  (IS)/MR1], a także badając próbki nisko dodatnie pod kątem CML [ $< 0,1\%$  (IS)/MR3]. Dane dla każdego punktu odjęcia dla wszystkich rozcieńczeń i próbek zebrano oddzielnie, a granicę wykrywalności oszacowano na podstawie analizy regresji probitowej. Na podstawie przeprowadzonej analizy uzyskano szacunkową granicę wykrywalności wynoszącą 0,0035% (IS)/MR4,45 dla punktu odjęcia e13a2/b2a2 i 0,0030% (IS)/MR4,52 dla punktu odjęcia e14a2/b3a2.

Granice wykrywalności zweryfikowano, adaptując nieparametryczną metodę opisaną w wytycznych EP17-A2 organizacji CLSI (Tabela 6). Dwie niepowtarzalne próbki dodatnie pod kątem CML reprezentujące każdy punkt odjęcia rozcieńczono do poziomu docelowego wynoszącego 0,0030% (IS)/MR4,52. Dla e13a2/b2a2 badano 94 powtórzenia z udziałem 2 operatorów przy pomocy 4 serii zestawów testu w trakcie 4 dni. Dla e14a2/b3a2 badano 101 powtórzeń z udziałem 2 operatorów przy pomocy 4 serii zestawów testu w trakcie 7 dni.

**Tabela 6. Zweryfikowana granica wykrywalności w postaci % (IS)/MR**

Punkt odjęcia	Dodatnie/powtórzenia	% wyników dodatnich	Mediana % (IS)/MR
e13a2/b2a2	90/94	95,74%	0,0030% (IS)/MR4,52
e14a2/b3a2	97/101	96,04%	0,0029% (IS)/MR4,55

Ponieważ test Xpert BCR-ABL Ultra nie umożliwia rozróżniania między dwoma punktami odjęcia, e13a2/b2a2 i e14a2/b3a2, wyższa z dwóch wartości jest deklarowaną granicą wykrywalności testu. Dlatego łączna granica wykrywalności testu Xpert BCR-ABL Ultra dla e13a2/b2a2 i e14a2/b3a2 wynosi 0,0030% (IS)/MR4,52.

Granice liniowości oznaczenia ilościowego (LoQ) oszacowano na podstawie danych uzyskanych podczas badań granicy wykrywalności. Średnią i odchylenie standardowe dla wartości % (IS) i wartości MR obliczono dla powtórzeń na poziomach równych granicy wykrywalności, 0,0030% (IS)/MR4,52, lub większych ze współczynnikiem wyników dodatnich większym niż lub równym 95%. Granica liniowości oznaczenia ilościowego testu jest ograniczona przez granicę wykrywalności testu; z tego względu granicę liniowości oznaczenia ilościowego określono jako równą granicy wykrywalności, 0,0030% (IS)/MR4,52. Wyniki oceniono również w odniesieniu do kryteriów akceptacji dla odchylenia standardowego (SD)  $\leq 0,36$ . Odchylenia standardowe dla wartości MR dla punktu odjęcia e13a2/b2a2 (zaobserwowany zakres odchylenia standardowego wynoszący od MR0,27 do MR0,34) i punktu odjęcia e14a2/b3a2 (zaobserwowany zakres odchylenia standardowego wynoszący od MR0,29 do MR0,31) spełniały kryteria akceptacji.

Granice próby ślepej (LoB) określono z użyciem 50 próbek krwi przypuszczalnie ujemnych pod kątem CML pobranych od normalnych, zdrowych dawców do probówek z EDTA. W żadnym z badań nie zaobserwowano mierzalnych wartości BCR-ABL. Dlatego łączną granicę próby ślepej określono jako 0,00% (IS).

### 21.4 Swoistość analityczna

Swoistość analityczną i kliniczną Xpert BCR-ABL Ultra oceniono pod kątem wyłączności, analizując próbki krwi pełnej z EDTA pobrane od pięćdziesięciu (50) zdrowych dawców (ujemne pod kątem CML) oraz dwadzieścia (20) próbek dodatnich pod kątem białaczki (AML/ALL). Swoistość punktów odjęcia określono, badając próbki krwi z EDTA pobrane od normalnych, zdrowych dawców z dodatkiem pięciu (5) różnych linii komórkowych białaczki reprezentujących 3 różne

typy białaczki (CML, ALL i APL) oraz 5 punktów odcięcia choroby: K562 (CML/e14a2/b3a2) i BV173 (CML/e13a2/b2a2) służyły jako kontrole dodatnie; SUP-B15 (ALL/e1a2), AR230 (CML/e19a2) i NB4 (APL/PML-RARA) oceniono pod kątem swoistości.

