

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

**REF** GXBCRABLP190-CE-10

Návod k použití

**IVD**

## **Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech**

### **Trademark, Patents and Copyright Statements**

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

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

© 2022–2023 Cepheid.

See Section 26, Revision History for a description of changes.

Cepheid<sup>®</sup>, logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> a Xpert<sup>®</sup> jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

NÁKUPEM TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘEVODITELNÉ PRÁVO PRODUKT POUŽÍVAT V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. NEPŘEVÁDÍ SE ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA, A TO VÝSLOVNĚ, NEPŘÍMO ANI PODLE ZÁSADY ESTOPPEL. DÁLE SE S PRODEJEM TOHOTO PRODUKTU NEPŘEVÁDÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA OPAKOVANÝ PRODEJ.

© 2022–2023 Cepheid.

Popis změn viz Část 26, Historie revizí.

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

---

Pro diagnostické použití *in vitro*.

## 1 Vlastnický název

Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190

## 2 Běžný nebo obvyklý název

Xpert BCR-ABL Ultra p190

## 3 Účel použití

### 3.1 Určené použití

Xpert<sup>®</sup> BCR-ABL Ultra p190 je diagnostický test *in vitro* pro použití na systému Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> Dx System pro kvantifikaci transkriptů BCR-ABL1 p190 a ABL1 mRNA ve vzorcích periferní krve pacientů s diagnózou [t(9;22)(q34;q11)] chronické myeloidní leukémie (CML) pozitivní na Philadelphský chromozom (Ph<sup>+</sup>) a akutní lymfoblastické leukémie (ALL) s expresí fúzního transkriptu BCR-ABL1 typu e1a2. Test používá automatizovanou, kvantitativní, reverzní transkripční polymerázovou řetězovou reakci (RT-PCR) v reálném čase a má za cíl měřit procentuální poměr BCR-ABL1 p190 mRNA oproti ABL1 mRNA u t(9;22) pacientů pozitivních na CML nebo ALL během monitorování léčby.

Test nemonitoruje ostatní transkripty fúzí, které jsou výsledkem t(9;22) a není určen pro diagnostiku CML nebo ALL.

### 3.2 Zamýšlený uživatel/prostředí

Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 je určen k použití vyškolenými uživateli v laboratorním prostředí.

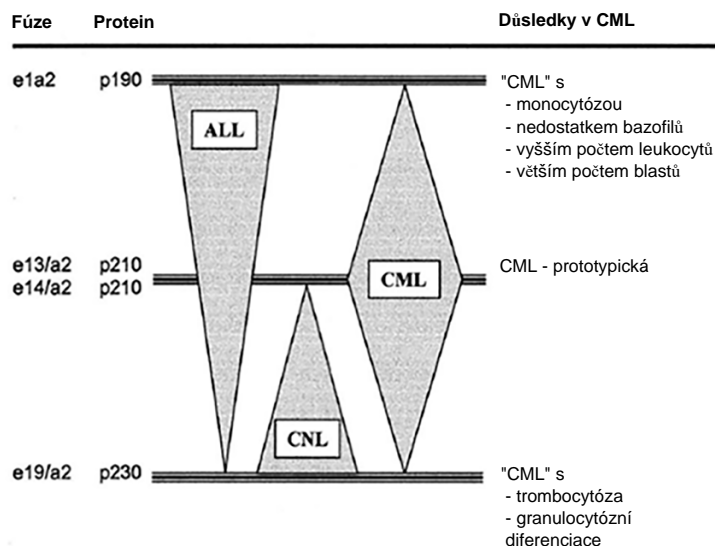
## 4 Souhrn a vysvětlení

**Philadelphský chromozom (Ph)** je zkrácený chromozom, který je výsledkem translokace 3. části genu ABL na chromozomu 9 na 5. část genu BCR na chromozomu 22. Místo zlomu na genu ABL je poměrně konstantní a dochází k němu na 5. konci exonu a2, zatímco místa zlomu genu BCR jsou proměnné, převážně se však shlukují ve 3 různých oblastech (oblasti shluků míst zlomu nebo bcr). S 3. sekvencemi genu ABL byly v závislosti na místě zlomu na chromozomu 22 spojeny segmenty různých velikostí. Jsou velká (M-bcr), drobná (m-bcr) a mikro místa zlomu, přičemž každé má za výsledek odlišné velikosti transkriptů fúzí mRNA.<sup>1</sup>

Chromozom Ph je pozorován u více než 95 % pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) a až u 20-30 % dospělých pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL), u 5 % dětí s ALL a u 1–2 % pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML).<sup>1</sup>

V CML je BCR-ABL p210 přítomen u více než 95 % pacientů a také se vyskytuje u zhruba 30 % pacientů s ALL pozitivních na Ph (Ph<sup>+</sup>). U zbývajících pacientů s Ph<sup>+</sup> ALL a ve vzácných případech u CML (1–3 %) je přítomen BCR-ABL p190. U CML mohou BCR-ABL p210 a p190 koexistovat. Fúzní proteiny p210 i p190 prokazují oproti normálnímu proteinu p145 c-abl zvýšenou aktivitu fotokinázy tyrosinu.<sup>1,2</sup>

U pacientů s Ph<sup>+</sup> ALL je p190 detekován přibližně u 80 % Ph<sup>+</sup> pediatrické ALL a u 20–40 % Ph<sup>+</sup> ALL u dospělých pacientů.<sup>1</sup> Četnost Ph chromozomu se kromě toho zvyšuje s věkem; je přítomen u 10 % pacientů ve věku 15–30 let, u 25 % ve věku 40–49 let a u 20–40 % pacientů s ALL starších 50 let.<sup>3-5</sup>



Akutní myeloblastická leukémie (ALL) je hematologická malignita, při které nastává hromadění nezralých, slabě diferencovaných leukocytů; lymfoblastů, v kostní dřeni, krvi a dalších tkáních. ALL je klasifikována jako vzácné nádorové onemocnění (číslo vzácného onemocnění ORPHA:513; GARD 522) s prevalencí 1,7/100 000. V USA je ALL nejčastějším nádorovým onemocněním u dětí od narození do 15 let věku a představuje 75 % všech případů dětské leukémie.<sup>6, 7</sup>

Přítomnost Ph chromozomu u pacientů s ALL po konsolidaci je významným prediktorem recidivy a doporučuje se monitorování. V současné době však nejsou žádné zavedené pokyny, které by definovaly četnost monitorování pacientů s ALL prostřednictvím měření transkriptu BCR-ABL p190 za účelem detekce minimálního reziduálního onemocnění (MRD). Pokyny NCCN uvádějí definitivní časové body pro monitorování BCR-ABL p210 u pacientů s CML, měření BCR-ABL p190 za účelem monitorování ALL se tedy provádí v podobné četnosti.<sup>5</sup>

Chronická myeloidní leukémie (CML) je charakterizována přítomností Ph chromozomu, přičemž >95 % je spojováno s BCR-ABL p210 a pouhá 1–3 % jsou spojována s BCR-ABL p190.<sup>2,3</sup>

Na rozdíl od mezinárodního standardu Světové zdravotnické organizace (WHO IS) pro BCR-ABL a transkript p210 v současnosti neexistuje žádná mezinárodně uznávaná reference, která by mohla být použita ke standardizaci fúzního transkriptu p190. Současné molekulární analýzy pro p190 tudíž typicky detekují fúzní transkript a vykazují jej jako procento relativní k expresi interního kontrolního genu (např. ABL).

## 5 Princip postupu

Xpert BCR-ABL Ultra p190 je automatizovaný test ke kvantifikaci počtu transkriptů BCR-ABL1 p190 jako poměr BCR-ABL p190/ABL1. Test se provádí na systému Cepheid GeneXpert Dx System, který automatizuje a integruje purifikaci vzorků, amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílových sekvencí v jednoduchých nebo komplexních vzorcích RT-PCR v reálném čase a nested PCR testech. Systém sestává z přístroje, počítače a předem načteného softwaru pro zpracování testů a zobrazení výsledků. Systém vyžaduje použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují reagentie RT-PCR a reagentie nested PCR a ve kterých probíhají procesy RT-PCR a nested PCR. Úplný popis systému viz *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Kazeta Xpert BCR-ABL Ultra p190 obsahuje reagentie k detekci fúzních genů BCR-ABL1 p190, které jsou výsledkem drobných míst zlomu, translokací e1a2, a transkript ABL1 jako endogenní kontrolu ve vzorcích periferní krve. Množství transkriptu BCR-ABL1 p190 je kvantifikováno jako procentuální poměr BCR-ABL1 p190/ABL1. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 obsahuje dvě kontroly – endogenní kontrolu (ABL1) a systém kontroly sondy (PCC). Endogenní kontrola ABL1 normalizuje cíl BCR-ABL1 p190 a zjišťuje, zda je v testu použito dostatečné množství vzorku. PCC ověřuje rehydrataci reagentie, plnění zkumavky s PCR a zda jsou v kazetě přítomny všechny reakční složky, včetně sond a barviv, a zda jsou funkční.

## 6 Reagencie a přístroje

### 6.1 Dodané materiály

Souprava testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 (GXBCRABLP190-CE-10) obsahuje dostatečné množství reagensů pro zpracování 10 vzorků testů nebo vzorků pro kontrolu kvality. Obsah soupravy:

#### Reagencie Xpert BCR-ABL Ultra

10 od každého na soupravu

<b>Proteináza K (PK)</b>	<b>10 x 130 µl na lahvičku</b>
<b>Složka</b>	<b>Ingredience reagencie</b>
Proteináza K	<5 %

<b>Reagencie lýzy (LY) (guanidinchlorid)</b>	<b>10 x 5,3 ml v každé lahvičce</b>
<b>Složka</b>	<b>Ingredience reagencie</b>
Guanidinchlorid	25 - 50 %
Močovina	25 - 50 %
Dodecylsírán sodný	<2 %

<b>Promývací reagencie</b>	<b>10 x 2,9 ml v každé ampulce</b>
<b>Složka</b>	<b>Ingredience reagencie</b>
Etanol	<50 %
Guanidin thiokyanát	<50 %

<b>Xpert BCR-ABL Ultra p190 Kazety s integrovanými reakčními zkumavkami</b>		<b>10 v každé soupravě</b>
<b>Složka</b>	<b>Ingredience reagencie</b>	<b>Množství</b>
Perlička 1 (sušená mrazem)	Enzym: Taq DNA-polymeráza < 50 U/perlička	1 v každé kazetě
	dNTP <0,05%	
Perlička 2 (sušená mrazem)	Primery a sondy <0,005 %	1 v každé kazetě
Perlička 3 (sušená mrazem)	Primery a sondy <0,005 %	1 v každé kazetě
Perlička 4 (sušená mrazem)	Enzym: Taq DNA-polymeráza < 50 U/perlička	1 v každé kazetě
	dNTP <0,05%	
Proplachovací reagencie	Chlorid draselný <4 %	2 ml v každé kazetě
	Azid sodný <0,1 %	
	Polyethylenglykol <15 %	
	Tween 20 <0,2 %	
Eluční reagencie	Báze Trizma <0,3 %	2,5 ml v každé kazetě
	Trizma hydrochlorid <0,1 %	
	Azid sodný <0,05 %	

**CD****1 v každé soupravě**

- Soubor definice analýzy (ADF)
- Pokyn k importu souboru ADF do softwaru GeneXpert Dx
- Návod k použití (příbalová informace)

**Poznámka**

Hovězí sérový albumin (BSA) v perličkách v tomto produktu byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států amerických. Zvířata nebyla krmena bílkovinami pocházejícími z přežvýkavců či jiných zvířat; zvířata prošla testy ante-mortem i post-mortem. V průběhu zpracování nedocházelo k žádnému směšování materiálů s jinými zvířecími materiály.

