

Xpert[®] BCR-ABL Ultra

REF GXBCRABL-10

Инструкция по применению

IVD CE

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

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.

© 2019–2022 Cepheid.

Cepheid[®], логотип Cepheid, GeneXpert[®] и Xpert[®] являются товарными знаками компании Cepheid, зарегистрированными в США и других странах.
Все другие товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2019–2022 Cepheid.

Изменения описаны в разделе Раздел 27 История изменений.

Хpert® BCR-ABL Ultra

Для диагностических тестов *in vitro*

1 Патентованное название

Хpert® BCR-ABL Ultra

2 Общепринятое или распространенное наименование

Хpert BCR-ABL Ultra

3 Назначение

Тест Хpert BCR-ABL Ultra представляет собой диагностический тест *in vitro* для количественного определения мРНК-транскриптов BCR-ABL1 и ABL1 в образцах периферической крови пациентов с диагностированным t(9;22)-положительным хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) с экспрессией химерных транскриптов BCR-ABL1 типа e13a2 и/или e14a2. Этот тест использует автоматизированную количественную полимеразную цепную реакцию в реальном времени с обратной транскрипцией (ОТ-кПЦР). Тест Хpert BCR-ABL Ultra предназначен для измерения процентного соотношения BCR-ABL1 относительно ABL1 по международной шкале (International Scale, IS), также выражаемого в форме логарифма снижения молекулярной концентрации (значение MR) от исходного уровня в 100 % (IS), у пациентов с t(9;22)-положительным ХМЛ при мониторинге лечения ингибиторами тирозинкиназы (ТКИ).

Этот тест не позволяет различать химерные транскрипты e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2 и не позволяет отслеживать другие редкие химерные транскрипты, возникшие в результате t(9;22). Этот тест не предназначен для диагностики ХМЛ.

Тест Хpert BCR-ABL Ultra предназначен для использования исключительно на системах Cepheid GeneХpert® Dx и GeneХpert Infinity.

4 Краткие сведения и разъяснения

Хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ) является одним из самых распространенных злокачественных заболеваний крови, составляя 15–20 % всех случаев лейкемии¹. Частота встречаемости ХМЛ составляет примерно 1,8/100 000, а это значит, что диагноз ХМЛ будет установлен на протяжении всей жизни у 1 из каждых 55 555 мужчин и женщин.² У более чем 95 % больных ХМЛ обнаруживается хорошо различимая филадельфийская хромосома (Ph1), которая возникает в результате реципрокной транслокации между длинными плечами хромосом 9 и 22.² Эта транслокация приводит к переносу гена Abelson или ABL1 (далее именуемого ABL) с хромосомы 9 на кластерный регион точечного разрыва (breakpoint cluster region, BCR) хромосомы 22, в результате чего образуется химерный ген BCR-ABL1 (далее именуемый BCR-ABL). Этот химерный ген продуцирует BCR-ABL — нерегулируемую тирозинкиназу, которая играет ключевую роль в развитии ХМЛ.³ Хpert BCR-ABL Ultra обнаруживает мРНК-транскрипты хромосомных транслокаций для белка p210, которые появляются в результате разрывов в двух основных точках — транслокаций e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2.

Клинические преимущества мониторинга уровней мРНК BCR-ABL посредством ОТ-ПЦР были выявлены в международном рандомизированном исследовании интерферона и STI571 (International Randomized Study of Interferon and STI571, IRIS), в котором пациенты получали лечение интерфероном и (или) ингибитором тирозинкиназы (tyrosine kinase inhibitor, TKI). Результаты определения BCR-ABL были нормализованы в условиях стандартизированных исходных данных, общих для трех лабораторий, участвовавших в исследовании⁴. Впоследствии была предложена международная шкала (international scale, IS) для мониторинга BCR-ABL с необходимостью привязки к двум значениям, определенным в исследовании IRIS, что позволяет выразить

результаты в соответствии с общепринятой шкалой⁵. Первое из этих значений является стандартным исходным уровнем, составляющим 100 % (*IS*). В качестве второго значения принят большой молекулярный ответ (Major Molecular Response, MMR) который определен как тысячекратное снижение по сравнению со стандартным исходным уровнем и составляет 0,10 % (*IS*)/MR3. Тысячекратное снижение связано с благоприятным исходом в отношении выживаемости⁶. Таким образом, молекулярный тест, стандартизованный по *IS*, может оказать существенную помощь врачам в ведении пациентов с хроническим миелолейкозом⁶.

Тест Xpert BCR-ABL Ultra позволяет выполнять количественное определение уровня мРНК BCR-ABL в процентах от (*IS*) путем калибровки этого теста с применением первой международной генетической панели Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) для количественного определения мРНК BCR-ABL. В соответствии с рекомендованным протоколом⁷ компания Cepheid выполнила разработку и валидацию вторичных количественных стандартов, согласованных с первичной референсной панелью ВОЗ. Это позволяет определять специфичный для партии переводной коэффициент, включающий эффективность теста (*E*) и переводной коэффициент (*SF*), для каждой партии наборов Xpert BCR-ABL Ultra. Эффективность калибровки по отношению к вторичным стандартам проверяется регулярно.

5 Принципы проведения процедуры

Xpert BCR-ABL Ultra — это автоматизированный тест для количественного определения уровня транскрипта BCR-ABL в виде соотношения BCR-ABL/ABL. Этот тест использует автоматизированную количественную полимеразную цепную реакцию в реальном времени с обратной транскрипцией (ОТ-кПЦР).

Данный тест выполняется на системах GeneXpert Dx и GeneXpert Infinity компании Cepheid. В системах GeneXpert объединены и автоматически выполняются процессы очистки образцов, амплификации нуклеиновых кислот и выявления целевой последовательности в простых или сложных образцах методами ОТ-ПЦР и ПЦР. Система состоит из прибора, компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ОТ-ПЦР и ПЦР и в которых выполняются эти реакции. Полное описание системы см. в *GeneXpert Dx System Operator Manual* или *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

В набор теста Xpert BCR-ABL Ultra входят реагенты для обнаружения химерных генов BCR-ABL, возникающих в результате двух основных точечных разрывов p210, транслокации e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2, а также транскрипт ABL в качестве эндогенного контроля в образцах периферической крови.^{7,8,9,10,11} Программное обеспечение GeneXpert сообщает количество транскрипта BCR-ABL в полученном у пациента образце в виде отношения BCR-ABL/ABL, а также в виде логарифма молекулярного снижения (MR) от исходного уровня, принятого 100 % по международной шкале (*IS*), используя программное обеспечение GeneXpert.

Каждый тест Xpert BCR-ABL Ultra включает два контроля: эндогенный контроль ABL и контроль качества зондов. Эндогенный контроль ABL применяется для нормализации анализируемого количества целевой последовательности BCR-ABL и позволяет контролировать достаточность количества образца в анализе. РСС предназначен для проверки регидратации реактивов, наполнения пробирки для ПЦР, а также проверки наличия в картридже и функциональности всех компонентов реакции, в том числе зондов и красителей.

6 Реагенты и приборы

6.1 Комплект поставки

Набор теста Xpert BCR-ABL Ultra (GXBCRABL-10) содержит реагенты в количестве, достаточном для обработки 10 анализируемых образцов или образцов контроля качества. Набор состоит из следующих компонентов:

Xpert BCR-ABL Ultra Реагенты	по 10 каждого в каждом наборе
• Протеиназа К (PK)	10 x 130 мкл в каждом флаконе
• Лизирующий реагент (LY) (хлорид гуанидина)	10 x 5,3 мл в каждом флаконе
• Промывающий реагент (1)	10 x 2,9 мл в каждой ампуле
• Этанол	
• Гуанидинтиоцианат	

Картриджи Xpert BCR-ABL Ultra со встроенными реакционными пробирками	10 в каждом наборе
• Гранулы 1, 2, 3 и 4 (лиофилизированные)	по 1 каждого типа в одном картридже
• Ополаскивающий реагент	2,0 мл в одном картридже
• Элюирующий реагент	2,5 мл в одном картридже

Компакт-диск	1 в каждом наборе
• Файл описания теста (ADF)	
• Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert	
• Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)	
Сертификат анализа	1 в каждом наборе

Прим. Паспорта безопасности (Safety Data Sheets, SDS) можно найти на www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com **на вкладке SUPPORT (ПОДДЕРЖКА)**.

Прим. Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма крови животных, выращенных в США. В пищу животных не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

6.2 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Прибор GeneXpert DX или системы GeneXpert Infinity (номер по каталогу зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер, сканер штрих-кодов и руководство оператора.
- Для системы GeneXpert Dx: программное обеспечение GeneXpert Dx версии 5.1 или выше
- Для систем GeneXpert Infinity-80 и Infinity-48s: программное обеспечение Xpertise версии 6.6 или выше
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Вихревая мешалка
- Микроцентрифуга (не менее 1000 г)
- Пипетки и наконечники с аэрозольным фильтром для пипеток
- Конические пробирки вместимостью 50 мл
- Химически чистый абсолютный спирт

6.3 Рекомендуемые материалы, не входящие в комплект поставки

Панель Xpert BCR-ABL IS Panel C130, номер по каталогу C130, представляет собой контроли качества от компании Maine Molecular Quality Controls, Inc.

7 Хранение и обращение

- Храните содержимое набора Xpert BCR-ABL Ultra при температуре 2–8 °C до истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Не снимайте крышку с картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.
- Не используйте картриджи с истекшим сроком годности.
- Промывающий реагент является прозрачной бесцветной жидкостью. Не используйте помутневший или изменивший цвет промывающий реагент.
- За 20 (двадцать) минут до начала процедуры извлеките из хранилища образец крови, картридж и реагенты для подготовки образца и доведите их до комнатной температуры (20–30 °C).

8 Предупреждения и меры предосторожности

8.1 Общие положения

Для проведения диагностических тестов *in vitro*.

При работе со всеми биологическими образцами, в том числе с использованными картриджами и реагентами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний США» (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)¹² и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute)¹³.

Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.

Рабочие характеристики теста устанавливали только с использованием крови, собранной в пробирки с ЭДТА. Функциональные характеристики этого теста для других образцов или типов образцов не установлены.

Надежность результатов зависит от надлежащего сбора, транспортировки, хранения и обработки образца. Неправильные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором, обращением или хранением образца, технической ошибкой, неверной идентификацией образцов или количеством целевого транскрипта в образце ниже порога обнаружения данного теста. Во избежание получения ошибочных результатов необходимо тщательно следовать указаниям инструкции по применению, *GeneXpert Dx System Operator Manual* и *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Несоблюдение рекомендованных диапазонов температуры и срока хранения при выполнении теста Xpert BCR-ABL Ultra может привести к получению ошибочных или недействительных результатов.

Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реагентов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе нормативные документы не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.¹⁴

8.2 Образец

Соблюдайте надлежащие условия хранения при транспортировке образцов, чтобы обеспечить их целостность (см. Раздел 10). Не изучалась стабильность образца при транспортировке в условиях, отличных от рекомендованных.

Не замораживайте образцы цельной крови.

Надлежащие взятие, хранение и транспортировка образцов крайне важны для получения правильных результатов.

8.3 Тест/реагент

Не заменяйте реагенты Xpert BCR-ABL Ultra другими реагентами.

Крышку картриджа Xpert BCR-ABL Ultra разрешается открывать только для добавления образца и промывающего реагента.

Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.

Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов.

Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на штрих-кодовой этикетке картриджа.

Не используйте картридж с поврежденной штрих-кодовой этикеткой.

Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.

Рекомендуется во время теста содержать картриджи Xpert BCR-ABL Ultra при комнатной температуре (20 – 30 °C).

Каждый одноразовый картридж Xpert BCR-ABL Ultra используется для выполнения только одного теста. Не использовать повторно уже применявшиеся для анализа картриджи.

Не используйте наконечники пипеток повторно.

Не используйте картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.

Не используйте картридж Xpert BCR-ABL Ultra, если реагент был внесен в неправильное отверстие.

Не открывайте картриджи Xpert BCR-ABL Ultra после завершения теста.

Чрезмерно высокое содержание лейкоцитов может привести к возрастанию давления в картридже и прерыванию серии анализов.


Используйте набор пипеток и реактивов исключительно для подготовки пробы.

Пользуйтесь чистым лабораторным халатом и перчатками. Меняйте перчатки, приступая к работе с последующим образцом.

При разливе образцов или контролей наденьте перчатки и впитайте разлитую жидкость бумажными полотенцами. Затем тщательно очистите загрязненную область разбавленным в соотношении 1:10 свежеприготовленным раствором бытового хлорного отбеливателя. Конечная концентрация активного хлора должна составлять 0,5 % независимо от концентрации гипохлорита в бытовом отбеливателе в вашей стране. Продолжительность контакта поверхности с раствором отбеливателя должна составлять не менее двух минут. Высушите рабочую поверхность и затем удалите с нее остатки раствора отбеливателя при помощи 70 % денатурированного этилового спирта. Прежде чем продолжать, дождитесь полного высыхания поверхности. Также можно следовать стандартным процедурам, предусмотренным для случаев контаминации или разлива в вашем учреждении. При загрязнении оборудования следуйте рекомендациям по деконтаминации, предоставленным производителем этого оборудования.