Xpert BCR-ABL Ultra nie wykrył sygnału BCR-ABL w żadnej z próbek ujemnych pod kątem CML pobranych od zdrowych dawców ani próbek dodatnich pod kątem białaczki AML/ALL ocenianych w tym badaniu.

Spśród badanych linii komórkowych białaczki dla linii komórkowych CML (K562 i BV173) z głównymi punktami odcięcia p210 uzyskano oczekiwane wyniki dodatnie. W przypadku linii komórkowej CML (AR230) z punktem odcięcia p230 e19a2 uzyskano wynik **DODATNI [poniżej granicy wykrywalności; MR4,52/0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])** dla 1 z 4 badanych powtórzeń na docelowym poziomie 10% (IS)/MR1,00 na podstawie liczby komórek K562. Wynik dodatni dla linii komórkowej AR230 uzyskano na poziomie sekwencji docelowych o 3,52 powyżej granicy wykrywalności testu i nie został on zaobserwowany na niższych poziomach wynoszących 1% (IS)/MR2,00 oraz 0,1% (IS)/MR3,00.

Xpert BCR-ABL Ultra jest swoisty pod kątem transkryptu fuzyjnego p210 BCR-ABL powiązanego z CML, a jego swoistość analityczna wynosi 100% w przypadku próbek krwi z EDTA ujemnych pod kątem CML.

## 21.5 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. To badanie obejmowało przetworzenie normalnej próbki z EDTA z wynikiem **UJEMNYM (NEGATIVE)** (krew ujemna pod kątem CML) w tym samym module aparatu GeneXpert niezwłocznie po próbie z wysokim wynikiem **DODATNIM (POSITIVE)** (symulowana krew dodatnia pod kątem CML) z  $4,5 \times 10^5$  komórek/ml komórek K562 dodanych do krwi ujemnej pod kątem CML w celu uzyskania około 10% (IS)/MR1,00. Tę sekwencję testową powtórzono pięć razy w czterech modułach aparatu GeneXpert. Wszystkie z dwudziestu próbek dodatnich pod kątem BCR-ABL zostały poprawnie zgłoszone z wynikiem **DODATNI [#,% (IS) i MR#,##] (POSITIVE [#,% (IS) and MR#,%])**, a wszystkie z dwudziestu próbek ujemnych pod kątem BCR-ABL zostały poprawnie zgłoszone z wynikiem **UJEMNY [dostateczny transkrypt ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])**.

## 21.6 Potencjalnie interferujące substancje

W tym badaniu oceniono pięć substancji mogących występować w próbkach krwi pełnej z EDTA i mogących zakłócać skuteczność testu Xpert BCR-ABL Ultra. Badane związki chemiczne i poziomy (patrz Tabela 7) oparto na wytycznych EP07-A2 organizacji CLSI. Substancje interferujące badano w klinicznych próbkach krwi pełnej z EDTA dodatnich pod kątem CML reprezentujących trzy poziomy z pięcioma próbkami na poziom:  $> 1\%$  (IS)/ $<MR2$ ,  $0,1-1\%$  (IS)/ $MR3-MR2$ , and  $<0,1\%$  (IS)/ $>MR3$ ). Kontrole badania obejmowały kliniczne próbki krwi pełnej z EDTA dodatnie pod kątem CML na odpowiednim poziomie transkryptów BCR-ABL bez substancji interferującej. Każdą próbkę CML 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 % (IS)/MR mieścił się w granicy 3-krotnej różnicy w porównaniu z kontrolą.

Nie zaobserwowano klinicznie znaczącego działania hamującego na test Xpert BCR-ABL Ultra 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 % (IS)/MR dla warunków testu i warunków kontroli mieściły się w dopuszczalnym zakresie 3-krotności.

**Tabela 7. Badane potencjalnie interferujące substancje za pomocą Xpert BCR-ABL Ultra**

Substancje interferujące	Badane stężenie
Bilirubina niezwiązana	20 mg/dl
Cholesterol całkowity	500 mg/dl
Triglicerydy (lipidy)	1800 mg/dl
Heparyna	3500 U/l
EDTA (krótkie pobranie)	750 mg/dl (5×)

## 22 Precyzja i odtwarzalność

Precyzję i odtwarzalność testu Xpert BCR-ABL Ultra 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 CLSI EP15-A3 „User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline” (Weryfikacja działania użytkownika pod kątem precyzji i dokładności, zatwierdzone wytyczne) organizacji CLSI.