**Poznámka**

Osvědčení o analýze a datové listy specifikace šarží jsou k dispozici u technické podpory společnosti Cepheid.

## 6.2 Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

- GeneXpert Dx System (katalogové číslo se liší podle konfigurace): přístroj GeneXpert, počítač, čtečka čárových kódů a návod k obsluze.
- Pro GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx software verze 6.2 nebo vyšší
- Tiskárna: Pokud požadujete tiskárnu, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid a sjednejte si nákup doporučené tiskárny.
- Vortexová míchačka
- Mikrocentrifuga (minimálně 1 000 x g)
- Pipety a pipetovací špičky s filtrem proti aerosolu
- Kónické zkumavky 50 ml
- Absolutní ethanol reagenční třídy

## 7 Skladování a manipulace

- Obsah soupravy testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 skladujte při teplotě 2–8 °C až do data expirace uvedeného na štítku.
- Víko kazety neotevírejte, pokud nejste připraveni k provedení testu.
- Nepoužívejte kazety s prošlým datem expirace.
- Promývací reagentie je čirá, bezbarvá kapalina. Nepoužívejte promývací reagentii, pokud se zakalila nebo změnila barvu.
- Dvacet (20) minut před zahájením postupu vyjměte z chlazeného skladovacího prostoru vzorky krve, kazetu a reagentie na přípravu vzorků a vytemperujte je na pokojovou teplotu (20–30 °C).

## 8 Varování a bezpečnostní upozornění

### 8.1 Obecně

- Pro diagnostické použití *in vitro*.
- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet a reagentií, zacházejte jako se schopnými přenosu infekčních agens. Protože často není možné vědět, které vzorky mohou být infekční, se všemi biologickými vzorky je třeba zacházet se standardními bezpečnostními opatřeními. Pokyny pro manipulaci se vzorky jsou k dispozici od Centra pro kontrolu a prevenci nemocí v USA (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)<sup>9</sup> a od Institutu pro klinické a laboratorní standardy (Clinical and Laboratory Standards Institute).<sup>10</sup>
- Při práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky dodržujte bezpečnostní postupy vašeho zařízení.
- Funkční charakteristiky tohoto testu byly stanoveny pouze za použití krve odebrané do zkumavek EDTA. Funkčnost tohoto testu s jinými typy vzorků nebyla vyhodnocena.
- Spolehlivé výsledky závisí na adekvátním odběru, přepravě, skladování a zpracování vzorků. Při nesprávném odběru, manipulaci nebo skladování vzorků, při technické chybě, při záměně vzorků, nebo pokud je cílový transkript ve vzorku

nižší než limit detekce (LoD) testu, může dojít k nesprávným výsledkům testu. Aby se zabránilo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat pokyny v této příbalové informaci a v dokumentu *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Provádění testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 mimo doporučené teplotní rozsahy při uskladnění a časy může vést k chybným nebo neplatným výsledkům.
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je nutné považovat za schopné přenosu infekčních agens a vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagiencí dodržujte postupy vašeho zdravotnického zařízení pro ekologickou likvidaci odpadu. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky chemického nebezpečného odpadu vyžadujícího dodržování specifických národních nebo regionálních postupů pro likvidaci. Pokud národní nebo regionální předpisy neobsahují jasné pokyny ke správné likvidaci, biologické vzorky a použité kazety je třeba likvidovat podle pokynů Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) k manipulaci se zdravotnickým odpadem a k jeho likvidaci.<sup>11</sup>

## 8.2 Vzorek

- Při přepravě vzorků dodržujte správné podmínky uchovávání, aby byla zajištěna celistvost vzorku (viz Část 10). Stabilita vzorku za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- Vzorky plné krve nezmrazujte.
- Správný odběr, skladování a přeprava vzorků jsou nezbytné k získání správných výsledků.


## 8.3 Test/reagencie

- Nenahrazujte reagencie Xpert BCR-ABL Ultra p190 jinými reagiencemi.
- Neotevírejte víko kazety Xpert BCR-ABL Ultra p190 s výjimkou případů, kdy přidáváte vzorek a promývací reagencii.
- Nepoužívejte kazetu, která po vyjmutí z obalu upadla.
- S kazetou netřepejte. Zatřesení nebo upuštění kazety po otevření víka kazety může způsobit neplatné výsledky. Štítek s ID vzorku neumísťujte na víko kazety ani na čárový kód kazety.
- Nepoužívejte kazetu s poškozeným štítkem s čárovým kódem. Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.
- Kazety Xpert BCR-ABL Ultra p190 musí mít při použití k testům pokojovou teplotu (20–30 °C).
- Každá jednorázová kazeta Xpert BCR-ABL Ultra p190 se používá ke zpracování jednoho testu. Zpracované kazety nepoužívejte opakovaně.
- Pipetovací špičky nepoužívejte opakovaně.
- Nepoužívejte kazetu, pokud se zdá být vlhká nebo pokud se zdá, že je porušené těsnění víka.
- Nepoužívejte kazetu Xpert BCR-ABL Ultra p190, pokud je reagencie přidána do nesprávného otvoru. Neotevírejte kazety Xpert BCR-ABL Ultra p190 po dokončení testu.
- Vyhraďte sadu pipet a reagiencí výhradně pro přípravu vzorků.
- Noste čisté laboratorní plášť a rukavice. Mezi manipulacemi s jednotlivými vzorky si vždy vyměňte rukavice.
- V případě rozlití vzorku nebo kontroly si nasadte rukavice a vysajte uniklý materiál papírovými utěrkami. Všechny pracovní povrchy laboratoře důkladně očistěte a dezinfikujte čerstvě připraveným roztokem 0,5% chlornanu sodného destilované nebo deionizované vodě (rozřed'te bělicí prostředek pro domácnost 1:10). Konečná koncentrace aktivního chloru by měla být 0,5 %. Až bude pracovní povrch suchý, otřete jej 70% ethanolem. U vybavení postupujte při dekontaminaci podle doporučení výrobců. Případně postupujte podle standardních postupů vašeho zdravotnického zařízení pro příhodu kontaminace nebo úniku.
- Použité kazety mohou obsahovat potenciálně infekční materiály a také vysoce amplifikované cíle PCR. Při likvidaci neotevírejte ani se nepokoušejte upravovat žádnou část kazety.

## 9 Chemická nebezpečí<sup>12,13</sup>

**Poznámka** Bezpečnostní listy (SDS) jsou k dispozici na adrese [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) nebo [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) na kartě **PODPORA (SUPPORT)**.

**Poznámka** Informace níže se vztahují na reagencie proteinázy K, lyzační, promývací a proplachovací reagencie.

- Piktogram pro nebezpečí podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN: 
- Signální slovo: NEBEZPEČÍ
- **Věty o nebezpečnosti podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN**

- Zdraví škodlivý při požití H302
- Vysoce hořlavá kapalina a páry H225
- Dráždí kůži H315
- Způsobuje vážné podráždění očí H319
- Může způsobit ospalost nebo závratě H336
- Podezření na genetické poškození H341
- **Pokyny pro bezpečné zacházení podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN**
  - **Prevence**
    - Před použitím si prostudujte zvláštní pokyny v bezpečnostním datovém listu.
    - Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.
    - Používejte osobní ochranné prostředky: rukavice, ochranu očí, obličejový štít a ochranné oděvy.
    - Používejte pouze v dobře větraných prostorech.
    - Chraňte před teplem, jiskrami, otevřeným ohněm a horkými povrchy.
    - Zabraňte vdechování mlhy, par nebo aerosolů.
    - Po manipulaci si důkladně umyjte ruce.
  - **Reakce**
    - V případě POŽÁRU: K hašení použijte vhodná média.
    - Při VDECHNUTÍ: Přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte jej v klidu v poloze usnadňující dýchání.
    - Necítí-li se oběť dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
    - Při ROZLITÍ: Kontaminované oděvy okamžitě vysvěčte. Při zasažení kůže nebo vlasů opláchněte vodou/ osprchujte.
    - Při PODRÁŽDĚNÍ KŮŽE: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
    - Při ZASAŽENÍ OČÍ: Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny. Důkladně oči několik minut proplachujte vodou. Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
    - Konkrétní pokyny pro ošetření: viz doplňková opatření první pomoci v bezpečnostním datovém listu.
    - Při expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
  - **Skladování/likvidace**
    - Skladujte chlazené.
    - Uchovávejte obaly těsně uzavřené.
    - Obsah a/nebo nádobu zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.

## 10 Odběr, přeprava a skladování vzorků

- Test vyžaduje vzorky plné krve odebrané do vakuových zkumavek EDTA. Vzorky mohou být před použitím uchovávány až 72 hodin při teplotě 2–8 °C. Plazma se nemá oddělovat od buněk.
- Správný odběr, skladování a přeprava vzorků jsou pro správnou funkci testu rozhodující.

## 11 Postup

### 11.1 Než začnete

Dvacet (20) minut před zahájením postupu vyjměte z chlazeného skladovacího prostoru vzorky krve, reagentie na přípravu vzorků a kazety a vytemperujte je na pokojovou teplotu. Krátce seřetez proteinkinázu K (PK) v mikrocentrifuze.