9 Опасные химические факторы^{15, 16}

Прим. Приведенная ниже информация относится ко всему изделию, содержащему протеиназу К, лизирующий, промывающий и ополаскивающий реактивы.

- Символ опасности СГС ООН: 
- Сигнальное слово: ОПАСНО
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Легковоспламеняющаяся жидкость и пары
 - Вызывает раздражение кожи
 - Вызывает серьезное раздражение глаз
 - Может вызывать сонливость или головокружение
 - Предположительно вызывает генетические дефекты.
- **Предостерегающие заявления СГС ООН**
 - **Профилактика**
 - Перед использованием получить специальные инструкции.
 - Перед использованием ознакомиться с инструкциями по технике безопасности.
 - Беречь от нагревания, искр, открытого огня и/или горячих поверхностей. Не курить.
 - Хранить в плотно закрытом контейнере.
 - Избегать вдыхания тумана, паров, аэрозоля.
 - После использования тщательно вымыть.
 - Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом месте.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
 - Использовать соответствующие индивидуальные средства защиты.
 - **Реагирование**
 - В случае пожара: Использовать соответствующие средства пожаротушения.
 - ПРИ ВДЫХАНИИ: Переместить пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении.

- При плохом самочувствии обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
- ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой/принять душ.
- Требуется специальное лечение; см. дополнительную информацию о первой помощи.
- Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.
- При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
- Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- ПРИ воздействии или подозрении на возможность воздействия: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- **Хранение/удаление в отходы**
 - Хранить в прохладном месте.
 - Хранить в хорошо проветриваемом месте. Хранить в плотно закрытом контейнере.
 - Хранить под замком.
 - Удаление в отходы содержимого и (или) тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

10 Образцы: взятие, транспортировка и хранение

- Образцы цельной крови следует собирать в пробирки с ЭДТА в соответствии с правилами вашего учреждения. Во время испытания стабильности образцов было установлено, что образцы крови стабильны до 72 часов при хранении в холодильных камерах (5 ± 3 °C). Не следует отделять плазму от клеток.
- Правильное взятие, хранение и транспортировка образцов имеют решающее значение для функциональных характеристик этого анализа! Стабильность образцов в условиях транспортировки и хранения, не соответствующих рекомендованным ниже, для теста Xpert BCR-ABL Ultra не изучена.

11 Процедура

11.1 До начала процедуры

За двадцать (20) минут до начала процедуры извлеките из охлаждаемого хранилища образец крови и реагенты для подготовки образца (в том числе картриджи) и доведите их до комнатной температуры, а протеиназу К (РК) кратковременно отцентрифугируйте в микроцентрифуге.

Важное замечание При использовании GeneXpert Dx System начинайте тест не позднее одного часа после внесения в картридж образца, обработанного реагентом для образцов. При использовании GeneXpert Infinity System необходимо начать тест и установить картридж на конвейерную ленту в течение 15 минут после внесения образца, обработанного реагентом для образцов. Оставшийся срок хранения отслеживается программным обеспечением Xpertise, чтобы тесты были выполнены до истечения допустимого одночасового срока нахождения картриджей в системе.

Важное замечание Перед подготовкой образца извлеките картридж из картонной упаковки. (См. Раздел 11.3.)

11.2 Подготовка образца

1. На дно новой конической пробирки вместимостью 50 мл внесите 100 мкл РК (протеиназы К).
2. Обеспечьте хорошее перемешивание образца крови, переворачивая пробирку с собранной кровью 8 раз непосредственно перед пипетированием. См. инструкции изготовителя пробирки с ЭДТА для сбора крови.
3. В пробирку, уже содержащую протеиназу К, добавьте 4 мл образца крови.
4. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 3 секунд.
5. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 1 минуты.
6. К той же пробирке добавьте 2,5 мл лизирующего реактива (LY).

Прим. Сохраните оставшийся лизирующий реагент для повторного использования на этапе 13.

7. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд.
8. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 5 минут.
9. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 5 минут.
11. Перемешайте образец, постучав 10 раз по дну пробирки.
12. Перенесите 1 мл приготовленного лизата в новую коническую пробирку вместимостью 50 мл.

Прим. Оставшийся лизат можно хранить в течение не более 4 часов при температуре 2–8 °С или не более 24 недель при -20 °С или более низкой температуре.

13. Внесите 1,5 мл сохраненного на этапе 6 лизирующего реагента в новую коническую пробирку, содержащую лизат.
14. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд.
15. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 10 минут.
16. В ту же коническую пробирку внесите 2 мл абсолютного этанола категории «чистый для анализа» (поставляется пользователем).
17. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд. Отложите на время.
18. Удалите остатки реактивов PK и LY в отходы.

11.3 Подготовка картриджа

Порядок внесения образца в картридж Xpert BCR-ABL Ultra:

1. Извлеките картридж из картонной упаковки.
2. Осмотрите картридж на предмет отсутствия повреждений. В случае повреждения не используйте его.
3. Откройте картридж, подняв его крышку, и перенесите все содержимое ампулы с промывающим реагентом (1) в камеру промывающего реагента (с малым отверстием). См. Рисунок 1.
4. Перенесите пипеткой весь подготовленный образец в камеру для образца (с большим отверстием). См. Рисунок 1.

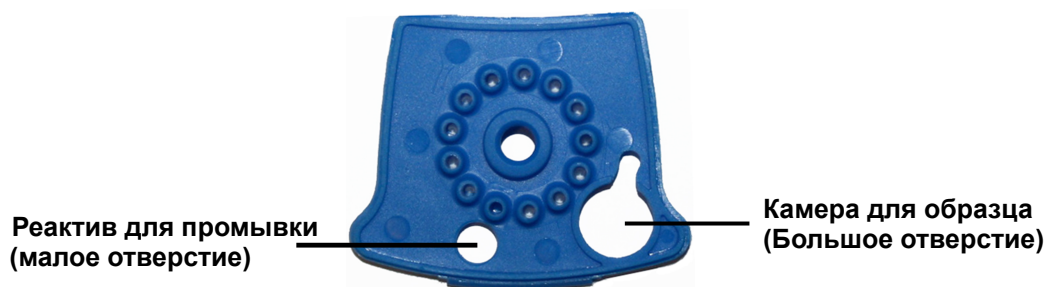


Рисунок 1. Картридж Xpert BCR-ABL Ultra (вид сверху)

5. Закройте крышку картриджа. Убедитесь, что крышка надежно защелкнулась на месте. Начните тест (см. Запуск теста).

11.4 Запуск теста

Важное замечание Оставшийся срок хранения отслеживается программным обеспечением Xpertise, чтобы тесты были выполнены до истечения допустимого одночасового срока нахождения картриджей в системе.

Важное замечание При использовании системы GeneXpert Dx перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение GeneXpert Dx версии 5.1 или выше, и что правильный файл описания теста импортирован в программное обеспечение. Анализ следует начать не позднее чем через 1 час после того, как образец был помещен в картридж.

Важное замечание При использовании системы *GeneXpert Infinity* перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение Xpertise версии 6.6 или выше, и что правильный файл описания теста импортирован в программное обеспечение. Поместите картридж на конвейер в течение 15 минут после внесения образца.

В данном разделе перечислены основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Прим. Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменил установленную по умолчанию рабочую последовательность.

1. Включите прибор GeneXpert:

- При использовании прибора *GeneXpert Dx* следует сначала включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx, который находится на рабочем столе Windows®.
- или
- При использовании прибора *GeneXpert Infinity* следует включить прибор. Программное обеспечение Xpertise запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения Xpertise, который находится на рабочем столе Windows®.

2. Войдите в программное обеспечение системы приборов GeneXpert, используя свои имя пользователя и пароль.

3. В окне системы GeneXpert щелкните **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или **Заказы (Orders)**, а затем **Заказать анализ (Order Test)** (для Infinity). Откроется окно **Создать анализ (Create Test)**. Появится окно **Scan Patient ID barcode (Сканировать штрихкод ID пациента)**.

4. Отсканируйте или введите вручную «ID пациента» (Patient ID). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), то проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатами теста; он указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах. Появится диалоговое окно **Сканировать штрихкод ID образца (Scan Sample ID Barcode)**.

5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. ID образца (Sample ID) связывается с результатами теста; он указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах. Появится диалоговое окно **Сканировать штрихкод картриджа (Scan Cartridge Barcode)**.

6. Отсканируйте штрихкод на картридже. На основе информации, считанной со штрихкода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реагента» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Прим. Если штрихкод картриджа не сканируется, повторите анализ с новым картриджем. Если вы отсканировали штрихкод картриджа в программном обеспечении и файл описания теста недоступен, появится экран, показывающий, что файл описания теста не загружен в систему. Если появится этот экран, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid.

7. Щелкните **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). В появляющемся диалоговом окне введите пароль, если это необходимо.

8. При использовании системы *GeneXpert Infinity* поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- a) Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- b) Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
- c) Прежде чем открывать дверцу модуля, дождитесь разблокирования системой замка дверцы. Затем извлеките картридж.
- d) Удаляйте в отходы использованные картриджи в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

Прим. Время до получения результата — менее 2,5 часов (примерно 30 минут время подготовки образца вне системы и 1 час 45 минут время анализа).

12 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечислены основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, что зависит от используемой модели.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении теста нажмите кнопку **Отчет (Report)** в окне Просмотреть результаты (View Results) для просмотра и (или) получения отчета в формате PDF.

13 Контроль качества

Каждый картридж содержит эндогенный контроль ABL и контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC).

Эндогенный контроль ABL проверяет достаточность количества образца в анализе. Кроме того, этот контроль позволяет выявить связанное с пробой ингибирование ПЦР при тесте в реальном времени. Контроль ABL считается пройденным, если его результат соответствует заданным критериям приемлемости.

Контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC) — перед запуском ПЦР система GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для отслеживания регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки и работоспособности всех компонентов реакции в картридже. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует заданным критериям приемлемости.

14 Интерпретация результатов

Результаты автоматически интерпретируются системой GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета, и они четко отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Возможные результаты и их интерпретация показаны в Таблице 1.

Таблица 1. Xpert BCR-ABL Ultra Результаты и их интерпретация

Результат	Интерпретация
<p>ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (POSITIVE)</p> <p>См Рисунок 2, Рисунок 3, Рисунок 4</p>	<p>Обнаружен транскрипт BCR-ABL.</p> <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (BCR-ABL POSITIVE) – обнаружен транскрипт BCR-ABL с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. • Возможные положительные результаты: <ul style="list-style-type: none"> • ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [#,## % (IS) и MR#,##] (POSITIVE [#,##% (IS) and MR##,##]; Рисунок 2. • ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [выше верхнего LoQ (порог количественного определения)] (POSITIVE [Above Upper LoQ]; Рисунок 3. • ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [Ниже LoD (порог обнаружения); >MR4,52/<0,003 % (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.003% (IS)]); Рисунок 4. • ABL ПРОЙДЕН (ABL PASS) — обнаружен транскрипт ABL с пороговым циклом (Ct) в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. • Если ABL имеет значение Ct ниже 18, в реакции присутствовало не менее 32000 копий ABL.^{17, 18} • Контроль зондов ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
<p>ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE)</p> <p>См. Рисунок 5.</p>	<p>Транскрипт BCR-ABL не обнаружен.</p> <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ [Достаточное содержание транскрипта ABL] (BCR-ABL NEGATIVE [Sufficient ABL transcript]) — транскрипт BCR-ABL не обнаружен и имеет пороговый цикл (Ct) выше действительного порога цикла. • ABL ПРОЙДЕН (ABL PASS) — обнаружен транскрипт ABL с пороговым циклом (Ct) в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога • Если ABL имеет значение Ct ниже 18, в реакции присутствовало не менее 32000 копий ABL.^{17, 18} • Контроль зондов ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
<p>НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)</p> <p>См. Рисунок 6.</p>	<p>Уровень транскрипта BCR-ABL определить невозможно.</p> <ul style="list-style-type: none"> • НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) — уровень транскрипта BCR-ABL определить невозможно, так как образец содержит слишком большое количество транскрипта BCR-ABL и/или ABL. Дополнительные инструкции по повторному выполнению теста образца приведены в Раздел 17. • ABL НЕ ПРОЙДЕН (ABL FAIL) — ABL имеет пороговый цикл (Ct) за пределами действительного диапазона или конечную точку ниже установленного порога. Дополнительные инструкции по повторному выполнению теста образца приведены в Раздел 17. • Контроль зондов ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
<p>ОШИБКА (ERROR)</p> <p>См. Рисунок 7.</p>	<p>Уровень транскрипта BCR-ABL определить невозможно. Дополнительные инструкции по повторному выполнению теста образца приведены в Раздел 17.</p> <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (BCR-ABL – NO RESULT) • ABL — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (ABL – NO RESULT) • Контроль зондов НЕ ПРОЙДЕН (Probe Check FAIL) — все или одна из проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены (-a). • Контроль зондов ПРОЙДЕН (Probe Check PASS) или Н/П (NA) и Прерывание давления (Pressure Abort). <p>Если контроль зондов пройден или завершился результатом Н/П (N/A), ошибка вызвана выходом предельного максимального давления за границы приемлемого диапазона или отказом компонента системы.</p>

Результат	Интерпретация
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Уровень транскрипта BCR-ABL определить невозможно. Для получения результата теста было собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если оператор прервал текущий процесс теста. Дополнительные инструкции по повторному выполнению теста образца приведены в Раздел 17.</p> <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (BCR-ABL NO RESULT) • ABL НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (ABL NO RESULT) • Контроль зондов Н/П (Probe Check NA)

14.1 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [# ,##% (IS) и MR# ,##] (POSITIVE [# ,##% (IS) and MR# ,##])

BCR-ABL обнаружен на уровне # ,## % (IS) и MR# ,##.