Przygotowano panel jedenastu próbek, który zawierał: jedną próbkę ujemną pod kątem BCR-ABL, dwie próbki na granicy wykrywalności (LoD) i osiem próbek na poziomach 1–4 odpowiedzi molekularnej (MR), z użyciem dwóch sekwencji docelowych wykrywanych przez test Xpert BCR-ABL Ultra e13a2/b2a2 and e14a2/b3a2. Panel próbek przygotowano, rozcieńczając lizat zbiorczy próbek z wysokim współczynnikiem % BCR-ABL/ABL pobranych od pacjentów z białaczką CML w pulowanej krwi pełnej pobranej od zdrowych dawców w celu uzyskaniażądanego poziomu.

Tabela 8 przedstawia jedenastę próbek uwzględnionych w tym badaniu.

**Tabela 8. Panel odtwarzalności Xpert BCR-ABL Ultra**

Nr próbki	Opis	% (IS)
1	e13a2/b2a2 o wartości MR1,0	BCR-ABL o wartości około 10% (IS)
2	e14a2/b3a2 o wartości MR1,0	BCR-ABL o wartości około 10% (IS)
3	e13a2/b2a2 o wartości MR2,0	BCR-ABL o wartości około 1% (IS)
4	e14a2/b3a2 o wartości MR2,0	BCR-ABL o wartości około 1% (IS)
5	e13a2/b2a2 o wartości MR3,0	BCR-ABL o wartości około 0,1% (IS)
6	e14a2/b3a2 o wartości MR3,0	BCR-ABL o wartości około 0,1% (IS)
7	e13a2/b2a2 o wartości MR4,0	BCR-ABL o wartości około 0,01% (IS)
8	e14a2/b3a2 o wartości MR4,0	BCR-ABL o wartości około 0,01% (IS)
9	e13a2/b2a2 w pobliżu granicy wykrywalności	BCR-ABL o wartości około 0,005% (IS)
10	e14a2/b3a2 w pobliżu granicy wykrywalności	BCR-ABL o wartości około 0,005% (IS)
11	Wynik ujemny	Nie wykryto BCR-ABL

Każdy z jedenastu elementów panelu badano w dwóch powtórzeniach dwa razy na dzień w trakcie czterech różnych dni z udziałem każdego z trzech różnych operatorów w trzech różnych ośrodkach. Użyto trzech serii zestawów testu Xpert BCR-ABL Ultra, a każdy operator wykonywał badania z użyciem jednej serii (3 ośrodki × 3 serie × 1 operator/serię × 4 dni × 2 badania/operatora × 2 powtórzenia/badanie = 144 powtórzenia/element panelu).

Wyniki ilościowe analizowano przy pomocy analizy pod kątem zmienności (ANOVA) i zidentyfikowano główne składniki wariancji.

Wyniki analizy ANOVA dla każdego elementu panelu przedstawia Tabela 9.

**Tabela 9. Badanie odtwarzalności: wyniki analizy pod kątem zmienności**

Próbka	N	Średnia (MR)	Ośrodek/aparat SD	Operator/seria SD	Dzień SD	W trakcie nastawienia SD	Całkowite SD <sup>a</sup>
e13a2/b2a2 o wartości docelowej MR1,0	144	0,96	0	0,05	0,01	0,06	0,08
e14a2/b3a2 o wartości docelowej MR1,0	144	0,99	0	0,06	0	0,08	0,1
e13a2/b2a2 o wartości docelowej MR2,0	143	2,04	0	0,06	0,02	0,10	0,11

Próbka	N	Średnia (MR)	Ośrodek/ aparat SD	Operator/ seria SD	Dzień SD	W trakcie nastawienia SD	Całkowite SD <sup>a</sup>
e14a2/b3a2 o wartości docelowej MR2,0	144	2,09	0,03	0,07	0,02	0,10	0,13
e13a2/b2a2 o wartości docelowej MR3,0	144	2,89	0,06	0,04	0,03	0,10	0,12
e14a2/b3a2 o wartości docelowej MR3,0	144	3,12	0,06	0,08	0	0,11	0,15
e13a2/b2a2 o wartości docelowej MR4,0	143 <sup>b</sup>	3,67	0,03	0,02	0	0,15	0,15
e14a2/b3a2 o wartości docelowej MR4,0	144	3,91	0,05	0,08	0,04	0,14	0,17
e13a2/b2a2 o wartości docelowej MR>4,0	140 <sup>c</sup>	4,36	0,04	0,04	0	0,33	0,33
e14a2/b3a2 o wartości docelowej MR>4,0	143 <sup>d</sup>	4,22	0,03	0,08	0	0,17	0,19

<sup>a</sup> Test Xpert BCR-ABL Ultra wykonywany w systemach GeneXpert Dx i GeneXpert Infinity integruje oczyszczanie próbki i amplifikowanie kwasu nukleinowego. Ogólna zmienność testu zaobserwowana w tym badaniu (wyrażona jako Całkowite SD) obejmuje zmienność wynikającą z kroków przygotowania próbki w urządzeniu i reakcji RT-qPCR.