---

**Důležité** Než začnete připravovat vzorek, vyjměte kazetu z kartónového obalu. (Viz Část 11.2, Příprava vzorku.)

---

**Důležité** Spustte test na přístroji GeneXpert Dx do 1 hodiny od přidání připraveného vzorku do kazety.

---



## 11.2 Příprava vzorku

### 11.2.1 Příprava vzorku s neznámým počtem leukocytů nebo vzorků s méně než 30 miliony leukocytů/ml

1. Na dno nové 50ml kónické zkumavky přidejte 100 µl PK (proteinázy K).
2. Těsně před pipetováním zajistěte řádné promíchání vzorku krve tak, že odběrovou zkumavku na krev 8krát obrátíte. Krevní odběrové zkumavky EDTA viz pokyny výrobce.
3. Do zkumavky, která již obsahuje proteinázu K, přidejte 4 ml vzorku krve.
4. Promíchejte vzorek na vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 3 vteřin.
5. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 1 minuty.
6. Do stejné zkumavky přidejte 2,5 ml lyzační reagensie (LY).

**Poznámka** Zbylou lyzační reagensii uchovejte pro další použití v kroku 13.

7. Promíchejte vzorek na vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
8. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut.
9. Promíchejte vzorek na vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
10. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut.
11. Promíchejte vzorek tak, že 10krát klepnete na dno zkumavky.
12. Přeneste 1 ml připraveného lyzátu do nové 50ml kónické zkumavky.

**Poznámka** Zbývající lyzát lze použít pro opakovaný test. Zbývající lyzát může být uložen až 4 hodiny při teplotě 2–8 °C nebo až 24 týdnů při teplotě nejméně -20 °C.

13. Do nové kónické zkumavky obsahující lyzát přidejte 1,5 ml zbylé lyzační reagensie (LY) z kroku 6.
14. Promíchejte vzorek na vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
15. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 10 minut.
16. Do stejné kónické zkumavky přidejte 2 ml absolutního ethanolu reagenční třídy (dodá uživatel).
17. Promíchejte vzorek na vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin. Postavte stranou.
18. Zbylé reagensie PK nebo LY zlikvidujte.

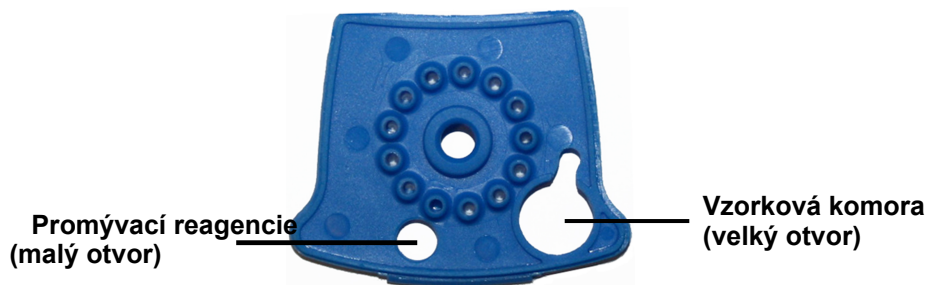
### 11.2.2 Příprava vzorku s počtem leukocytů vyšším než 30 milionů buněk/ml

1. Na dno nové 50ml kónické zkumavky přidejte 100 µl PK (proteinkinázy K).
2. Těsně před pipetováním zajistěte řádné promíchání vzorku krve tak, že odběrovou zkumavku na krev 8krát obrátíte. Krevní odběrové zkumavky EDTA viz pokyny výrobce.
3. Do zkumavky, která již obsahuje proteinkinázu K, přidejte 50 µl vzorku krve.
4. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 3 vteřin.
5. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 1 minuty.
6. Do stejné zkumavky přidejte 2,5 ml lyzační reagensie (LY).
7. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
8. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut.
9. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin.
10. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut.
11. Do stejné kónické zkumavky přidejte 2 ml absolutního ethanolu reagenční třídy (dodá uživatel).
12. Promíchejte vzorek ve vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 10 vteřin. Postavte stranou.
13. Zbylé reagensie PK nebo LY zlikvidujte.

## 11.3 Příprava kazety

Postup přidání vzorku do kazety Xpert BCR-ABL Ultra p190:

1. Vyjměte kazetu z kartónového obalu.
2. Zkontrolujte, zda kazeta není poškozená. Nepoužívejte kazety, jsou-li poškozené.
3. Zvedněte víko kazety a vyprázdněte veškerý obsah ampule promývací reagensie (1) do komory pro promývací reagensii (malý otvor). Viz Obrázek 1.
4. Napipetujte veškerý obsah připraveného vzorku do komory na vzorek (velký otvor). Viz Obrázek 1.



Obrázek 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190Kazeta (pohled shora)

5. Zavřete víko kazety. Ujistěte se, že víko pevně zapadne na místo. Spusťte test (viz Část 11.4, Spuštění testu).

## 11.4 Spuštění testu

Tato část uvádí základní kroky při zpracování testu. Podrobné pokyny uvádí *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

**Důležité** Před spuštěním testu se ujistěte, že přístroj používá software GeneXpert Dx verze 6.2 nebo vyšší a že do softwaru byl importován správný soubor definice analýzy.

**Poznámka** Postup se může lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Zapněte přístroj GeneXpert:
 

Pokud používáte přístroj GeneXpert Dx, nejprve zapněte přístroj GeneXpert Dx a poté počítač. Software GeneXpert se spustí automaticky. Pokud tomu tak není, poklepejte na ikonu zástupce softwaru GeneXpert Dx na ploše systému Windows®.
2. Přihlaste se do softwaru přístrojového systému GeneXpert použitím svého uživatelského jména a hesla.
3. V okně **systému GeneXpert** klikněte na tlačítko **Vytvořit test (Create Test)** (GeneXpert Dx). Otevře se okno **Vytvořit test (Create Test)**. Objeví se dialogový rámeček **Naskenovat čárový kód ID pacienta (Scan Patient ID barcode)**.
4. Naskenujte nebo zadejte ID pacienta. Pokud ID pacienta (Patient ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID pacienta (Patient ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **Zobrazit výsledky (View Results)**. Objeví se dialogový rámeček **Naskenovat čárový kód ID vzorku (Scan Sample ID barcode)**.
5. Oskenujte nebo zadejte ID vzorku (Sample ID). Pokud ID vzorku (Sample ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID vzorku (Sample ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **Zobrazit výsledky (View Results)** a ve všech zprávách. Objeví se dialogový rámeček **Naskenovat čárový kód kazety (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Oskenujte čárový kód kazety. Pomocí informací z čárového kódu software automaticky vyplní následující pole: Výběr rozboru (Select Assay), ID šarže reagensie (Reagent Lot ID), Sériové číslo kazety (Cartridge SN) a Datum expirace (Expiration Date).

**Poznámka** Pokud se čárový kód na kazetě neoskenuje, opakujte test s novou kazetou. Pokud jste naskenovali čárový kód kazety v softwaru a soubor definice analýzy není k dispozici, otevře se obrazovka s informací, že v systému není načten soubor definice analýzy. Pokud se zobrazí tato obrazovka, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid.

7. Klikněte na tlačítko **Spustit test (Start Test)**. Do dialogového rámečku, který se objeví, zadejte své heslo, pokud je vyžadováno.
8. Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a založte kazetu.
9. Zavřete dvířka. Spustí se test a zelené světlo přestane blikat. Po dokončení testu světlo zhasne.
10. Před otevřením dvířek modulu počkejte, až systém uvolní zámek dveří. Poté vyjměte kazetu.
11. Použité kazety zlikvidujte do vhodné odpadové nádoby na vzorky podle standardní praxe vašeho zdravotnického zařízení.

---

---

## 12 Zobrazení a tisk výsledků

Tato část uvádí základní kroky při zobrazení a tisku výsledků. Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků uvádí *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Výsledky zobrazíte kliknutím na ikonu **Zobrazení výsledků (View Results)**.
2. Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Zpráva (Report)** v okně **Zobrazení výsledků (View Results)** pro zobrazení a/nebo vytvoření PDF souboru zprávy.

## 13 Kontrola kvality

Každý test zahrnuje endogenní kontrolu (ABL) a kontrolní systém sondy (PCC).

**Endogenní kontrola ABL** – endogenní kontrola ABL ověřuje, zda je v testu použito dostatečné množství vzorku. Tato kontrola navíc detekuje inhibici testu PCR související se vzorkem v reálném čase. ABL vyhovuje, pokud splňuje přiřazená kritéria přijatelnosti.

**Systém kontroly sondy (PCC)** – Před zahájením PCR reakce měří systém GeneXpert Dx fluorescenční signál ze sond a monitoruje tak rehydrataci perliček, plnění reakční zkumavky a zda jsou všechny složky reakcí v kazetě funkční. PCC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.

## 14 Interpretace výsledků

Kvantitativní výstupy Xpert BCR-ABL Ultra p190 jsou vykázána jako procentuální poměr BCR-ABL1 p190/ABL1. Příklady možných výsledků a interpretací jsou uvedeny v Tabulka 1.