Если получен результат **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [# ,## % (IS) и MR# ,##] (POSITIVE [# ,##% (IS) and MR# ,##])**, BCR-ABL имеет обнаружимый уровень, причем Ct BCR-ABL больше или равен 8 и меньше или равен уровню отсечки 32, и Ct ABL больше или равен 8 и меньше или равен 18. Программное обеспечение GeneXpert рассчитывает соотношение в % (IS) с применением следующего уравнения, в котором значение дельта Ct (ΔCt) было вычислено как Ct ABL минус Ct BCR-ABL:

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

Прим. Переводной коэффициент (SF) является параметром, специфичным для партии, и включен в штрихкод картриджа теста. Значения этого коэффициента и специфичного для партии параметра эффективности теста ($E_{\Delta Ct}$) определены путем испытаний контроля качества каждой партии теста с применением вторичных стандартов, откалиброванных по международной референсной генетической панели ВОЗ для транскрипта BCR-ABL.⁷ Совместно взятые вторичные стандарты и специфичные для партии значения $E_{\Delta Ct}$ и SF устанавливают соответствие количественных результатов тестов с IS. Установленное для показанного здесь примера значение $E_{\Delta Ct}$ было равно 1,92, а значение SF было равно 1,22.

Пример: Специфичные для партии значения $E_{\Delta Ct} = 1,92$; $SF = 1,22$
Полученный в тесте результат Ct ABL = 11,3; Ct BCR-ABL = 18,0 ; $\Delta Ct = -6,7$
 $\% (IS) = 1,92^{(-6,7)} \times 100 \times 1,22 = 1,54 \%$ (IS)
 $MR_{x,xx} = \log_{10}[100/\text{определенный } \%$
 $(IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(1,54) = 2 - \log_{10}(1,54) = MR1,81$

Результат: **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [1,54 % (IS) и MR1,81] (POSITIVE [1.54% (IS) and MR1.81])**. См. Рисунок 2.

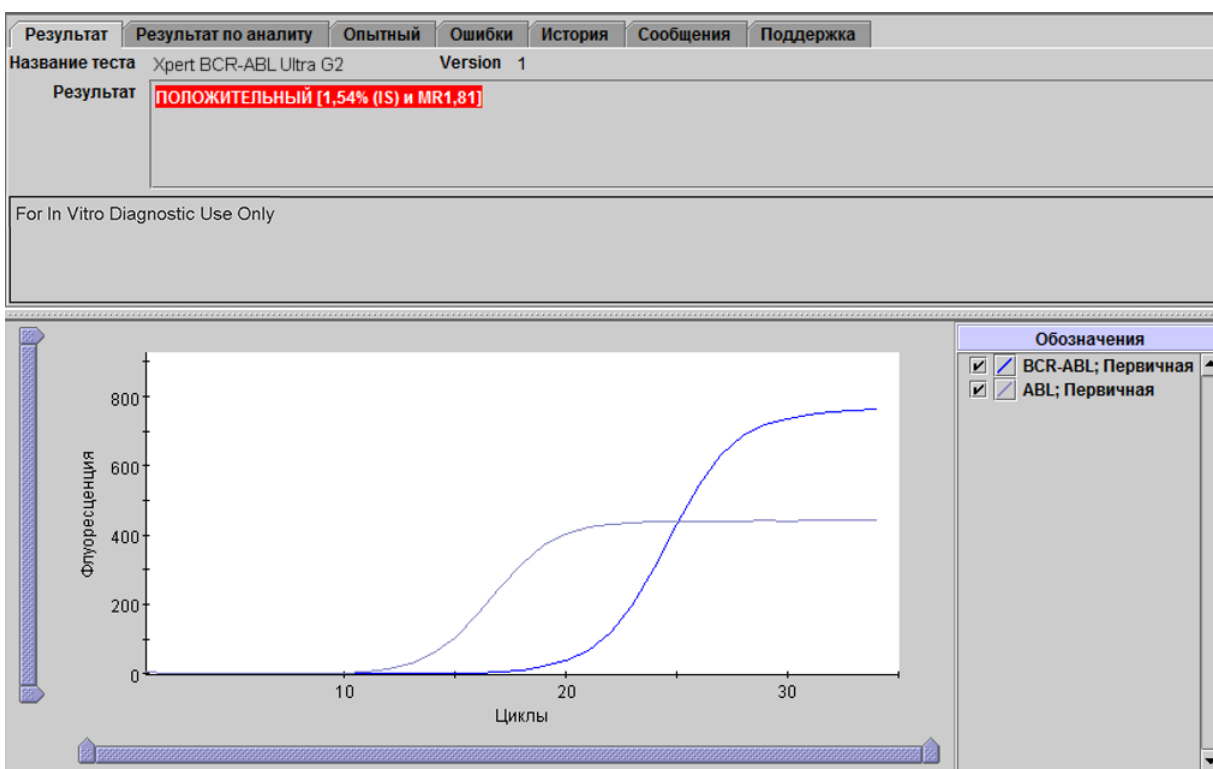


Рисунок 2. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneXpert Dx: ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [1,54% (IS) и MR1,81] (POSITIVE [1.54% (IS) and MR1.81])

14.2 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [Выше верхнего LoQ] (POSITIVE [Above Upper LoQ])

BCR-ABL был обнаружен на уровне $>55\%$ (IS) и $<MR0,26$.

Если получен результат **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [Выше верхнего LoQ] (POSITIVE [Above Upper LoQ])**, BCR-ABL имеет обнаружимый уровень, причем Ct BCR-ABL больше или равен 8 и меньше или равен уровню отсечки 32, и Ct ABL больше или равен 8 и меньше или равен 18. Программное обеспечение GeneXpert рассчитывает соотношение в % (IS) с применением следующего уравнения, в котором значение дельта Ct (ΔCt) было вычислено как Ct ABL минус Ct BCR-ABL:

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

Переводной коэффициент (SF) является параметром, специфичным для партии, и включен в штрихкод картриджа теста. Значения этого коэффициента и специфичного для партии параметра эффективности теста ($E_{\Delta Ct}$) определены путем испытаний контроля качества каждой партии теста с применением вторичных стандартов, откалиброванных по международной референсной генетической панели ВОЗ для транскрипта BCR-ABL.⁷ Совместно взятые вторичные стандарты и специфичные для партии значения $E_{\Delta Ct}$ и SF устанавливают соответствие количественных результатов тестов с IS. Установленное для показанного здесь примера значение $E_{\Delta Ct}$ было равно 1,92, а значение SF было равно 1,10.

Прим.

Пример:

Специфичные для партии значения $E_{\Delta Ct} = 1,92$; $SF = 1,10$

Полученный в тесте результат Ct ABL = 13,4; Ct BCR-ABL = 14,2 ; $\Delta Ct = -0,8$

$\% (IS) = 1,92^{(-0,8)} \times 100 \times 1,10 = 65\%$ больше установленного для теста верхнего значения LoQ 55% (IS)

$MR_{x,xx} = \log_{10}[100/\text{определенный } \%$

$(IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(65) = 2 - \log_{10}(65) = MR0,19$ меньше установленного для теста верхнего значения LoQ при $MR0,26$.

Результат: **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [выше верхнего LoQ] (POSITIVE [Above Upper LoQ])**. См. Рисунок 3.

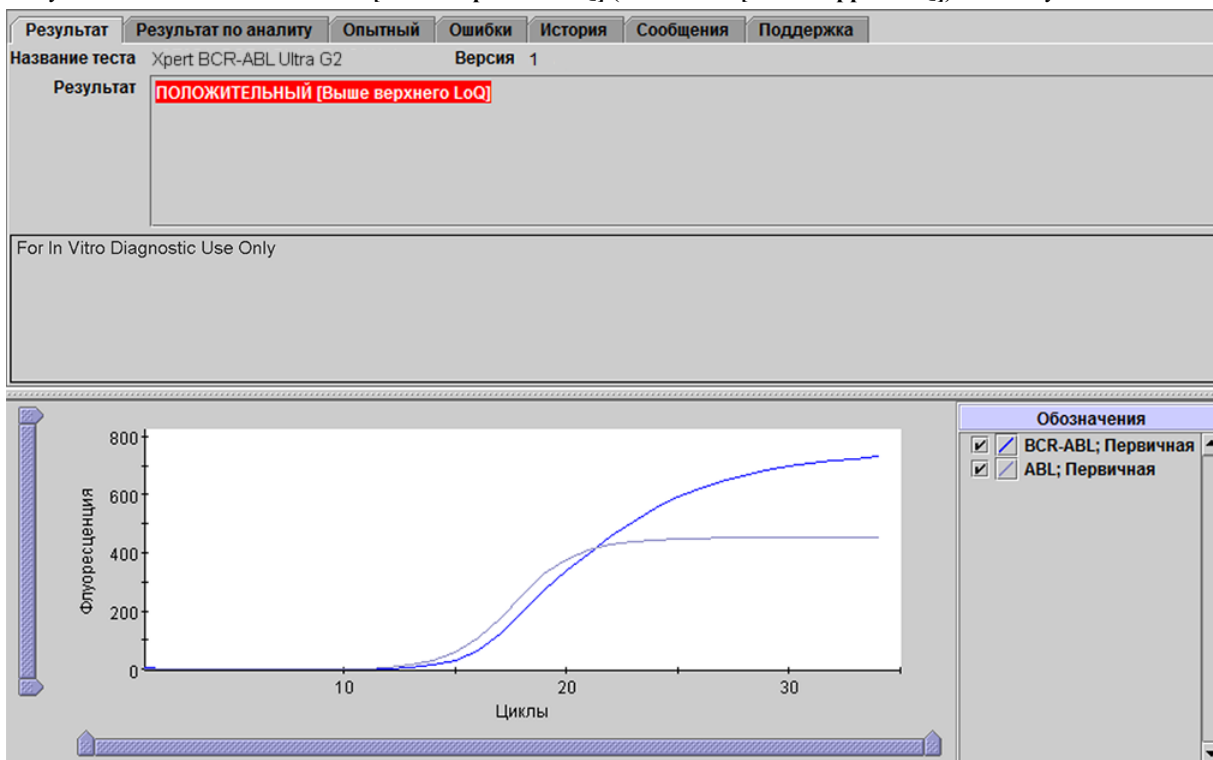


Рисунок 3. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneXpert
Dx: **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [Выше верхнего LoQ] (POSITIVE [Above Upper LoQ])**

14.3 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [ниже LoD; $MR > 4,52 / < 0,0030\%$ (IS)] (POSITIVE [Below LoD; $MR 4.52 / 0.0030\%$ (IS)])

BCR-ABL обнаружен на уровне $< 0.0030\%$ (IS) and $> MR 4,52$.

Если получен результат **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [Ниже LoD; $> MR 4,52 / < 0,003\%$ (IS)] (POSITIVE [Below LoD; $> MR 4.52 / < 0.003\%$ (IS)])**, BCR-ABL имеет обнаружимый уровень, причем Ct BCR-ABL больше или равен 8 и меньше или равен уровню отсечки 32, и Ct ABL больше или равен 8 и меньше или равен 18. Программное обеспечение GeneXpert рассчитывает соотношение в % (IS) с применением следующего уравнения, в котором значение дельта Ct (ΔCt) было вычислено как Ct ABL минус Ct BCR-ABL

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

Переводной коэффициент (SF) является параметром, специфичным для партии, и включен в штрихкод картриджа теста. Значения этого коэффициента и специфичного для партии параметра эффективности теста ($E_{\Delta Ct}$) определены путем испытаний контроля качества каждой партии теста с применением вторичных стандартов, откалиброванных по международной референсной генетической панели ВОЗ для транскрипта BCR-ABL.⁷ Совместно взятые вторичные стандарты и специфичные для партии значения $E_{\Delta Ct}$ и SF устанавливают соответствие количественных результатов тестов с IS. Установленное для показанного здесь примера значение $E_{\Delta Ct}$ было равно 1,91, а значение SF было равно 1,14.

Прим.

Пример: Специфичные для партии значения $E_{\Delta Ct} = 1,91$; $SF = 1,14$

Полученный в тесте результат Ct ABL = 12,5; Ct BCR-ABL = 29 ; $\Delta Ct = -16,6$

$\% (IS) = 1,91^{(-16,6)} \times 100 \times 1,14 = 0,0025\%$ меньше установленного для теста значения LoD $0,0030\%$ (IS)

$MR_{x,xx} = \log_{10}[100/\text{определенный \% (IS)}] = \log_{10}(100) - \log_{10}(0,0025) = 2 - \log_{10}(0,0025) = MR 4,60$
больше установленного для теста значения LoD при $MR 4,52$.