<sup>b</sup> Jedno powtórzenie spełniające wymagania dla elementu odstającego na poziomie 99% zgodnie z wytycznymi EP15-A3 organizacji CLSI zostało usunięte z analizy.

<sup>c</sup> W przypadku 4 próbek spośród 144 wyników badania uzyskano wynik UJEMNY (NEGATIVE).

<sup>d</sup> W przypadku 1 próbki spośród 144 wyników badania uzyskano wynik UJEMNY (NEGATIVE).

Zaobserwowane całkowite odchylenie standardowe dla próbek na poziomach MR1, MR2 i MR3 wyniosło  $\leq 0,15$ . Maksymalne zaobserwowane całkowite odchylenie standardowe dla próbek w pobliżu granicy wykrywalności i poziomu MR4 wyniosło 0,33.

## 23 Piśmiennictwo

- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics 2008; CA Cancer J Clin. 2008;58:71-96.
- NIH/NCI – Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER). Fakty statystyczne dotyczące raka: Przewlekła białaczka szpikowa (CML). Dostęp z grudnia 21, 2018 r. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cm1.html>
- Thompson PA, Kantarjian HM, Cortes JE. Diagnosis and Treatment of Chronic Myeloid Leukemia in 2015. Mayo Clin Proc. 2015;90(10):1440-1454.
- Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. Blood. 2005;105(7):2640-2653.
- Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. Blood. 2006;108(1):28-37.
- NCCN. Clinical Practice Guidelines in Oncology; Chronic Myelogenous Leukemia (dostęp do wersji 1 z 2019).
- White H, Matejtschuk P, Rigsby P, et al. Establishment of the first World Organization International Generic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. Blood. 2010; 116:e111-e117.
- Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – A Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2003;17:2318-2357.
- Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VH, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) – a Europe against cancer program. Leukemia. 2003;17:2474-2486.
- van der Velden VH, Boeckx N, Gonzalez M, et al. Differential stability of control gene and fusion gene transcripts over time may hamper accurate quantification of minimal residual disease—a study within the Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2004;18:884-886.



11. van der Velden VH, Hochhaus A, Cazzaniga G, et al. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspects. *Leukemia*. 2003;17:1013-1034.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokument M29 (patrz najnowsze wydanie).
14. Światowa Organizacja Zdrowia Safe management of wastes from health-care activities. Biuletyn Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) (patrz najnowsze wydanie).
15. 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 listę zwrotów wskazujących środki ostrożności, dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE (zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006).
16. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 marca 2012 r.) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
17. Baccarani M. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013 Jun;122(6):872-884.
18. Hochhaus A. et al. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. *Annals of Oncology*. 2017 May; 28(4):iv41-iv51.
19. Międzynarodowy standard WHO 1. międzynarodowy genetyczny panel referencyjny do pomiaru ilościowego translokacji BCR-ABL kod NIBSC: 09/138. Instrukcja użycia (wersja 4.0., z dnia 13 grudnia 2012 r.).

## 24 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](http://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](http://www.cepheidinternational.com)

## 25 Wsparcie techniczne

### Przed skontaktowaniem się z firmą Cepheid

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](mailto:techsupport@cepheid.com)

### Francja

Telefon: + 33 563 825 319 E-mail: [support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)

Dane kontaktowe wszystkich oddziałów Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie internetowej: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us)

## 26 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
<b>REF</b>	Numer katalogowy
<b>CE</b>	Oznaczenie CE — zgodność z normami europejskimi
<b>IVD</b>	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki <i>in vitro</i>
<b>LOT</b>	Kod partii

Symbol	Znaczenie
	Nie używać ponownie
	Data ważności
	Ostrzeżenie
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do przeprowadzenia $n$ testów
<b>CONTROL</b>	Kontrola
	Ograniczenie temperatury
	Zagrożenia biologiczne
	Łatwopalne ciecze
	Toksyczność dla układu rozrodczego i narządów
<b>EC REP</b>	Upoważniony przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
<b>CH REP</b>	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii
	Importer



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefon: + 1 408 541 4191 Faks: + 1 408 541 4192 [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com)



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



## 27 Historia zmian

**Opis zmian:** 302-0742, wer. C do wer. D

**Przeznaczenie:** Zapewnienie zgodności z przepisami IVDO obowiązującymi w Szwajcarii (IVD Ordinance for Switzerland)

Punkt	Opis zmiany
6.3	Dodano punkt „Materiały zalecane, ale niedostarczone”.
26	Dodano symbole „CH REP” i „Importer” oraz ich opisy w tabeli symboli. Dodano symbole „CH REP” i „Importer” oraz adres w Szwajcarii.