Tabulka 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Možné výsledky a interpretace

Kontrola sondy*	ABL Ct*	e1a2 Ct*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 Výsledek testu	Poznámky	
ÚSPĚCH (PASS)	ÚSPĚCH (PASS)	POZ	<b>BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [#.#%] (BCR-ABL p190 DETECTED [#.#%])</b>	Je vykazována hodnota vypočteného % poměru. Viz Obrázek 2.	
			<b>BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [pod dolní hranici LoD; &lt;0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; 0,0065 %])</b>	Vypočtený % poměr je pod dolní hranicí limitu detekce a není vykázan. Viz Obrázek 3.	
			<b>BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [nad horní hranici LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])</b>	Vypočtená % hodnota je nad horní hranicí limitu kvantifikace a není vykázána. Viz Obrázek 4.	
	NEÚSPĚCH (FAIL)	POS, NEG nebo NEPLATNÝ (INVALID)	NEG	<b>BCR-ABL p190 NEBYLA DETEKOVANÁ [dostatečný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])</b>	e1a2 Ct je nula nebo nad hranicí přijatelnosti. Viz Obrázek 5.
			NEPLATNÝ (INVALID)	<b>NEPLATNÝ [příliš vysoké transkripty BCR-ABL p190] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcripts])</b>	e1a2 Ct je pod hranicí přijatelnosti.
			NEPLATNÝ [žádný transkript ABL] (INVALID [No ABL transcript])	Hodnota ABL Ct je nula. Nebyla detekována ABL. Viz Obrázek 6.	
			NEPLATNÝ [nedostatečný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	ABL Ct je nad hranicí přijatelnosti. Viz Obrázek 7.	
NEPLATNÝ [transkript ABL je příliš vysoký] (INVALID [Too high ABL transcript])	ABL Ct je pod hranicí přijatelnosti.				
NEPLATNÝ (INVALID)	<b>NEPLATNÝ [příliš vysoké transkripty BCR-ABL p190 a ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])</b>	Hodnoty e1a2 i ABL Ct jsou pod hranicí přijatelnosti. Viz Obrázek 8.			
NEÚSPĚCH (FAIL)	ÚSPĚCH (PASS) nebo NEÚSPĚCH (FAIL)	POS, NEG nebo NEPLATNÝ (INVALID)	<b>CHYBA (ERROR)</b>	Systém kontroly sondy nesplnil kritéria přijatelnosti. Viz Obrázek 9.	
* Podrobnosti viz karta Výsledky analytů v softwaru systému GeneXpert Dx					

Systémy GeneXpert vypočítávají výsledky automaticky na základě hodnot *prahu cyklu*(Ct) generovaných testem a parametřů specifických pro šarži přiřazených během výroby. Software aplikuje následující algoritmus, přičemž hodnota  $\Delta Ct$  (Delta Ct) se získá odečtením BCR-ABL p190 Ct od ABL Ct a hodnotami specifickými pro šarži jsou účinnost (*E*) a faktor stupňování (*SF*):

### Poznámka

Procentuální poměr = účinnost ( $\Delta Ct$ ) x faktor stupňování x 100

**Poznámka**

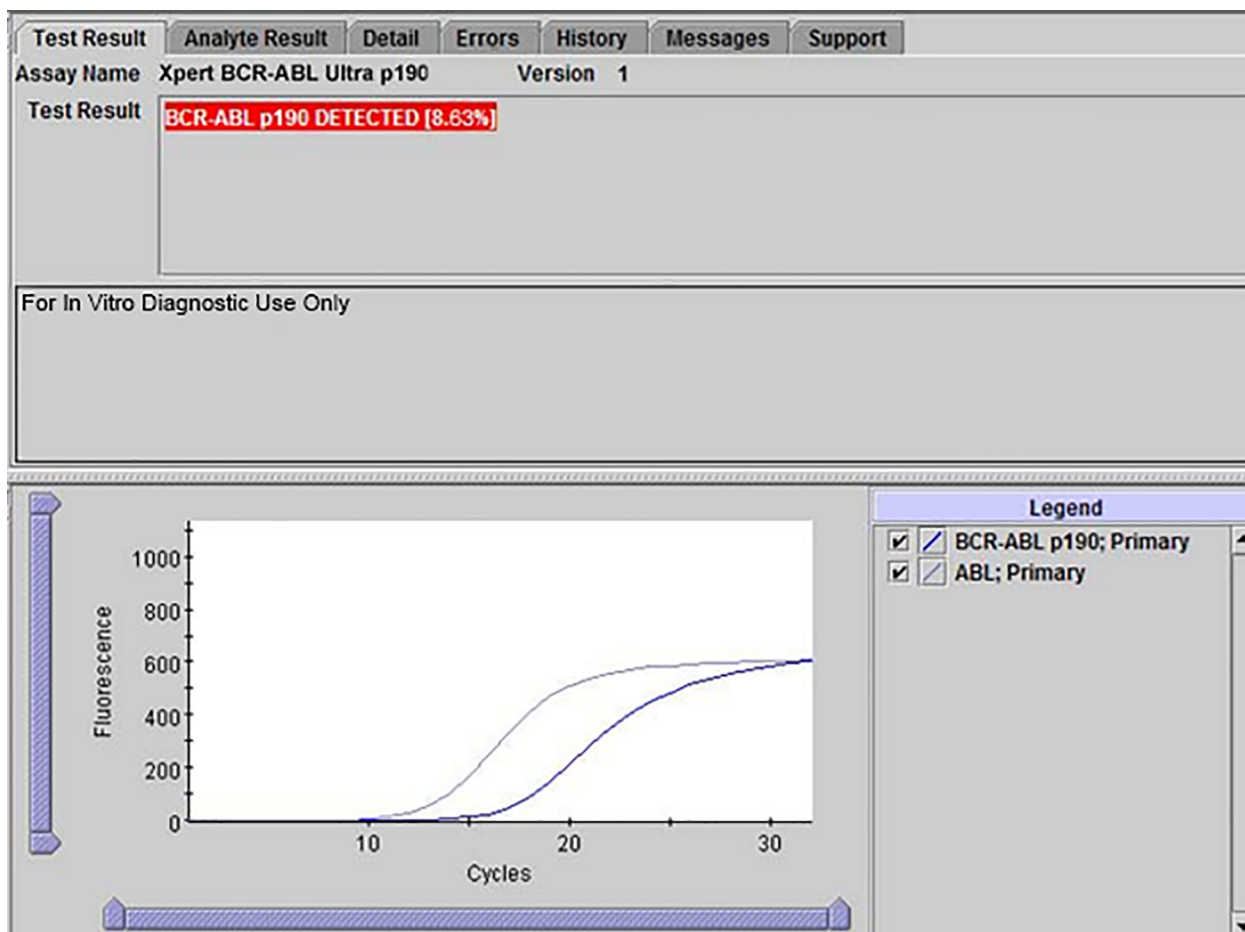
Použitím hodnoty účinnosti a faktoru stupňování se kalibruje kvantifikace transkriptů BCR-ABL1 p190 (e1a2) a ABL1 na základě počtu kopií primárních standardů sestávajících z *in vitro* transkribované RNA (IVT-RNA) syntetických BCR-ABL p190 a ABL1 RNA. Hodnoty účinnosti a faktoru stupňování jsou vloženy do čárového kódu každé kazety. Datové listy specifikace šarží jsou k dispozici u technické podpory společnosti Cepheid.

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

U výsledku „**BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [#,#] % (BCR-ABL p190 DETECTED [#.#]%)**“ je detekovatelná BCR-ABL p190 Ct větší nebo rovna „8“ a menší nebo rovna hodnotě cutoff „32“ a ABL Ct je větší nebo rovna „8“ a menší nebo rovna „18“.

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

**Výsledek:** **BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])**. Viz Obrázek 2.



Obrázek 2. Okno zobrazení výsledků GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])

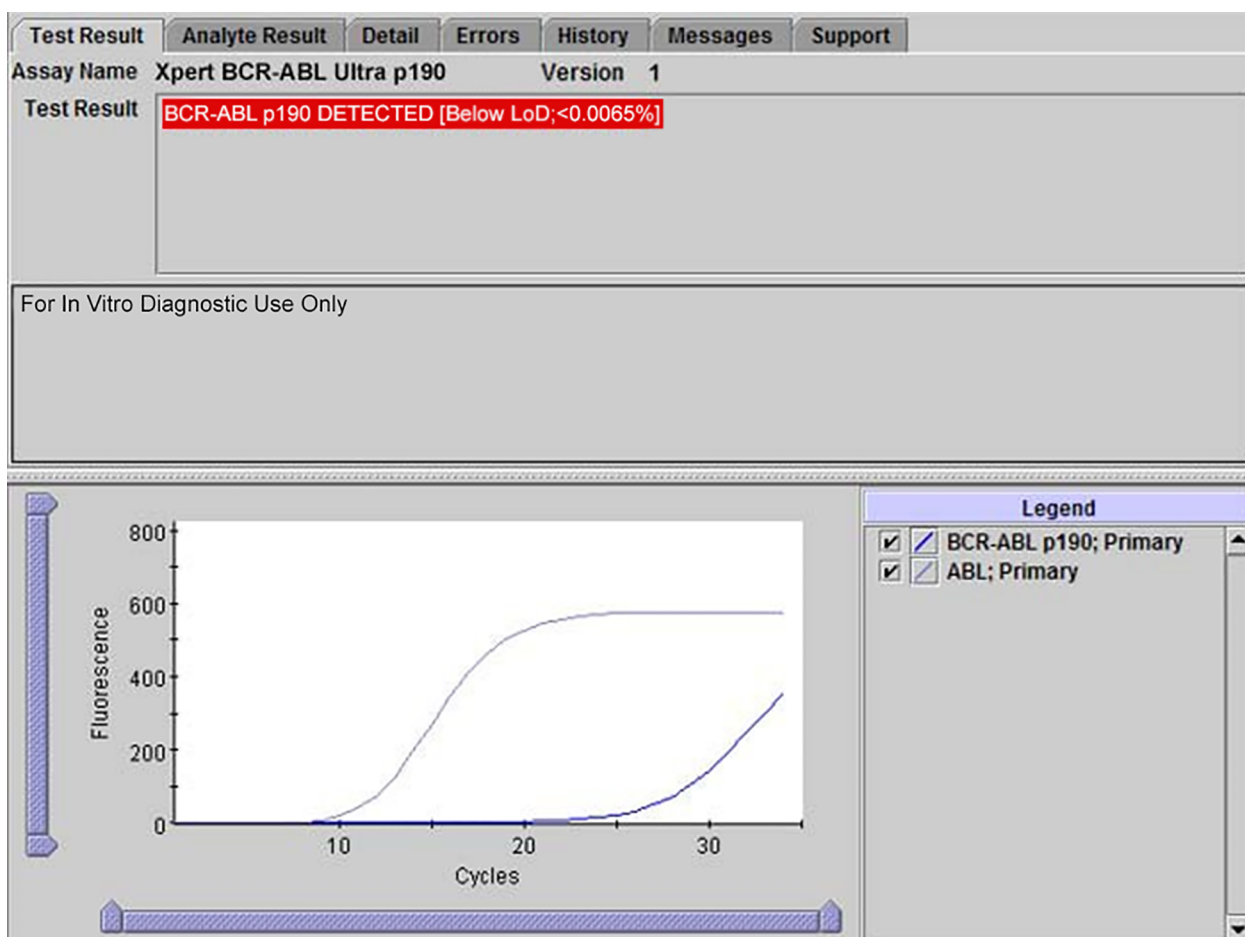
## 14.2 BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [pod LoD; <0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0,0065 %])

BCR-ABL p190 byla detekovaná při hranici <0,0065 %.