Результат: **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [Ниже LoD; >MR4,52/<0,0030 % (IS)]** (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)]). См. Рисунок 4.

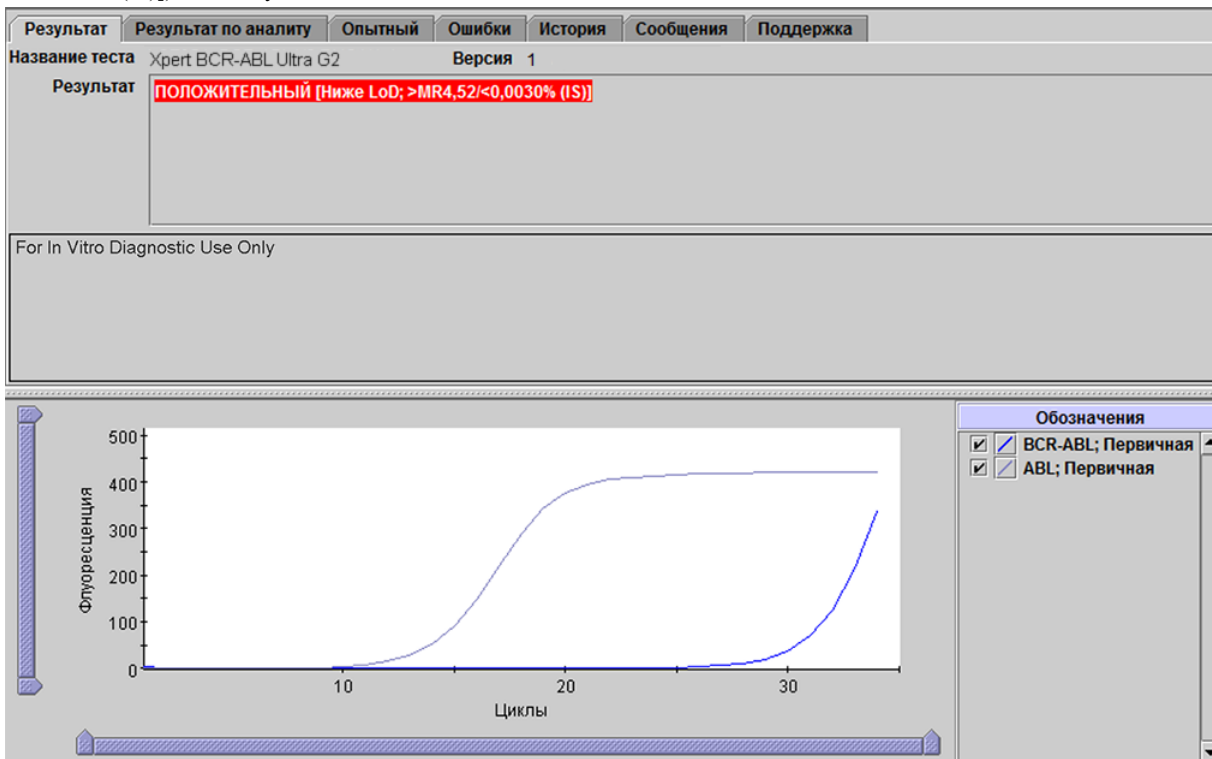


Рисунок 4. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneXpert Dx: **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [ниже LoD; >MR4,52/<0,0030 % (IS)]** (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])

14.4 ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ [Достаточное содержание транскрипта ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL не обнаружен, причем Ct BCR-ABL равен 0 или больше уровня отсечки 32, и Ct ABL больше 8 и меньше или равен 18.

Если BCR-ABL имеет необнаружимый уровень, причем Ct BCR-ABL равен 0 или больше уровня отсечки 32, программное обеспечение GeneXpert сначала проверяет Ct ABL, чтобы подтвердить, что Ct ABL больше или равен 8 и меньше или равен 18, чтобы выдать результат «Достаточное содержание транскрипта ABL» (Sufficient ABL transcript). См. Таблица 1.

Пример:

Полученный в тесте результат Ct BCR-ABL = 0; Ct ABL = 11,3, что меньше, чем 18.

Результат: **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ [Достаточное содержание транскрипта ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])**. См. Рисунок 5.

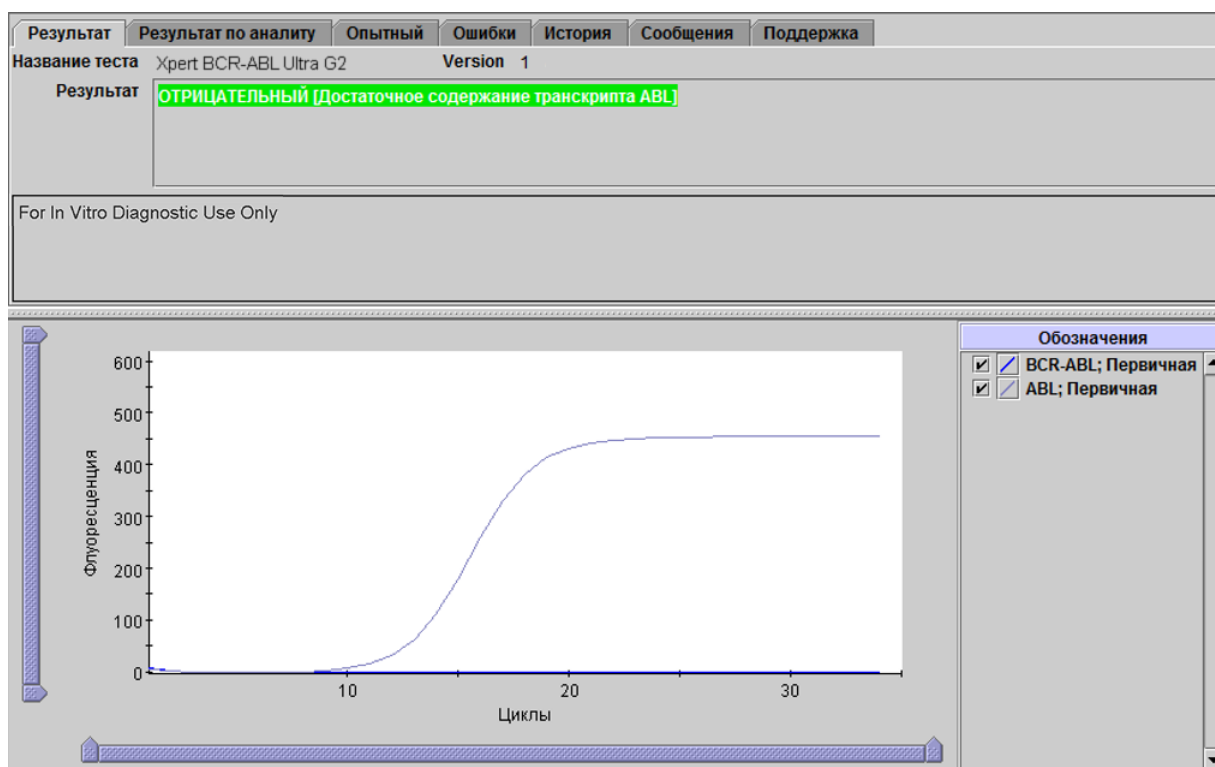


Рисунок 5. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneXpert Dx: ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ [Достаточное содержание транскрипта ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])

14.5 НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Недостаточное содержание транскрипта ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL обнаружен или не обнаружен при Ct ABL больше 18.

Если BCR-ABL обнаружен или не обнаружен, программное обеспечение GeneXpert сначала проверяет Ct ABL, чтобы подтвердить, что Ct ABL меньше или равен 18, чтобы выдать результат «Достаточное содержание транскрипта ABL». См. Раздел 17.

Пример:

Полученный в тесте результат Ct BCR-ABL = 0; Ct ABL = 24, что больше, чем 18.

Результат: **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Недостаточное содержание транскрипта ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. См. Рисунок 6.

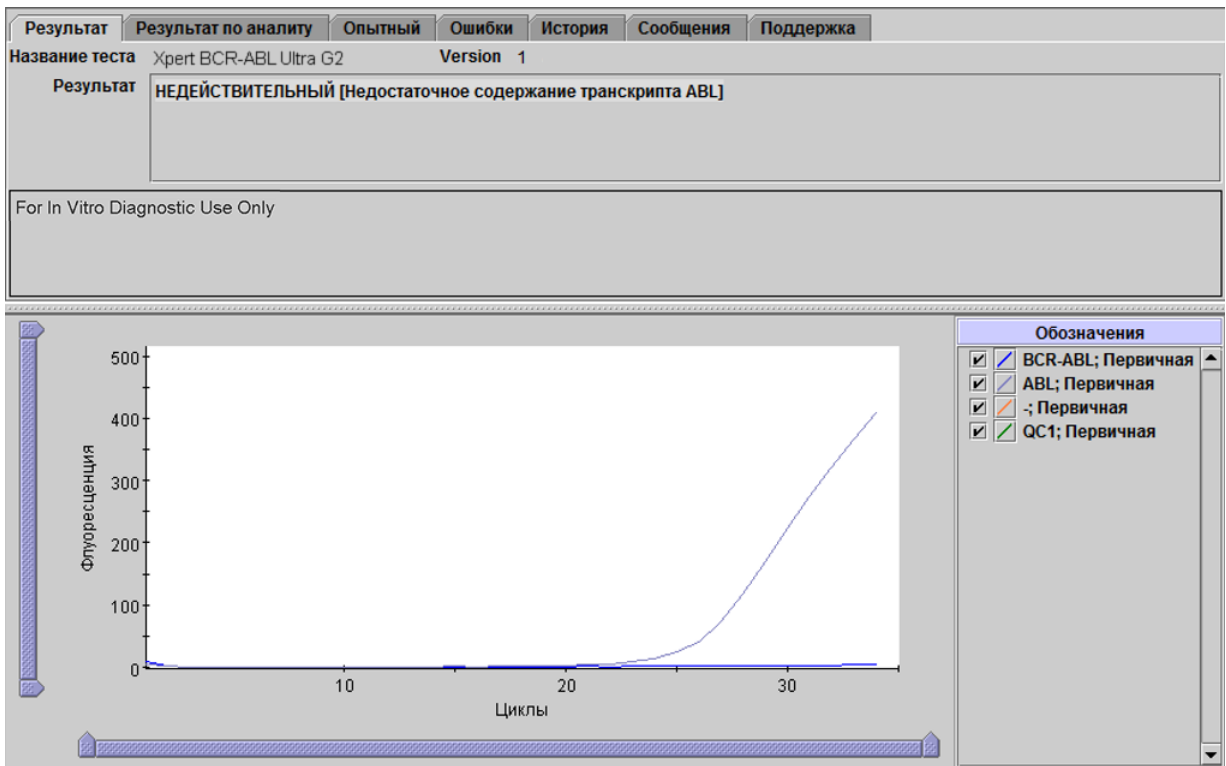


Рисунок 6. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneXpert Dx: НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Недостаточное содержание транскрипта ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

14.6 ОШИБКА (ERROR)

Результат	Результат по анализу	Опытный	Ошибки	История	Сообщения	Поддержка
Название теста	Хpert BCR-ABL Ultra G2		Версия 1			
Результат	ОШИБКА					
For In Vitro Diagnostic Use Only						
<Нет данных>						

Рисунок 7. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneХpert Dx: ОШИБКА (ERROR)

15 Количественные результаты

Сертификат анализа прилагается к каждому набору теста Хpert BCR-ABL Ultra. В нем указывается характерная для партии стандартная кривая для набора Хpert BCR-ABL Ultra и значение эффективности (E_{ACI}). Значение эффективности включено в штрихкод картриджа Хpert BCR-ABL Ultra. В сертификате анализа приведены подробные расчеты значения эффективности. В штрих-коде каждой партии наборов также содержится специфичный для партии переводной коэффициент (SF), который связывает результат количественного теста с международной шкалой (IS)⁷. Результаты теста представлены в количественном виде как в процентах (IS), так и величинах молекулярного ответа (MR) (см. Таблица 2 и Таблица 3). Эти количественные показатели следует интерпретировать в контексте точности теста Хpert BCR-ABL (см. Раздел 22, Точность и воспроизводимость).

Таблица 2. Соотношение логарифма снижения, международной шкалы (IS) и молекулярного ответа (MR)

Логарифм снижения в % BCR-ABL/ABL (IS)	MR	% BCR-ABL/ABL (IS) ^a
0	0	100
1	1	10
2	2	1
3	3	0,1
4	4	0,01
4,5	4,5	0,0032

Логарифм снижения в % BCR-ABL/ABL (IS)	MR	% BCR-ABL/ABL (IS) ^a
5	5	0,001

^a % BCR-ABL/ABL (IS) = % (IS).

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

Таблица 3. Примеры результатов теста Xpert BCR-ABL Ultra

Тест	BCR-ABL		ABL		Xpert BCR-ABL Ultra Результаты теста	Примечания
	Ct	Результат	Ct	Результат		
1	7,1	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	7,3	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Слишком высокое содержание транскриптов BCR-ABL и ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL and ABL transcripts])	Расчетное значение %: 149,92 %
2	8,1	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	7,9	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Слишком высокое содержание транскрипта ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])	Расчетное значение %: 121,05 %
3	7,9	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	8,1	ПРОЙДЕН (PASS)	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Слишком высокое содержание транскрипта BCR-ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL transcript])	Расчетное значение %: 149,92 %
4	11,4	ПОЛОЖ.	10,9	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [Выше верхнего LoQ] (POSITIVE [Above Upper LoQ])	Расчетное значение %: 78,92 %
5	18,2	ПОЛОЖ.	13,5	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [33,93 % (IS) и MR 0,47] (POSITIVE [33.93% (IS) and MR0.47])	Расчетное значение %: 33,93 %
6	21,4	ПОЛОЖ.	13,4	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [4,68 % (IS) и MR 1,33] (POSITIVE [4.68% (IS) and MR1.33])	Расчетное значение %: 4,68 %
7	28,6	ПОЛОЖ.	15,2	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [0,012 % (IS) и MR 3,92] (POSITIVE [0.012% (IS) and MR3.92])	Расчетное значение %: 0,012 %
8	30,0	ПОЛОЖ.	12,7	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [ниже LoD; MR>4,52/<0,0030 % (IS)] (POSITIVE [Below LoD; MR4.52/0.0030% (IS)])	Расчетное значение %: 0,0008 %
9	0	ОТРИЦ	13,3	ПРОЙДЕН (PASS)	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ [Достаточное содержание транскрипта ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	0 %
10	31,6	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	18,2	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Недостаточное содержание транскрипта ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Н/П

Тест	BCR-ABL		ABL		Хpert BCR-ABL Ultra Результаты теста	Примечания
	Ct	Результат	Ct	Результат		
11	0	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	18,6	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Недостаточное содержание транскрипта ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Н/П
12	0	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	0	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ [Нет транскрипта ABL] (INVALID [No ABL transcript])	Н/П
13	0	НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	0	НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	ОШИБКА (ERROR)	Например, «Ошибка 5017» (Error5017): [ABL] сбой контроля зондов. ([ABL] probe check failed)

16 Ограничения теста

- Данное изделие предназначено только для выполнения диагностических тестов *in vitro*.
- Тест не предназначен для использования с внешними калибраторами.
- Прецизионность теста на уровне ниже MR4,5 не установлена и не гарантируется.
- Тест не предназначен для обоснования прекращения лечения ингибиторами тирозинкиназы и для мониторинга после прекращения лечения этими препаратами.
- Функциональные характеристики теста Хpert BCR-ABL Ultra оценивались с использованием процедур, описанных в данной инструкции по применению. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста.
- Данный продукт был валидирован для использования с образцами крови, собранными в пробирки с ЭДТА.
- Не используйте гепарин в качестве антикоагулянта, так как он может ингибировать реакцию ПЦР.
- Образцы в цитрате натрия, образцы лейкоцитной пленки и образцы костного мозга не были валидированы.
- Ошибочные результаты теста могут быть связаны с неправильным сбором образца, ненадлежащим обращением с образцом и его хранением, или со смешиванием образцов. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно следовать указаниям, представленным в инструкции по применению.
- Тест Хpert BCR-ABL Ultra предназначен исключительно для обнаружения, но не различения химерных транскриптов p210 BCR-ABL e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2. Возможность обнаружения других химерных транскриптов не изучалась, помимо данных, представленных в настоящей инструкции по применению. Тест не позволяет обнаруживать малые или микроразрывы, микроделеции или мутации.
- Тест Хpert BCR-ABL Ultra не обнаруживает e1a2 (p190), e19a2 (p230) или другие малые транслокации, которые могут присутствовать в образце периферической крови больного лейкоемией.
- Тест Хpert BCR-ABL Ultra не обнаруживает aberrантные химерные транскрипты e13a2/b2a2, в которых удалены части последовательности, прилегающие к точке разрыва.
- При анализе некоторых образцов с очень высоким содержанием лейкоцитов (более 30 миллионов клеток в 1 мл) тест Хpert BCR-ABL Ultra может дать результаты **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** (тип 2) из-за высоких уровней BCR-ABL или ABL в образце. Дополнительная информация дана в Таблица 4.
- Некоторые образцы с очень низкими уровнями транскрипта ABL или числом лейкоцитов менее 150000 клеток в 1 мл могут дать результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** (тип 1). Неопределенный результат не исключает присутствия у пациента очень малых количеств лейкозных клеток.
- При ХМЛ транскрипт p230 с точкой микроразрыва e19a2 может дать результат, положительный в отношении BCR-ABL, ниже LoD теста (0,0030 % (IS)/MR 4,52) в случае применения высоких концентраций целевой последовательности (>3,52 порядка выше LoD).
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут отрицательно повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов вирусов и привести к получению ложно-отрицательных результатов.

- Результаты Xpert BCR-ABL Ultra следует использовать совместно с историей болезни пациента, включая клиническую и лабораторную информацию в соответствии с рекомендациями NCCN, ELN и ESMO в зависимости от обстоятельств для полной клинической интерпретации и для лечения пациента.
- У некоторых пациентов с очень низкими уровнями транскрипта BCR-ABL1 (т. е. ниже LoD 0,0030 % (IS) или выше MR 4,52) может быть зарегистрирован результат **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ [Достаточное содержание транскрипта ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])**. Таким образом, если в результатах теста сообщается, что транскрипт не обнаружен, это не исключает присутствия у пациента лейкоэмических клеток в небольших количествах.
- Тест утвержден для использования в GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI) и системе GeneXpert Infinity System (Infinity-48s и Infinity-80).

17 Руководство по поиску и устранению неисправностей

Таблица 4. Руководство по поиску и устранению неисправностей

Результат теста » (Test Result)	Возможные причины	Рекомендации
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	<p>Тип 1: Ошибка эндогенного контроля ABL:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Низкое качество пробы • Ингибирование ОТ-ПЦР • Если значение ABL Ct > 18 и (или) конечная точка <200 	<ul style="list-style-type: none"> • Проверьте качество образца (например, выход параметров, в том числе времени или температуры, за пределы допустимых значений при хранении образца). • Повторите тест с исходным образцом (если он имеется) или сохраненным лизатом и новым картриджем, выполняя процедуру, описанную в разделе 18.1 «Процедура повторного выполнения теста при сообщениях ОШИБКА (ERROR) или НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (тип 1)».
	<p>Тип 2: Уровень транскрипта BCR-ABL определить невозможно, так как образец содержит слишком большое количество транскрипта BCR-ABL и (или) ABL (Ct < 8)</p>	<p>Повторите тест с исходным образцом (если он имеется) или сохраненным лизатом и новым картриджем, выполняя процедуру, описанную в разделе 18.2 «Процедура повторного выполнения теста при сообщениях ОШИБКА (ERROR) (код 2008) или НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (тип 2)».</p>
ОШИБКА (ERROR) (код 2008)	<p>Давление, превышающее предельное значение (сообщение об ошибке 2008)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Проверьте качество образца. • Убедитесь в отсутствии значительного повышения количества лейкоцитов. • Повторите тест с исходным образцом (если он имеется) или сохраненным лизатом и новым картриджем, выполняя процедуру, описанную в разделе 18.2 «Процедура повторного выполнения теста при сообщениях ОШИБКА (ERROR) (код 2008) или НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (тип 2)».

Результат теста » (Test Result)	Возможные причины	Рекомендации
ОШИБКА (ERROR) (код 5006, 5007, 5008 и 5009^a)	Сбой контроля зондов	Повторите тест с исходным образцом (если он имеется) или сохраненным лизатом и новым картриджем, выполняя процедуру, описанную в разделе 18.1 «Процедура повторного выполнения теста при сообщениях ОШИБКА (ERROR) или НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (тип 1)».
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	Сбой сбора данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.	Повторите тест с исходным образцом (если он имеется) или сохраненным лизатом и новым картриджем, выполняя процедуру, описанную в разделе 18.1 «Процедура повторного выполнения теста при сообщениях ОШИБКА (ERROR) или НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (тип 1)».

^a Это не исчерпывающий список кодов ОШИБОК.

18 Повторное выполнение теста

18.1 Процедура повторного выполнения теста при сообщениях ОШИБКА (ERROR) или НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (тип 1)

Повторите тест с образцами при получении результатов **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** из-за того, что порог цикла (Ct) ABL превышает максимальное действительное значение отсечки Ct (Ct >18) или конечная точка находится ниже заданного порога (<200). См. также Таблица 4.

1. При наличии *достаточного* объема образца крови, повторите тест с исходным образцом из пробирки для сбора крови, выполняя процедуру, описанную в Раздел 11.2, Подготовка образца.

-ИЛИ-

При *недостаточном* объеме образца крови можно выполнить повторный тест с сохраненным лизатом, как описано в Раздел 11.2, Подготовка образца, действие 12.

- a) Если лизат, сохраненный в Раздел 11.2, Подготовка образца, действие 12, хранится замороженным, перед использованием доведите его температуру до комнатной.
 - b) Для тщательного перемешивания лизата обработайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд и отстаивайте его в течение 3 минут для отделения пузырьков. Перейдите к действию 2.
2. Перенесите 1 мл приготовленного лизата в новую коническую пробирку вместимостью 50 мл.
 3. Внесите 1,5 мл лизирующего реактива (LY) в новую коническую пробирку, содержащую лизат.
 4. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд.
 5. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 10 минут.
 6. В ту же коническую пробирку внесите 2 мл абсолютного этанола категории «чистый для анализа» (не входит в комплект поставки).
 7. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд.
 8. Откройте картридж, подняв его крышку, и перенесите все содержимое ампулы с промывающим реактивом (1) в камеру промывающего реактива (с малым отверстием). См. Рисунок 1.
 9. Перенесите пипеткой весь подготовленный образец в камеру для образца (с большим отверстием). См. Рисунок 1.
 10. Закройте крышку картриджа. Начните тест (см. Раздел 11.4).

18.2 Процедура повторного выполнения теста при сообщениях ОШИБКА (ERROR) (код 2008) или НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (тип 2)

Выполните повторный тест образцов, в которых уровни транскриптов BCR-ABL и/или ABL ниже минимального уровня отсечки Ct (Ct<8) и/или если превышено предельное давление. См. также Таблица 4.

1. На дно новой конической пробирки вместимостью 50 мл внесите 100 мкл РК (протеиназы К).
2. При наличии *достаточного* объема образца крови повторите тест с исходным образцом из пробирки для сбора образцов. Обеспечьте хорошее перемешивание образца крови, переворачивая пробирку с собранной кровью 8 раз непосредственно перед пипетированием. Перейдите к действию 4.

-ИЛИ-

При *недостаточном* объеме образца крови можно выполнить повторный тест с лизатом, сохраненным в Раздел 11.2, Подготовка образца, действие 12.

- a) Если лизат, сохраненный в Раздел 11.2, Подготовка образца, действие 12, хранится замороженным, перед использованием доведите его температуру до комнатной. Если используется охлажденный лизат, доведите его до комнатной температуры перед использованием.
 - b) Для тщательного перемешивания лизата обработайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд и отстаивайте его в течение 3 минут для отделения пузырьков. Перейдите к действию 3.
3. В пробирку, уже содержащую протеиназу К, добавьте 50 мкл образца крови, если он имеется, или 80 мкл лизата, оставшегося после действий, описанных в Раздел 11.2, Подготовка образца.
 - a) Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 3 секунд.
 - b) Инкубируйте при комнатной температуре в течение 1 минуты.
 4. Внесите 2,5 мл лизирующего реактива (LY) в новую коническую пробирку, содержащую лизат.
 5. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд.
 6. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 10 минут.
 7. В ту же коническую пробирку внесите 2 мл абсолютного этанола категории «чистый для анализа» (не входит в комплект поставки).
 8. Перемешайте образец на вихревой мешалке с максимальной скоростью непрерывно в течение 10 секунд.
 9. Откройте картридж, подняв его крышку, и перенесите все содержимое ампулы с промывающим реактивом (1) в камеру промывающего реактива (с малым отверстием). См. Рисунок 1.
 10. Перенесите пипеткой весь подготовленный образец в камеру для образца (с большим отверстием). См. Рисунок 1.
 11. Закройте крышку картриджа. Начните тест (см. Раздел 11.4).

19 Ожидаемые значения

Диапазон определения теста Xpert BCR-ABL Ultra покрывает основные клинические точки принятия решений относительно мониторинга ХМЛ (в пределах МО от 1 до 4,5)⁵ с количественным определением мРНК BCR-ABL (транскрипты e13a2/b2a2 или e14a2/b3a2) и эндогенным контролем мРНК ABL. Диапазон ожидаемых значений находится в Xpert BCR-ABL Ultra пределах диапазона от 0,0030 до 55 % (IS) (МО от 4,52 до 0,26).