U výsledku „BCR-ABL p190 [pod dolní hranici LoQ; <0,0065 %] (BCR-ABL p190 [Below LoQ; 0,0065 %])“ je detekovatelná BCR-ABL p190 Ct větší nebo rovna „8“ a menší nebo rovna hodnotě cutoff „32“ a ABL Ct je větší nebo rovna „8“ a menší nebo rovna „18“.

**Příklad:** ABL Ct = 10,1; BCR-ABL p190 Ct = 24,8;  $\Delta Ct = -14,8$   
 $E_{\Delta Ct} = 2,05$ ;  $SF = 1,76$  specifické pro šarži  
 % poměr =  $2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044$  % je menší než definovaná horní hranice LoQ testu o 0,0065 %

**Výsledek:** BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [pod dolní hranici LoD; <0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; 0,0065 %]). Viz Obrázek 3.



Obrázek 3. Okno zobrazení výsledků GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [pod LoD; <0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0,0065 %])

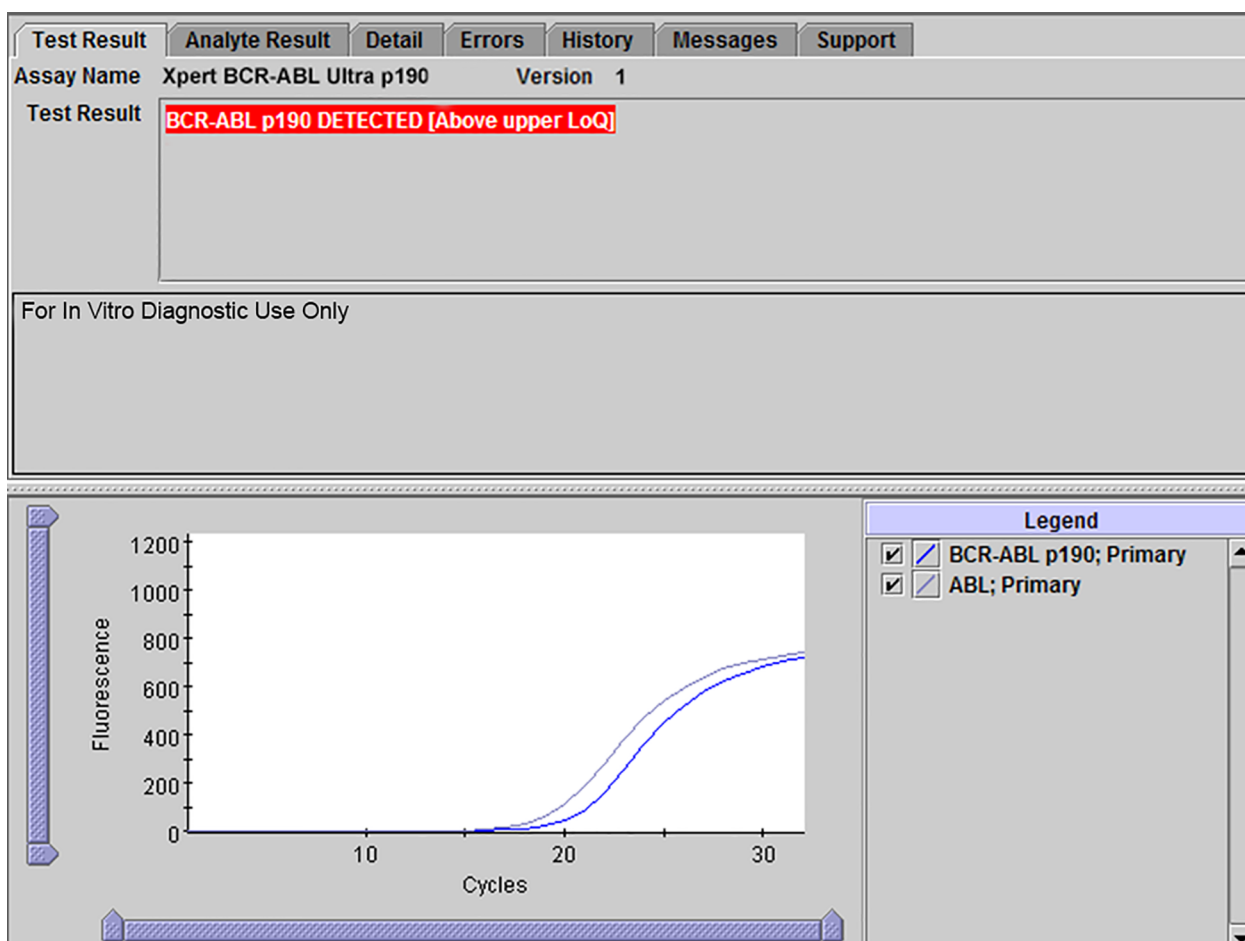
### 14.3 BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [nad horní hranicí LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

BCR-ABL p190 byla detekovaná při hladině >25 %.

U výsledku „**BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [nad horní hranicí LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**“ je detekovatelná BCR-ABL p190 Ct větší nebo rovna „8“ a menší nebo rovna hodnotě cutoff „32“ a ABL Ct je větší nebo rovna „8“ a menší nebo rovna „18“.

**Příklad:** ABL Ct = 17,2; BCR-ABL p190 Ct = 18,7;  $\Delta Ct = -1,6$   
 $E_{\Delta Ct} = 2,05$ ;  $SF = 1,76$  specifické pro šarži  
 % poměr =  $2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6$  % je větší než definovaná horní hranice LoQ testu o 25 %

**Výsledek:** **BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [nad horní hranicí LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**. Viz Obrázek 4.



Obrázek 4. Okno zobrazení výsledků GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [nad horní hranicí LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

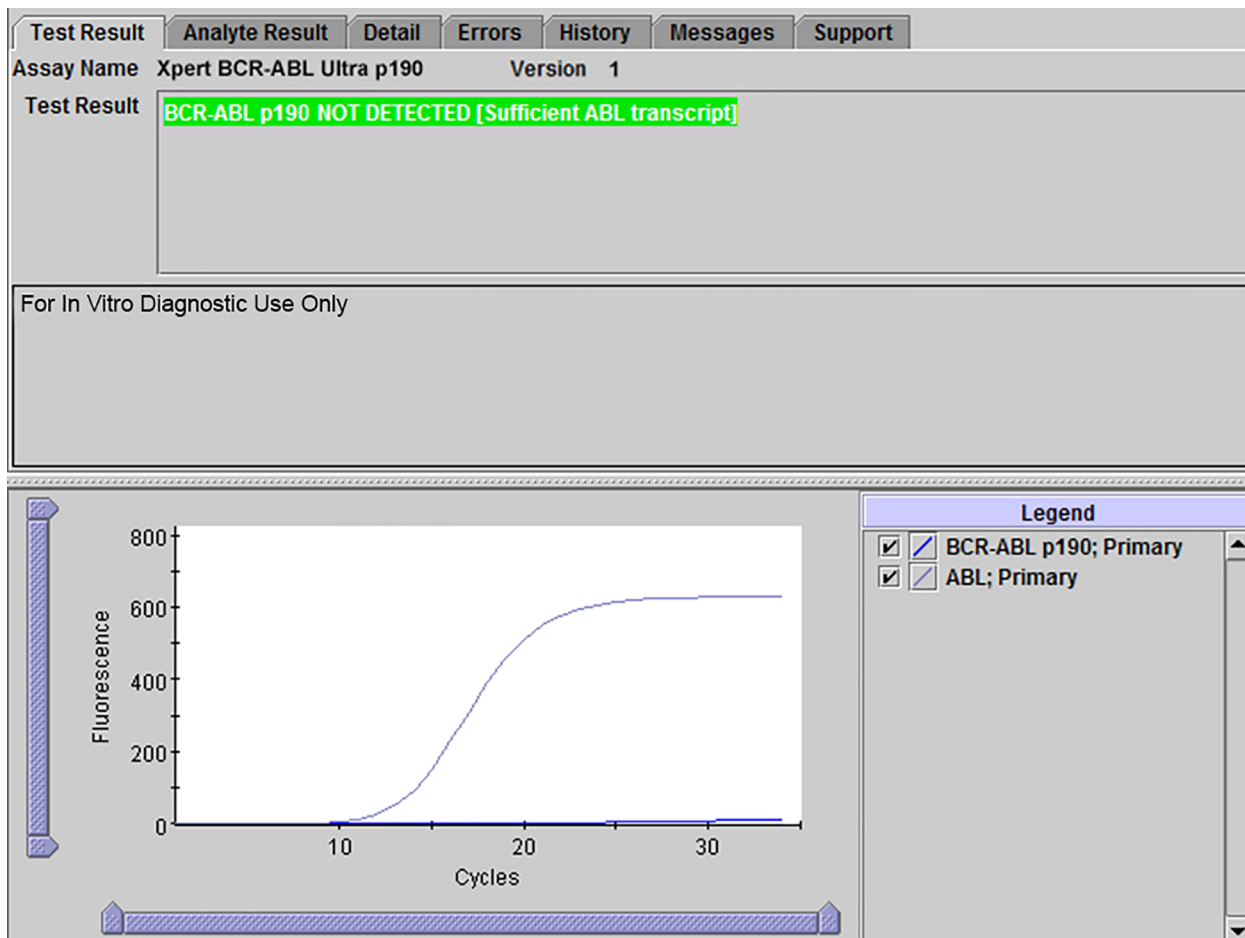
## 14.4 BCR-ABL p190 NEBYLA DETEKOVANÁ [dostatečný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 Ct nebyla detekovaná, přičemž BCR-ABL p190 Ct je rovné „0“ nebo větší než hodnota cutoff „32“ a ABL Ct je větší než „8“ a menší nebo rovna „18“.

Pokud je BCR-ABL p190 Ct nedetekovatelná a BCR-ABL p190 Ct je rovna „0“ nebo větší než hodnota cutoff „32“, software GeneXpert nejprve vyhledá ABL Ct, aby se potvrdilo, zda je ABL Ct větší nebo rovna „8“ a menší nebo rovna „18“, aby se zajistil „dostatečný transkript ABL“. Viz Tabulka 2.

**Příklad:** BCR-ABL p190 Ct = 0; ABL Ct = 11,6 je menší než „18“.

**Výsledek:** **BCR-ABL p190 NEBYLA DETEKOVANÁ [dostatečný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Viz Obrázek 5.