20 Клинические функциональные характеристики

Клинические функциональные характеристики теста Xpert BCR-ABL Ultra прошли валидацию в четырех учреждениях США в ходе многоцентрового клинического исследования. Другие три учреждения использованы только для взятия образцов. Исследование использовало только свежие образцы цельной крови, в плановом порядке собранные в пробирки с ЭДТА, взятые у пациентов с любой стадией развития ХМЛ после первоначального диагноза, независимо от того, получали ли они ранее ингибиторы тирозинкиназы или иной метод лечения ХМЛ. Кроме того, в исследование были включены ранее взятые образцы, хранимые в виде замороженных лизатов, приготовленных из обработанной ЭДТА цельной крови той же популяции пациентов. Функциональные характеристики теста Xpert BCR-ABL Ultra были сопоставлены с утвержденным FDA (Управление по пищевым продуктам и лекарственным препаратам США) молекулярным тестом, который выявляет и количественно определяет мРНК транскрипты с типами транслокаций p210 (e13a2/b2a2 или e14a2/b3a2) и использует ABL в качестве эндогенного контроля транскрипции мРНК.

В исследование были первоначально включены 266 пригодных для анализа образцов, из которых 57 были исключены вследствие применения устаревшей процедуры в методе экстракции (27), незавершения пациентом процедуры взятия крови (8), задержки при отправке или выполнении теста (6), недостаточного для анализа объема (6), невыполнение теста сравнения (6) или выполнения теста с неверным файлом с описанием теста Хpert BCR-ABL Ultra (4), после чего остались 209 образцов, которые были исследованы.

При анализе этих 209 образцов 97,1 % (203/209) результатов теста Хpert BCR-ABL Ultra были успешными при первой попытке, что дало процент неопределенных результатов 2,9 % (6/209), и 99,5 % (208/209) были успешными при повторном тесте, что дало конечный процент неопределенных результатов 0,5 % (1/209).

Из 208 доступных для анализа образцов 150 (72,1 %) были замороженными лизатами и 58 (27,9 %) были свежими, взятыми в плановом порядке образцами, взятыми у лиц с известными демографическими данными. Из свежих образцов были 24 (41,4%) собраны у пациентов женского пола и 34 (58,6%) – у пациентов мужского пола. Средний возраст пациентов, у которых были взяты свежие образцы, был 60,5 года (от 28 до 85 лет).

Из 208 доступных для анализа образцов 147 дали результаты в пределах количественных сообщаемых диапазонов обоих тестов [0,0030 – 55 % (IS)/MR 4,52 – MR0,26 для Хpert BCR-ABL Ultra и 0,0020 % – 50 % (IS)/MR4,72 – MR0,30 для теста сравнения]: из них 117 были сохраненными замороженными лизатами и 30 были полученными проспективно свежими образцами. Функциональные характеристики теста Хpert BCR-ABL Ultra по сравнению с тестом сравнения оценивали методом регрессии Деминга для определения угла наклона и точки пересечения. Рисунок 8 показывает регрессию Деминга и линейный регрессионный анализ 147 результатов тестов (значения MR).

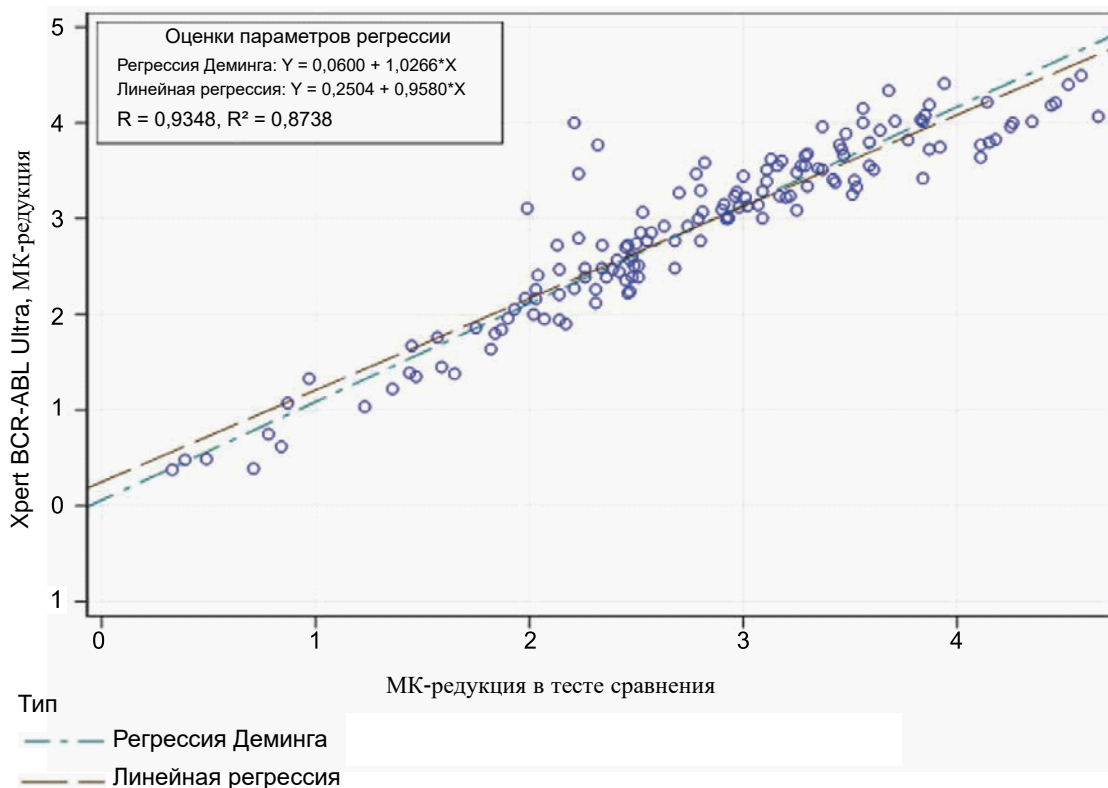


Рисунок 8. Анализ методами регрессии Деминга и линейной регрессии

Угол наклона и точка пересечения в регрессии Деминга были соответственно равны 1,0266 и 0,0600. Для этих результатов расчетная систематическая ошибка MMR (MR3) составила MR0,1244 (95 % доверительный интервал 0,0969 – 0,1519).

Дифференциальный анализ Бланда-Альтмана был также выполнен с применением 147 количественных результатов, находившихся в действительных диапазонах теста Хpert BCR-ABL Ultra и теста сравнения. Анализ Бланда-Альтмана (см. Рисунок 9) показывают наблюдаемые верхние и нижние границы удвоенного СО различий средних величин. Также показана линия тренда систематической ошибки на всем диапазоне MR.

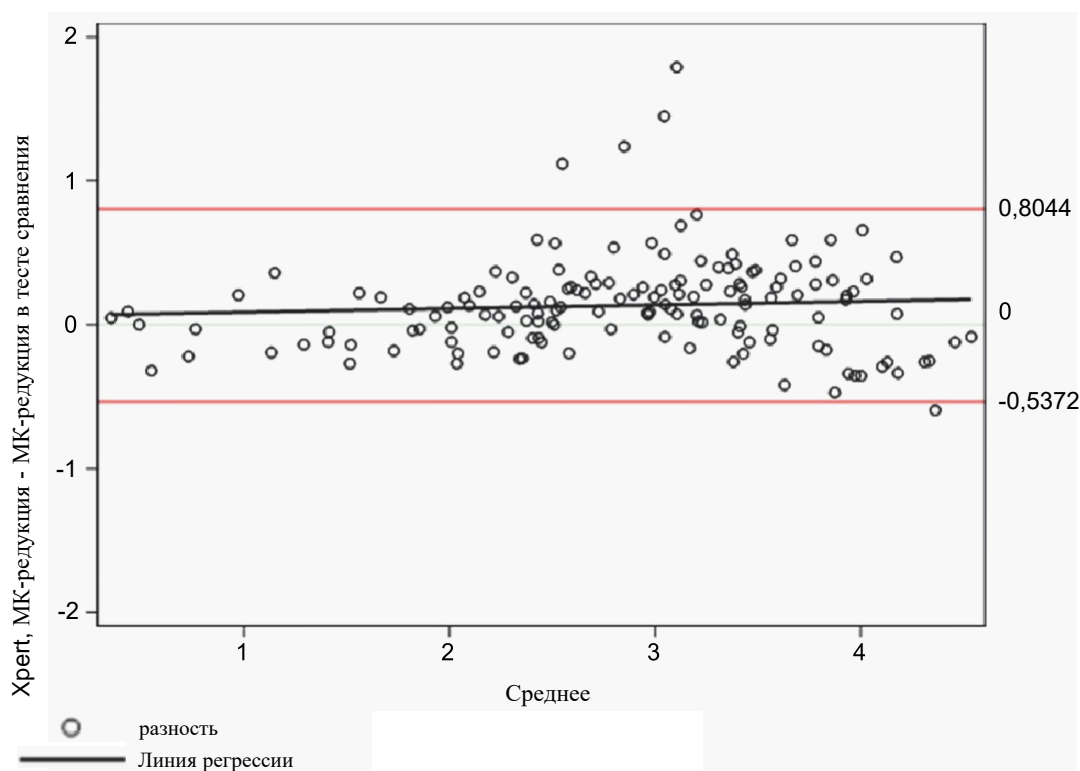


Рисунок 9. Xpert BCR-ABL Ultra Сравнение MR с тестом сравнения BCR-ABL: дифференциальный анализ Бланда-Альтмана

Вычисленная средняя разность (систематическая ошибка) составила 0,1336 при СО 0,3354. Большинство (96,6 %, 142/147) результатов находилось в пределах удвоенного СО (между -0,5372 и 0,8044).

21 Аналитические функциональные характеристики

21.1 Соответствие панели ВОЗ

Соответствие 1-й международной генетической референсной панели (International Genetic Reference Panel) ВОЗ для количественного определения транслокации BCR-ABL методом ОТ-ПЦР (код NIBSC: 09/138) было установлено путем измерений референсной панели ВОЗ с применением 3 партий теста Xpert BCR-ABL Ultra и сравнения измеренных значений со значениями, опубликованными в инструкции по применению референсной панели.¹⁹ Каждый из 4 компонентов референсной панели был исследован не менее чем в 10 повторностях с каждой партией наборов теста. Измеренные значения MR для каждого уровня первичной панели ВОЗ были подвергнуты регрессионному анализу относительно каждой партии теста Xpert BCR-ABL Ultra (т. е. компоненты панели ВОЗ были использованы как клинические образцы и встроены в модель линейной регрессии стандартной кривой теста). Кроме того, измеренные значения молекулярного ответа (МО) были сопоставлены с опубликованными значениями МО путем дополнительного регрессионного анализа для определения значений коэффициента наклона и точки пересечения. Коэффициент наклона был близок к единице (от 0,96 до 1,1), и расчетная точка пересечения была близка к нулю (от -0,03 до -0,06).

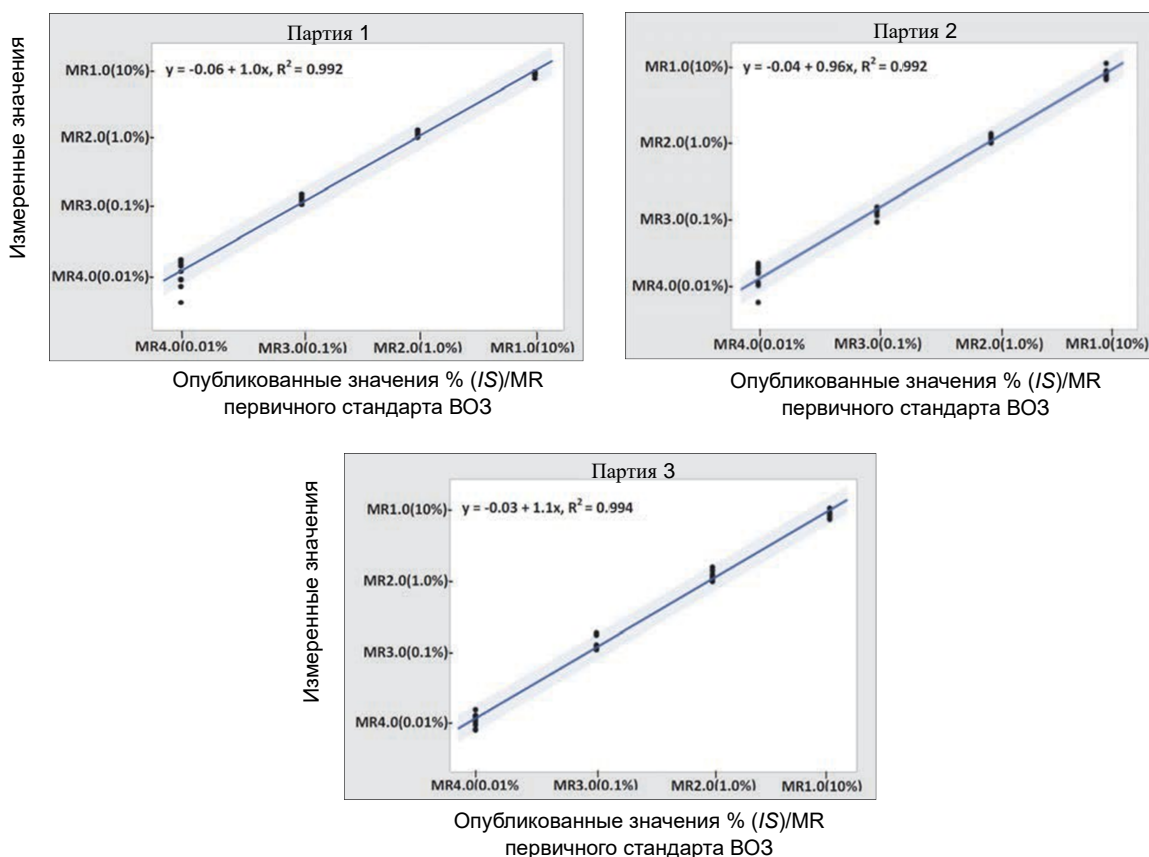


Рисунок 10. Сравнение измеренных и опубликованных значений для первичной референсной панели ВО3: разные партии.

Хpert BCR-ABL Ultra Графическое представление значений МО, полученные с применением набора (ось y) и значений МО, опубликованных в инструкции по применению первичной референсной панели ВО3 (ось x). Эти три партии представлены (черными) точками данных. Результаты регрессионного анализа и доверительные интервалы основаны на данных, полученных отдельно с каждой партией.

21.2 Диапазон линейности/динамический диапазон

Линейность оценивали независимо для каждой из двух основных точек разрыва e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2 с применением клинических образцов, полученных от больных ХМЛ, имеющих высокий уровень одной из точек разрыва e13a2/b2a2 или e14a2/b3a2. Лизат каждого образца ХМЛ с высоким уровнем транскрипта BCR-ABL разводили в исходном лизате, приготовленном из ХМЛ-отрицательного клинического образца, до целевого диапазона от ~50 % (IS)/MR0.30 до 0,000625 % (IS)/MR5.20. Компоненты панели, включая отрицательный уровень, были исследованы с применением двух партий наборов теста в 4 повторностях на каждую партию набора.

Исследования и статистический анализ были выполнены в соответствии с CLSI EP06-A. Линейные регрессионные анализы были выполнены для полиномов первой, второй и третьей степени. Результаты для каждой точки разрыва были сочтены линейными, если коэффициенты полиномиальной регрессии были незначимыми ($p > 0.05$). Графики линейной регрессии для обоих транскриптов показаны ниже на Рисунок 11 и Рисунок 12.

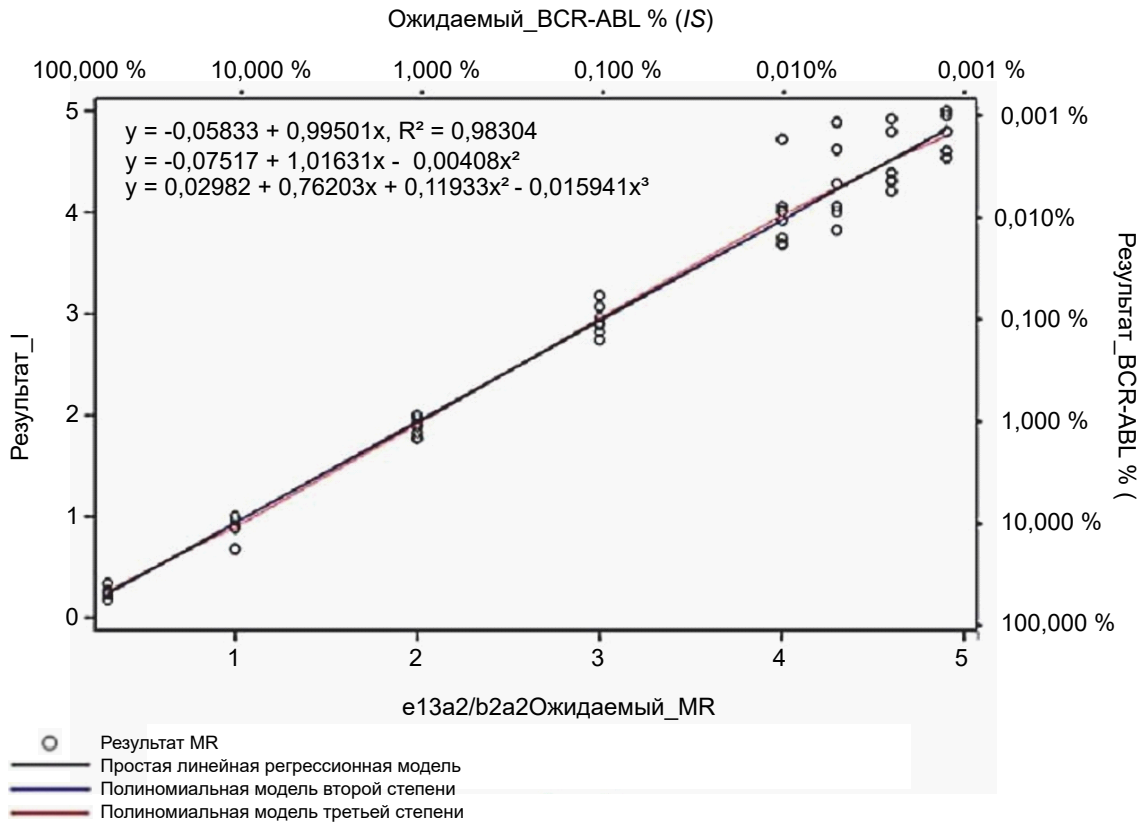


Рисунок 11. Графики линейной регрессии для транскрипта с точкой разрыва e13a2/b2a2

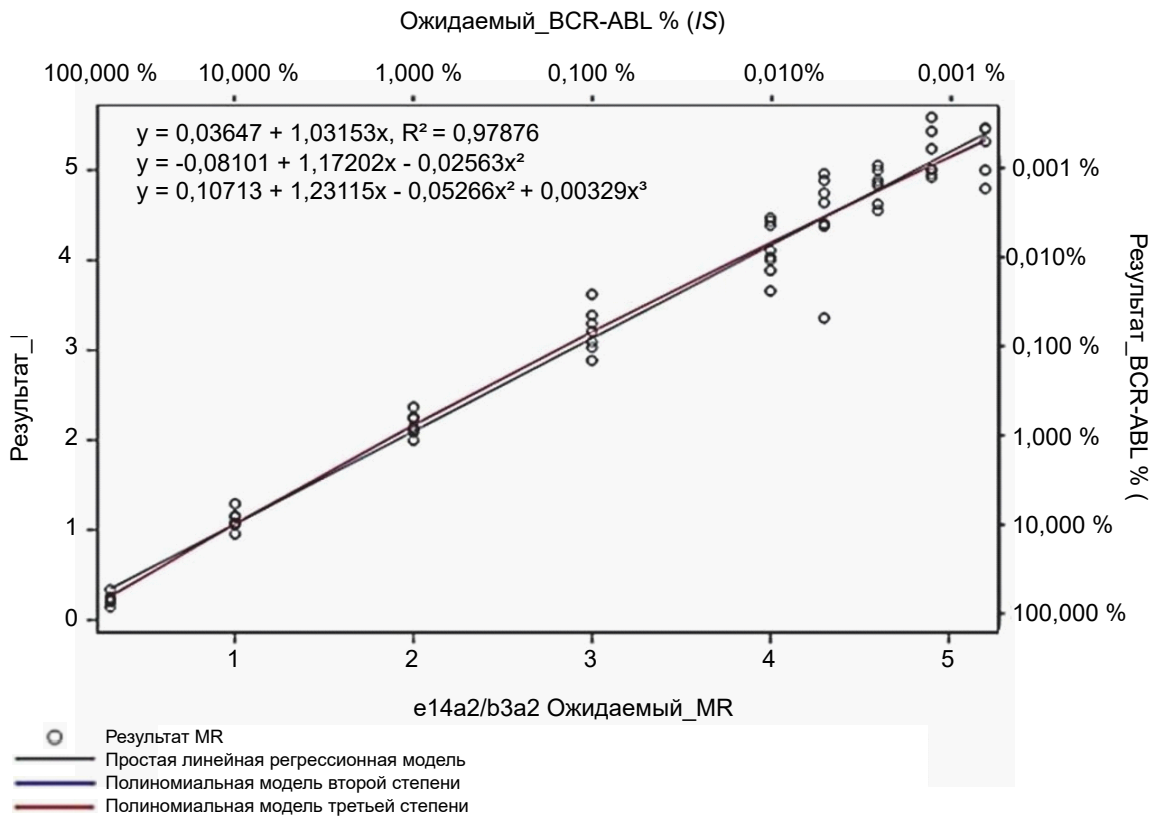


Рисунок 12. Графики линейной регрессии для транскрипта с точкой разрыва e14a2/b3a2

Вычисленные методом регрессии значения точек пересечения, коэффициентов наклона и R^2 для линейной модели показаны в Таблица 5.

Таблица 5. Коэффициенты регрессии в линейной модели

Точка разрыва	Точка пересечения	Коэффициент наклона	R^2
e13a2/b2a2	-0,05833	0,99501	0,98304
e14a2/b3a2	0,03647	1,03153	0,9788

В целом приведенные данные свидетельствуют о линейности не менее чем от 55 % (IS)/MR 0,26 до ~0,0019 % (IS)/MR4,75 с максимальным CO, равным 0,26. Отчетный диапазон расположен в границах от пределов линейности при 55 % (IS)/MR0,26 до LOQ при 0,0030 % (IS)/MR4,52.

21.3 Аналитическая чувствительность (порог обнаружения, предел количественного определения, предел холостого образца)

Порог обнаружения (LoD) оценивали для точек разрыва e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2 путем исследования серийных разведений образцов, высокоположительных в отношении ХМЛ [> 10 % (IS)/MR1] и исследованием образцов, низкоположительных в отношении ХМЛ [$< 0,1$ % (IS)/MR3]. Данные для каждой точки разрыва в разных разведениях и разных образцах были обработаны отдельно, и была выполнена оценка LoD методом пробит-регрессионного анализа. Такой анализ дал оценку LoD 0,0035 % (IS)/MR4,45 для точки разрыва e13a2/b2a2 и 0,0030 % (IS)/MR4,52 для точки разрыва e14a2/b3a2.

Проверку LoD выполняли путем адаптации непараметрического метода, описанного в руководстве CLSI EP17-A2 (Таблица 6). Два уникальных ХМЛ-положительных образца, представляющих каждую точку разрыва, были разведены до целевого уровня 0,0030 % (IS)/MR 4,52. При определении e13a2/b2a2 94 повторных анализа были выполнены 2 операторами с применением 4 партий наборов в течение 4 дней. При определении e14a2/b3a2 101 повторный анализ был выполнен 2 операторами с применением 4 партий наборов в течение 7 дней.

Таблица 6. Подтвержденный порог обнаружения в % (IS)/MR

Точка разрыва	Положительные/повторности	% положительных	Медиана % (IS)/MR
e13a2/b2a2	90/94	95,74 %	0,0030 % (IS)/MR4,52
e14a2/b3a2	97/101	96,04 %	0,0029 % (IS)/MR4,55

Поскольку Xpert BCR-ABL Ultra тест не различает две точки разрыва e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2, в качестве LoD теста принято наибольшее из двух значений. Таким образом, общий Xpert BCR-ABL Ultra LoD для e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2 составляет 0,0030 % (IS)/MR 4,52.

Предел количественного определения (LoQ) оценивали по данным, полученным при определении LoD. Средняя величина и стандартное отклонение значений % (IS) и MR были рассчитаны для повторностей тестов на уровнях, равных LoD, 0,0030 % (IS)/MR4,52 или выше с долей положительных результатов не меньше 95 %. Значение LoQ теста было ограничено значением LoD теста. Поэтому значение LoQ было определено равным LoD, 0,0030 % (IS)/MR4,52. Результаты оценивали в отношении критериев приемлемости по стандартному отклонению (CO) $\leq 0,36$. Значения стандартных отклонений MR обеих точек разрыва e13a2/b2a2 (наблюдаемый диапазон CO MR0,27–MR 0,34) и e14a2/b3a2 (наблюдаемый диапазон CO MR0,29–MR0,31) находились в пределах критериев приемлемости.

Предел холостого образца (LoB) определяли с применением 50 собранных в содержащие ЭДТА пробирки образцов крови здоровых доноров, предположительно отрицательных в отношении ХМЛ. Ни в одном тесте не обнаружено измеримых значений BCR-ABL. Поэтому общий LoB был определен как 0,00 % (IS).

21.4 Аналитическая специфичность

Аналитическую и клиническую специфичность Xpert BCR-ABL Ultra оценивали путем анализа взятых в пробирки с ЭДТА образцов крови пятидесяти (50) здоровых доноров (без ХМЛ) и у двадцати (20) больных лейкозом (ОМЛ или ОЛЛ). Специфичность в отношении точки разрыва определяли путем исследования взятой в пробирки с ЭДТА

крови здоровых доноров с добавлением пяти (5) различных линий лейкозных клеток, представляющих 3 разных вида лейкоза (ХМЛ, ОЛЛ и ОПЛ) и 5 связанных с заболеванием точек разрыва: K562 (ХМЛ/e14a2/b3a2) и BV173 (ХМЛ/e13a2/b2a2) служили положительными контролями; SUP-B15 (ОЛЛ/e1a2), AR230 (ХМЛ/e19a2) и NB4 (ОПЛ/PML-RARA) использованы для определения специфичности.