Obrázek 5. Okno zobrazení výsledků GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 NEBYLA DETEKOVANÁ [dostatečný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])



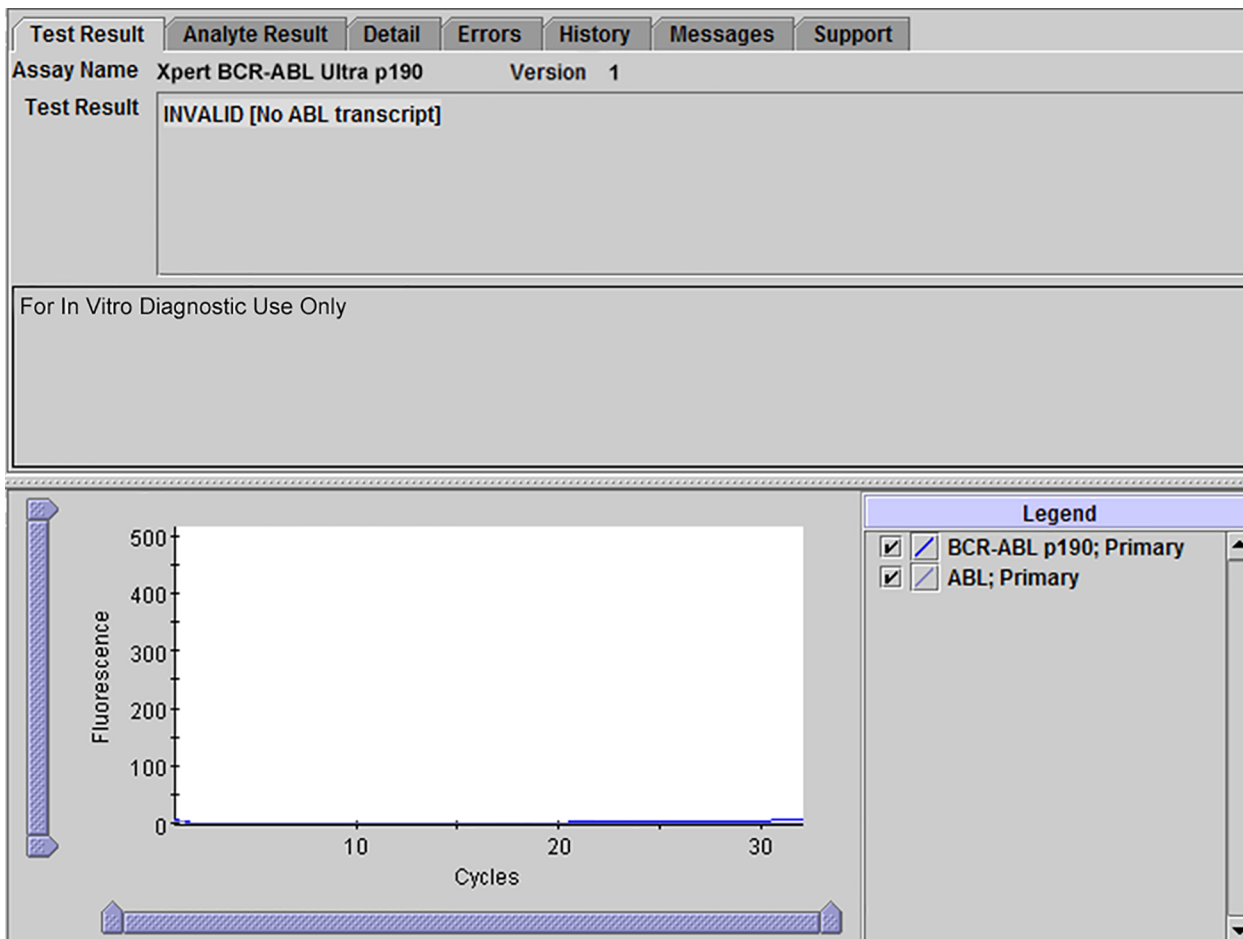
## 14.5 NEPLATNÝ [žádný transkript ABL] (INVALID [No ABL transcript])

BCR-ABL p190 nebyla detekovaná, přičemž ABL Ct se rovná „0“.

Pokud je BCR-ABL p190 buď detekovaná nebo nedetekovaná, software GeneXpert vyhledá ABL Ct, aby se potvrdilo, zda je ABL Ct menší nebo rovna „18“, což zajišťuje „dostatečný transkript ABL“. Viz Část 16, Příručka k odstraňování problémů.

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

**Výsledek:** **NEPLATNÝ [žádný transkript ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Viz Obrázek 6.



Obrázek 6. Okno zobrazení výsledků GeneXpert Dx: NEPLATNÝ [žádný transkript ABL] (INVALID [No ABL transcript])

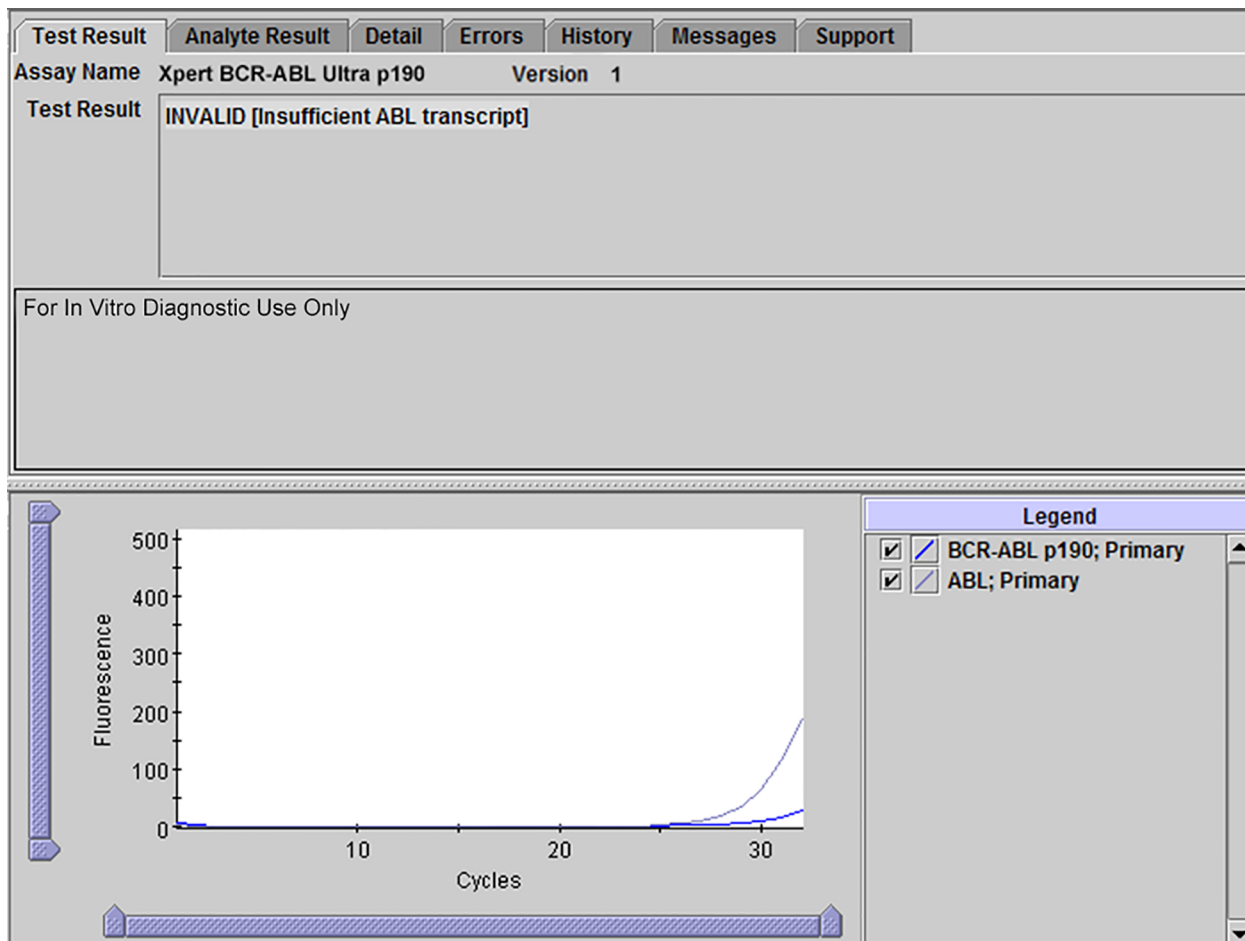
## 14.6 NEPLATNÝ [nedostatečný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 nebyla detekovaná, přičemž ABL Ct je větší než „18“.

Pokud je BCR-ABL p190 buď detekovaná nebo nedetekovaná, software GeneXpert vyhledá ABL Ct, aby se potvrdilo, zda je ABL Ct menší nebo rovna „18“, což zajišťuje „dostatečný transkript ABL“. Viz Část 16, Příručka k odstraňování problémů.

**Příklad:** BCR-ABL p190 Ct = 31,2; ABL Ct = 28 je větší než „18“.

**Výsledek:** **NEPLATNÁ [nedostatečný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Viz Obrázek 7.



Obrázek 7. Okno zobrazení výsledků GeneXpert Dx: NEPLATNÝ [nedostatečný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