В этом исследовании не обнаружено признаков BCR-ABL в Xpert BCR-ABL Ultra с любым из ХМЛ-отрицательных образцов или образцов, полученных от больных ОМЛ/ОЛЛ.

Среди исследованных линий лейкозных клеток линии клеток ХМЛ (K562 и BV173) с основными точками разрыва p210 дали ожидаемые положительные результаты. Линия клеток ХМЛ (AR230) с точкой разрыва p230 e19a2 дала результат **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [Ниже LoD; >MR 4,52/<0,0030 % (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR 4.52/<0.0030% (IS)])** в 1 из 4 исследованных повторов с целевым уровнем 10 % (IS)/MR 1,00 на основании количества клеток K562. Положительный результат исследования линии клеток AR230 был получен при целевом уровне 3,52 порядка выше порога обнаружения теста и не был обнаружен при более низких уровнях 1 % (IS)/MR2,00 и 0,1 % (IS)/MR3,00.

Тест Xpert BCR-ABL Ultra специфичен для химерного транскрипта p210 BCR-ABL, связанного с ХМЛ, и имеет аналитическую специфичность 100 % в отношении ХМЛ-отрицательных образцов крови, собранных в ЭДТА.

21.5 Контаминация продуктами предыдущей реакции

Исследование проведено с целью показать, что применение одноразовых автономных картриджей GeneXpert позволяет предотвратить контаминацию от картриджей, последовательно использованных в одном модуле. Для этого после анализа высокоположительной пробы в том же модуле GeneXpert обрабатывались отрицательные пробы. Это исследование было проведено путем обработки собранного в пробирку с ЭДТА образца крови здорового донора с результатом **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE)**(ХМЛ-отрицательная кровь) в том же модуле немедленно после обработки образца с высоким результатом **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (POSITIVE)** (имитация ХМЛ-положительной крови) с добавлением $4,5 \times 10^5$ клеток в K562 в 1 мл к ХМЛ-отрицательной крови до достижения $\sim 10\%$ (IS)/MR1,00. Указанную последовательность анализа повторяли пять раз на каждом из четырех модулей GeneXpert. При анализе всех двадцати BCR-ABL-положительных образцов получены правильные результаты **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ [#,#% (IS) и MR#,#% (POSITIVE [#,#% (IS) and MR#,#%])**, тогда как все двадцать BCR-ABL-отрицательных образцов дали правильные результаты **ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ [Достаточное содержание транскрипта ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])**.

21.6 Субстанции, вероятно препятствующие проведению анализа

В этом исследовании было изучено влияние пяти веществ, которые могут присутствовать в собранных в ЭДТА образцах крови и способны влиять на функциональные характеристики теста Xpert BCR-ABL Ultra. Эти вещества и их исследованные уровни (см. Таблица 7) были выбраны на основании указаний документа CLSI EP07-A2. Препятствующие вещества исследовали с применением клинических образцов взятой в ЭДТА крови больных ХМЛ, которые представляли три уровня, по пять образцов на каждый уровень: $>1\%$ (IS)/MR2, $0.1-1\%$ (IS)/MR3-MR2, and $<0.1\%$ (IS)/MR3). В качестве контролей в тестах использовали взятые в ЭДТА образцы ХМЛ-положительной цельной крови с соответствующим уровнем транскрипта BCR-ABL без препятствующего вещества. Каждый ХМЛ-положительный образец исследовали в условиях присутствия или отсутствия каждого из пяти препятствующих веществ, по 4 повторности на каждое условие.

Вещество считалось не препятствующим проведению анализа, если в его присутствии среднее процентное отношение (IS)/MR не более чем в три раза отличалось от контроля.

Не обнаружено клинически значимого ингибирующего действия на тест Xpert BCR-ABL Ultra ни у одного из исследованных препятствующих веществ. Несмотря на то, что в некоторых исследованных условиях обнаружена некоторая вариабельность и статистически достоверные различия ($p < 0,05$), полученные отношения % (IS)/MR при наличии препятствующего вещества и в контроле находились в пределах приемлемого трехкратного диапазона.

Таблица 7. Потенциально препятствующие выполнению теста субстанции, исследованные с использованием Хpert BCR-ABL Ultra

Субстанции, препятствующие проведению анализа	Концентрация, применявшаяся в анализе
Билирубин неконъюгированный	20 мг/дл
Холестерин, общий	500 мг/дл
Триглицериды, общие (липиды)	1800 мг/дл
Гепарин	3500 Ед/л
EDTA (свежевзятая кровь)	750 мг/дл (5X)

22 Прецизионность и воспроизводимость

Прецизионность и воспроизводимость теста Хpert BCR-ABL Ultra оценивали в многоцентровом исследовании, проведенном в соответствии с документами CLSI EP05-A3 «Оценка параметров прецизионности методов количественных измерений. Утвержденные рекомендации» (Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline) и CLSI EP15-A3, «Проверка пользователем рабочих параметров и истинности, утвержденные рекомендации» (User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline).

Была приготовлена панель из одиннадцати образцов, в том числе: один отрицательный в отношении BCR-ABL образец, два образца на уровне порога обнаружения (LoD) и восемь образцов на уровнях молекулярного ответа (МО или MR) 1–4 с использованием двух целевых последовательностей, обнаруживаемых тестом Хpert BCR-ABL Ultra: e13a2/b2a2 и e14a2/b3a2. Панель образцов готовили путем смешивания исходного лизата из полученных от больных ХМЛ образцов с высоким % BCR-ABL/ABL с объединенной цельной кровью здоровых доноров до достижения нужного уровня.

Таблица 8 показывает одиннадцать образцов, включенных в это исследование.

Таблица 8. Панель воспроизводимости для Хpert BCR-ABL Ultra

Номер образца	Описание	% (IS)
1	MR 1,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL ~ 10% (IS)
2	MR 1,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL ~ 10% (IS)
3	MR 2,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL ~ 1% (IS)
4	MR 2,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL ~ 1% (IS)
5	MR 3,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL ~ 0,1% (IS)
6	MR 3,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL ~ 0,1% (IS)
7	MR 4,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL при ~ 0,01% (IS)
8	MR 4,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL при ~ 0,01% (IS)
9	Значение, близкое к LoD e13a2/b2a2	BCR-ABL при ~ 0,005% (IS)
10	Значение, близкое к LoD e14a2/b3a2	BCR-ABL при ~ 0,005% (IS)
11	Отрицательный	BCR-ABL не обнаружен

Каждый из одиннадцати образцов панели исследовали в двух повторениях два раза в день в течение четырех разных дней три различных оператора в трех центрах. Были использованы три партии наборов Хpert BCR-ABL Ultra, и каждый оператор работал с одной партией (3 центра x 3 партии x 1 оператор на партию x 4 дня x 2 теста на одного оператора x 2 повторности каждого теста = 144 повторений на один компонент панели).

Количественные результаты подвергали дисперсионному анализу (ANOVA) и выявляли основные компоненты дисперсии.

Результаты дисперсионного анализа для каждого компонента панели показаны в Таблица 9.

Таблица 9. Исследование воспроизводимости: Результаты дисперсионного анализа

Кол-во образцов		Среднее значение (MR)	Центр/ прибор CO	Оператор/ партия CO	День CO	В пределах цикла CO	Общее CO ^a
Целевое значение MR 1,0 e13a2/b2a2	144	0,96	0	0,05	0,01	0,06	0,08
Целевое значение MR 1,0 e14a2/b3a2	144	0,99	0	0,06	0	0,08	0,1
Целевое значение MR 2,0 e13a2/b2a2	143	2,04	0	0,06	0,02	0,10	0,11
Целевое значение MR 2,0 e14a2/b3a2	144	2,09	0,03	0,07	0,02	0,10	0,13
Целевое значение MR 3,0 e13a2/b2a2	144	2,89	0,06	0,04	0,03	0,10	0,12
Целевое значение MR 3,0 e14a2/b3a2	144	3,12	0,06	0,08	0	0,11	0,15
Целевое значение MR 4,0 e13a2/b2a2	143 ^b	3,67	0,03	0,02	0	0,15	0,15
Целевое значение MR 4,0 e14a2/b3a2	144	3,91	0,05	0,08	0,04	0,14	0,17
Целевое значение MR>4,0 e13a2/b2a2	140 ^c	4,36	0,04	0,04	0	0,33	0,33
Целевое значение MR>4,0 e14a2/b3a2	143 ^d	4,22	0,03	0,08	0	0,17	0,19

^a Тест Xpert BCR-ABL Ultra, проведенный на системах GeneXpert Dx и GeneXpert Infinity, объединяет очистку образца и амплификацию нуклеиновых кислот. Общая вариабельность для этого теста, наблюдавшаяся в исследовании (и выраженная в общем CO), включает вариабельность, связанную как с подготовкой образца в системе, так и с этапами ОТ-кПЦР.

^b Один повтор, соответствующий критериям выпадающего значения на уровне 99 % по CLSI EP15-A3, был удален из анализа.

^c 4 образца из 144 результатов теста дали ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) результат.

^d 1 образец из 144 результатов теста дали ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) результат.

Наблюдаемое общее стандартное отклонение для образцов при MR1, MR2 и MR3 было $\leq 0,15$. Максимальное наблюдаемое общее стандартное отклонение для образцов вблизи LoD и MR4 было 0,33.

23 Литература

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics 2008; CA Cancer J Clin. 2008;58:71-96.
2. NIH/NCI – Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER). Cancer Stat Facts: Chronic Myeloid Leukemia (CML). По состоянию на 21 декабря 2018 г. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cmyle.html>
3. Thompson PA, Kantarjian HM, Cortes JE. Diagnosis and Treatment of Chronic Myeloid Leukemia in 2015. Mayo Clin Proc. 2015;90(10):1440-1454.
4. Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. Blood. 2005;105(7):2640-2653.
5. 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.

6. NCCN. Clinical Practice Guidelines in Oncology; Chronic Myelogenous Leukemia (Access Version 1, 2019).
7. 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:e1111-e1117.
8. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer Program. *Leukemia*. 2003;17:2318-2357.
9. 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 (RT-PCR) - a Europe Against Cancer Program. *Leukemia*. 2003;17:2474-2486.
10. 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 (см. последнюю редакцию). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Документ M29 (см. последнюю редакцию).
14. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. Бюллетень Всемирной организации здравоохранения (см. последнюю редакцию).
15. РЕГЛАМЕНТ (ЕС) № 1272/2008 ЕВРОПЕЙСКОГО ПАРЛАМЕНТА И СОВЕТА от 16 декабря 2008 г. о классификации, маркировке и упаковке веществ и смесей, изменяющий и отменяющий Директивы 67/548/ЕЭС и 1999/ЕС, и изменяющий Регламент (ЕС) № 1907/2006.
16. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 марта, 2012 г.) (29 С.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
17. Vacca 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. WHO International Standard 1st WHO International Genetic Reference Panel for the quantitation of BCR-ABL translocation NIBSC code: 09/138. Инструкция по применению. (Версия 4.0. от 13.12.2012).

24 Расположение головных офисов корпорации Cepheid

Головные офисы корпорации

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191 Факс: + 1 408 541 4192 www.cepheid.com

Европейские головные офисы

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300 Факс: + 33 563 825 301 www.cepheidinternational.com

25 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться к нам

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

США

Телефон: + 1 888 838 3222 Адрес электронной почты: techsupport@cepheid.com

Франция

Телефон: + 33 563 825 319 Адрес электронной почты: support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/support/contact-us

26 Таблица условных обозначений

Символ	Значение
REF	Номер по каталогу
CE	Маркировка CE – Европейское соответствие
IVD	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
LOT	Код партии

Символ	Значение
	Не использовать повторно
	Срок годности
	Предупреждение
	См. инструкцию по применению
	Производитель
	Страна производства
	Содержит достаточное количество для <i>n</i> тестов
CONTROL	Контроль
	Температурные ограничения
	Биологические риски
	Легковоспламеняющиеся жидкости
	Токсичность для репродуктивных и других органов
EC REP	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе
CH REP	Уполномоченный представитель в Швейцарии
	Импортер



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191 Факс: + 1 408 541 4192 www.cepheid.com



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300 Факс: + 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 История пересмотра документа

Описание изменений: 302-0742, ред. С – ред. D

Цель: Для обеспечения соответствия требованиям швейцарского регламента IVDO (Регламент Швейцарии об изделиях для диагностики in vitro)

Раздел	Описание изменения
6.3	Добавлены сведения о рекомендуемых материалах, не входящих в комплект поставки.
26	В таблицу условных обозначений добавлены символы «Представитель в Швейцарии» и «Импортер», а также их описания. Добавлен символ «Представитель в Швейцарии» и «Импортер», а также адрес в Швейцарии.