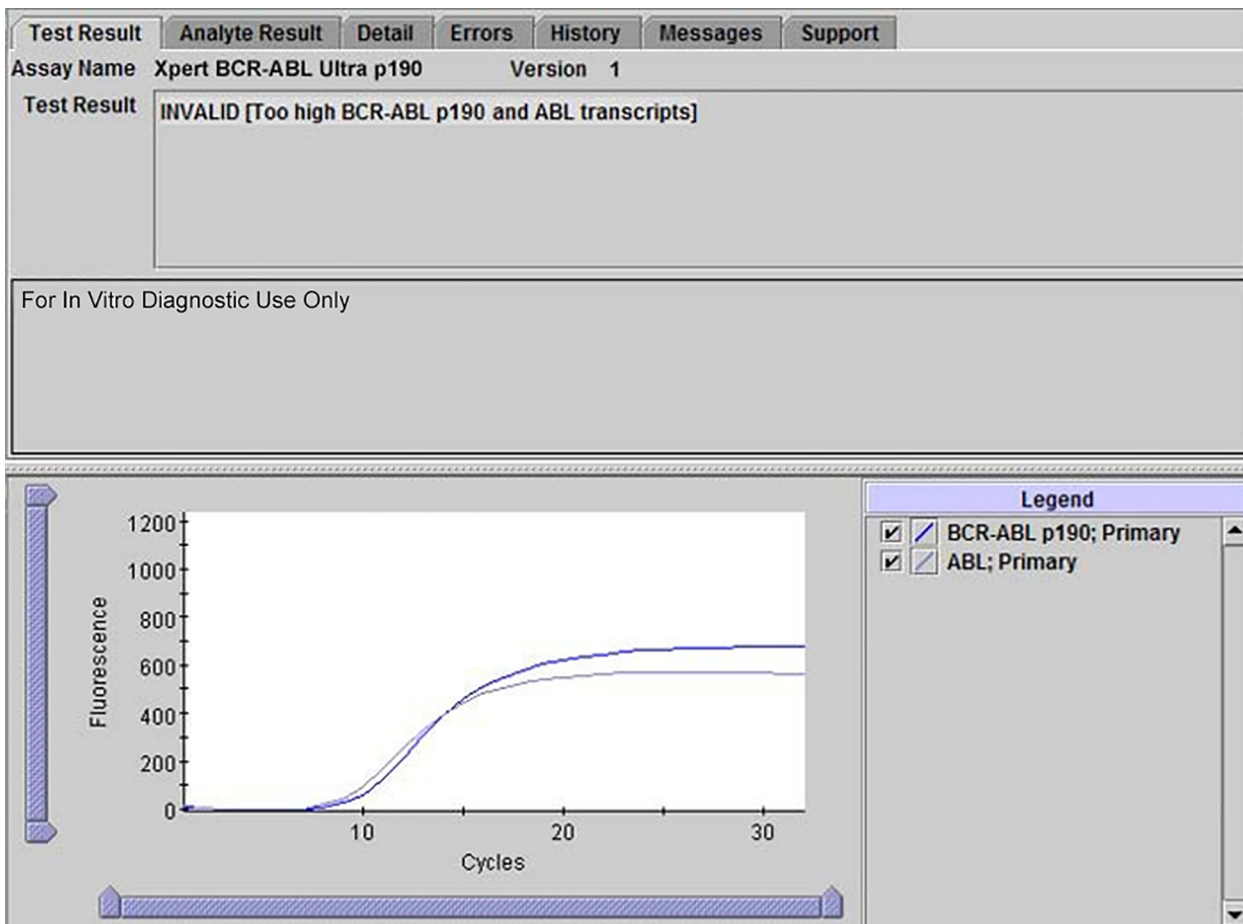
## 14.7 NEPLATNÝ [příliš vysoké transkripty BCR-ABL p190 a ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

BCR-ABL p190 byla detekovaná, přičemž BCR-ABL p190 i ABL Ct jsou nižší než „8“.

Pokud je BCR-ABL p190 buď detekovaná nebo nedetekovaná, software GeneXpert vyhledá ABL Ct, aby se potvrdilo, zda je ABL Ct menší nebo rovna „18“, což zajišťuje „dostatečný transkript ABL“. Viz Část 16, Příručka k odstraňování problémů.

**Příklad:** BCR-ABL p190 Ct = 7,9; ABL Ct = 7,6 je menší než „8“.

**Výsledek:** **NEPLATNÁ [příliš vysoké transkripty BCR-ABL p190 a ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])**. Viz Obrázek 8.



Obrázek 8. Okno zobrazení výsledků GeneXpert Dx: NEPLATNÝ [příliš vysoké transkripty BCR-ABL p190 a ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

## 14.8 CHYBA (ERROR)

Obrázek 9. Okno zobrazení výsledků GeneXpert Dx: CHYBA (ERROR)

## 15 Omezení

- Výrobek je určen pouze pro diagnostiku *in vitro*.
- Test není určen k použití s externími kalibrátory.
- Test není indikován k rozhodnutí o přerušení léčby T ani k monitorování po přerušení léčby.
- Funkčnost testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 byla vyhodnocena pouze pomocí postupů uvedených v tomto návodu k použití. Úpravy těchto postupů mohou ovlivnit funkčnost testu.
- Tento výrobek byl ověřen u krve odebrané do zkumavek EDTA.
- Jako koagulant nepoužívejte heparin, protože ten může inhibovat reakci PCR.
- Vzorky typu citrát sodný (citrát Na), buffy-coat a kostní dřev nebyly ověřeny.
- Při nesprávném odběru, manipulaci nebo skladování vzorků či při jejich záměně může dojít k chybným výsledkům testu. Je nutné přísně dodržovat návod k použití, aby se zabránilo chybným výsledkům.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 je určen pouze k detekci fúzního transkriptu p190 BCR-ABL e1a2. Schopnost detekovat ostatní fúzní transkripty nebyla ověřena mimo rámec popsany v tomto návodu k použití. Test nedetekuje významné nebo mikro místa zlomu, mikrodelece nebo mutace.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 není určen k detekci e13a2/b2a2 a e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) nebo jiných drobných translokací, které mohou být přítomny ve vzorku periferní krve pacienta s leukémií.
- U některých vzorků s velmi vysokými počty leukocytů (vyšší než 30 milionů buněk/ml) může Xpert BCR-ABL Ultra p190 vykázat výsledky **NEPLATNÝ (INVALID)** (typ 2) z důvodu nadměrných hladin BCR-ABL p190 nebo ABL ve vzorku. Další informace viz Tabulka 2.
- Některé vzorky s velmi nízkými hladinami transkriptu ABL nebo s počtem leukocytů nižším než 150 000 buněk/ml mohou vykazovat **NEPLATNÝ (INVALID)** výsledek (typ 1). Neurčitý výsledek nevylučuje přítomnost velmi nízkých hladin leukemických buněk u pacienta.
- Transkript CML p230 s mikro místem zlomu e19a2 může vykazovat pozitivní výsledek BCR-ABL pod dolní hranici LoD testu (0,0065 %), je-li testován při vyšších cílových hladinách (>3,52 logů nad LoD).

- Mutace nebo polymorfismy v regionech vazby primerů nebo sond mohou ovlivnit detekci nových nebo neznámých variant, což může vést k falešně negativním výsledkům.
- Někteří pacienti s velmi nízkými hladinami transkriptů BCR-ABL1 (tj. pod dolní hranici LoD 0,0065 %) mohou být vykázáni jako **BCR-ABL p190 NOT DETECTED [dostatečný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Nedetekovaný výsledek tudíž nevylučuje přítomnost nízkých hladin leukemických buněk u pacienta.
- Test je ověřen pro použití na GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

## 16 Příručka k odstraňování problémů

Tabulka 2. Příručka k odstraňování problémů

Výsledek testu	Možné příčiny	Návrhy
<b>NEPLATNÝ (INVALID)</b>	Typ 1: Selhala ABL endogenní kontroly: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Špatná kvalita vzorku</li> <li>• Inhibice RT-PCR</li> <li>• Pokud je ABL Ct &gt;18 a/nebo koncový parametr &lt;200</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zkontrolujte kvalitu vzorku (např. porušení podmínek uskladnění vzorku, včetně doby a teploty).</li> <li>• Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu a nové kazety za použití postupu popsaného v Část 17.1, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 1).</li> </ul>
	Typ 2: Hranici transkripce BCR-ABL nelze stanovit, jelikož vzorek obsahuje přebytečné transkripce BCR-ABL p190 a/nebo ABL (Ct <8)	Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu a nové kazety za použití postupu popsaného v Část 17.2, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) (kód 2008) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 2).
<b>CHYBA (ERROR)</b> (kód 2008)	Tlak přesahuje hranici (chybová zpráva 2008)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zkontrolujte kvalitu vzorku</li> <li>• Zkontrolujte silně zvýšené hladiny leukocytů</li> <li>• Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu a nové kazety za použití postupu popsaného v Část 17.2, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) (kód 2008) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 2).</li> </ul>
<b>CHYBA (ERROR)</b> (kód 5006, 5007, 5008 a 5009) <sup>a</sup>	Kontrola sondy selhala	Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu s novou kazetou za použití postupu popsaného v Část 17.1, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 1).
<b>ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)</b>	Odběr dat selhal. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení.	Zopakujte test s původním vzorkem (je-li k dispozici) nebo z uchovaného lyzátu s novou kazetou za použití postupu popsaného v Část 17.1, Postup opakovaného testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 1).

<sup>a</sup> Nejedná se o plný seznam chybových kódů.

## 17 Opakované testy

### 17.1 Postup při opakovaném testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 1)

Opakované testy vzorků s výsledkem **CHYBA (ERROR)** nebo **NEPLATNÝ (INVALID)** z toho důvodu, že práh cyklu (Ct) ABL přesahuje maximální hodnotu cutoff Ct (Ct >18) nebo proto, že koncový parametr je pod nastavenou hranicí (<200). Také viz Tabulka 2.

1. Změřte objem vzorku krve:

- Pokud je k dispozici *dostatečné* množství vzorku, zopakujte test za použití původní odběrové zkumavky se vzorkem krve podle postupu v Část 11.2.1.

-NEBO-

- Pokud je objem vzorku krve *nedostatečný*, opakovaný test lze provést za použití lyzátu uloženého v Část 11.2.1, kroku 12.
    - a. Je-li lyzát uložený v Část 11.2.1, kroku 12 skladován ve zmrazeném stavu, před použitím jej vytemperujte na pokojovou teplotu.
    - b. Ujistěte se, že je lyzát řádně promíchán tak, že jej nepřetržitě po dobu 10 vteřin promícháte vortexovou míchačkou nastavenou na maximální výkon, a poté ji na 3 minuty necháte stát, aby se usadily bublinky. Přejděte na krok 2.
2. Přeneste 1 ml uloženého lyzátu do nové 50ml kónické zkumavky.
3. Do nové kónické zkumavky obsahující lyzát přidejte 1,5 ml lyzační reagensie (LY).
4. Pro přípravu konečného lyzátu postupujte podle kroků 14–17 v Část 11.2.1.
5. Otevřete kazetu zvednutím víka kazety a vyprázdněte veškerý obsah ampule promývací reagensie (1) do komory pro promývací reagensii (s malým otvorem). Viz Obrázek 1.
6. Napipetujte veškerý obsah připraveného vzorku do komory na vzorek (velký otvor), viz Obrázek 1.
7. Zavřete víko kazety. Spusťte test (viz Část 11.4).

### 17.2 Postup při opakovaném testu, je-li výsledek CHYBA (ERROR) (kód 2008) nebo NEPLATNÝ (INVALID) (typ 2)

Znovu otestujte vzorky s hladinami transkriptu BCR-ABL a/nebo ABL pod platnou minimální hodnotou cutoff Ct (Ct < 8) a/nebo když je přesažen limit tlaku. Také viz Tabulka 2.

1. Na dno nové 50ml kónické zkumavky přidejte 100 µl PK (proteinázy K).

2. Změřte objem vzorku krve:

- Pokud je k dispozici *dostatečné* množství vzorku, zopakujte test za použití původní odběrové zkumavky se vzorkem krve. Těsně před pipetováním zajistěte řádné promíchání vzorku krve tak, že odběrovou zkumavku na krev 8krát obrátíte. Přejděte na krok 3.

-NEBO-

- Pokud je objem vzorku krve *nedostatečný*, opakovaný test lze provést z lyzátu uloženého v Část 11.2.1, kroku 12.
    - a. Je-li lyzát uložený v Část 11.2.1, kroku 12 skladován ve zmrazeném stavu, před použitím jej vytemperujte na pokojovou teplotu. Používáte-li chlazený lyzát, před použitím jej vytemperujte na pokojovou teplotu.
    - b. Ujistěte se, že je lyzát řádně promíchán tak, že jej nepřetržitě po dobu 10 vteřin promícháte vortexovou míchačkou nastavenou na maximální výkon, a poté ji na 3 minuty necháte stát, aby se usadily bublinky. Přejděte na krok 3.
3. Do zkumavky, která již obsahuje proteinázu K, přidejte 50 µl vzorku krve, pokud je k dispozici, nebo 80 µl lyzátu uloženého v Část 11.2.1, krok 12.
4. Promíchejte vzorek na vortexové míchačce nastavené na maximální výkon, a to nepřetržitě po dobu 3 vteřin.
5. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 1 minuty.
6. Pro přípravu konečného lyzátu postupujte podle kroků 6–13 v Část 11.2.2.
7. Otevřete kazetu zvednutím víka kazety a vyprázdněte veškerý obsah ampule promývací reagensie (1) do komory pro promývací reagensii (s malým otvorem). Viz Obrázek 1.
8. Napipetujte veškerý obsah připraveného vzorku do komory na vzorek (velký otvor). Viz Obrázek 1.

9. Zavřete víko kazety. Spusťte test (viz Část 11.4).

## 18 Očekávané hodnoty

Xpert BCR-ABL Ultra p190 pokrývá klíčové body klinických rozhodnutí pro monitorování CML a ALL. Očekávané hodnoty jsou vyjádřeny jako procentuální poměr BCR-ABL p190 mRNA (e1a2) oproti ABL mRNA a jsou v rozsahu od 0,0065 % 25 %. Měření pod dolní hranicí tohoto rozsahu jsou vykazována jako nedetekovaná nebo pod dolní hranicí limitu detekce (LoD). Měření nad horní hranicí tohoto rozsahu jsou vykazována jako nad horní hranicí limitu kvantifikace (LoQ). Podrobnosti viz Část 14.

## 19 Klinický výkon

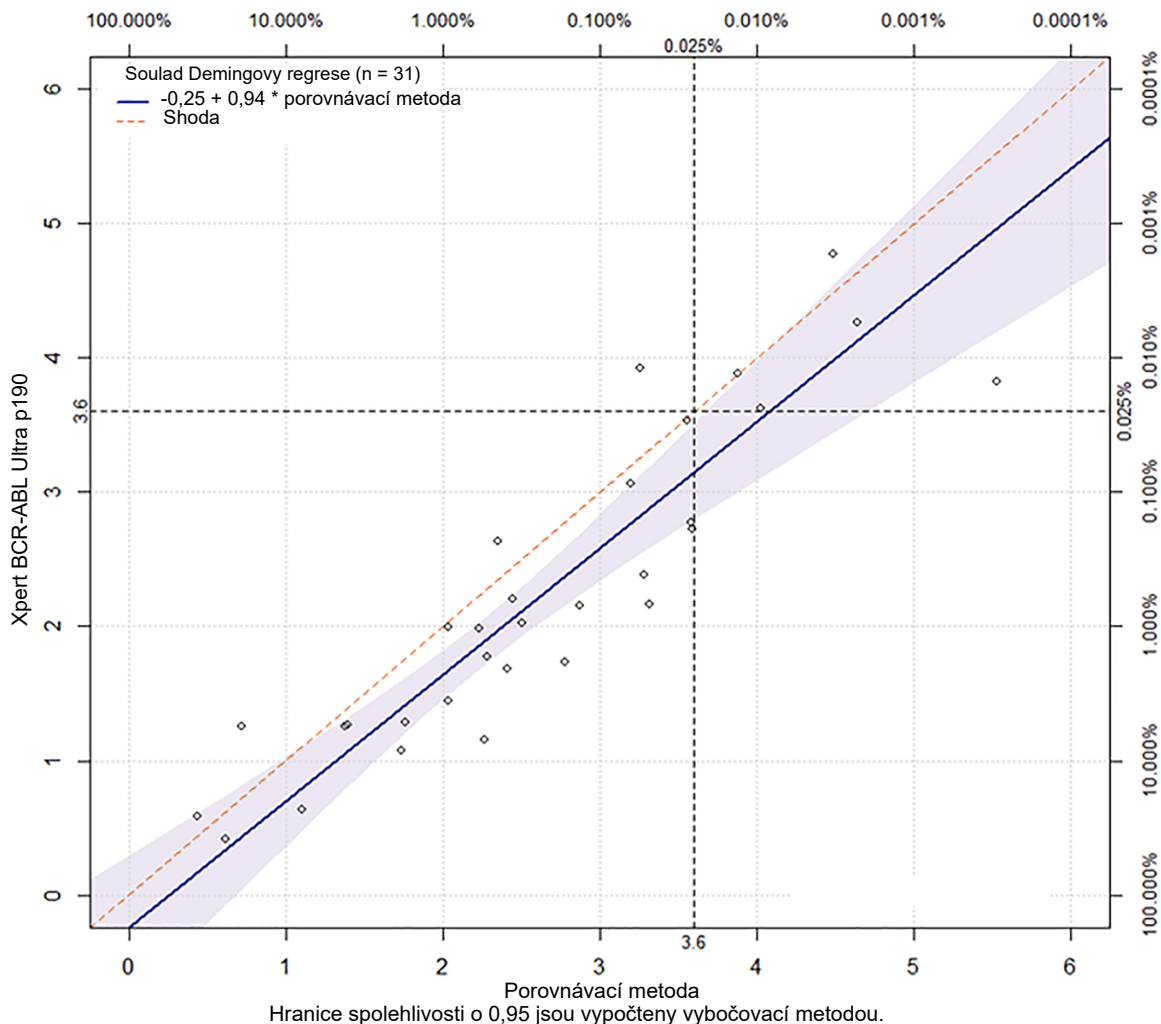
Klinický výkon testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 byl hodnocen ve třech zdravotnických zařízeních v USA v rámci multicentrické klinické studie. Studie byla provedena za použití prospektivně odebraných vzorků periferní krve (PB) s EDTA od pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) a chronickou myeloidní leukémií (CML) během monitorování léčby. Studie kromě toho zahrnovala zbylé vzorky uložené jako zmrazené klinické lyzáty, které byly připravené z PB s EDTA od stejné populace pacientů. Výkon testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 byl porovnán s molekulárním testem, který detekuje a kvantifikuje transkripty mRNA pro pacienty s CML a ALL pozitivní na p190 [t(9;22)(q34;q11)] s expresí fúzního transkriptu BCR-ABL1 typu e1a2 a používá ABL jako transkript mRNA endogenní kontroly.

Do této studie bylo zařazeno celkem 47 vzorků. Z těchto 47 vzorků 9 poskytlo výtěžek RNA ve výši < 100 ng/ml a bylo z analýz vyřazeno. Bylo vyřazeno celkem 9 vzorků, což znamená, že ve finálním souboru dat bylo zařazeno 38 vzorků. Je důležité vzít na vědomí, že ze všech 9 vyřazených vzorků byly získány platné výsledky testu Xpert BCR-ABL Ultra p190.

K 38 vzorkům zařazených do této studie byly odebrány věk a pohlaví. Vzorky byly odebrány od 25 mužů (65,8 %) a 13 žen (34,2 %). Všechny vzorky byly od pacientů ve věku od 20 do 88 let o průměrném věku 54,5 let. Třidvacet (61 %) vzorků bylo odebráno od pacientů s diagnózou ALL a 15 (39 %) vzorků bylo odebráno od pacientů s diagnózou CML.

Z 38 způsobilých vzorků bylo sedm (7) vzorků vyřazeno z Demingovy regrese, jelikož byly negativní v nejméně jednom testu. Do Demingovy regresní analýzy bylo zařazeno jedenáct vzorků spadajících do kvantitativního rozsahu v obou testech.

Demingova regresní analýza výsledků procentuálního poměru (PR) prokazuje dobrou korelaci mezi Xpert BCR-ABL Ultra p190 a měřeními srovnávací metodou z hlediska měření PR. Průsečík byl 0,01 a směrnice byla 1,08; oba splnili kritérium přijatelnosti. Pearsonovo r bylo 0,814. Bylo provedeno logaritmické snížení (LR), aby se normalizovala distribuce dat PR. Byla provedena Demingova regresní analýza za použití měření LR a výsledky jsou zobrazeny v Obrázek 10 níže.



**Obrázek 10. Demingova regrese pro LR**

Obrázek 10 ukazuje vysokou korelaci mezi Xpert BCR-ABL Ultra p190 a testy srovnávací metody pro měření LR. Demingova regrese má směrnici 0,94 a průsečík -0,25. Výsledky Demingovy regrese pro hodnoty LR také splňují kritéria přijatelnosti pro průsečík a směrnici. Celková korelace (Pearsonova)  $r = 0,904$  byla vysoká.

Pozitivní prediktivní bias o 0,01 a procentuálním hlášení (LR: -0,39) i distribuce naznačují, že test Xpert u většiny vzorků naměří vyšší koncentraci transkriptu p190 v porovnání se srovnávacím testem. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 ukazuje vysokou korelaci o 0,904 se srovnávacím testem a za použití měření LR měl nízký bias. Poměr neurčitých výsledků pozorovaný v této studii byl 0 % a kritérium přijatelnosti neurčitých  $\leq 5$  % bylo také splněno. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 ukázal přijatelnou shodu se srovnávacím testem, jak bylo prokázáno směrnici a průsečíkem v Demingově regresní analýze.

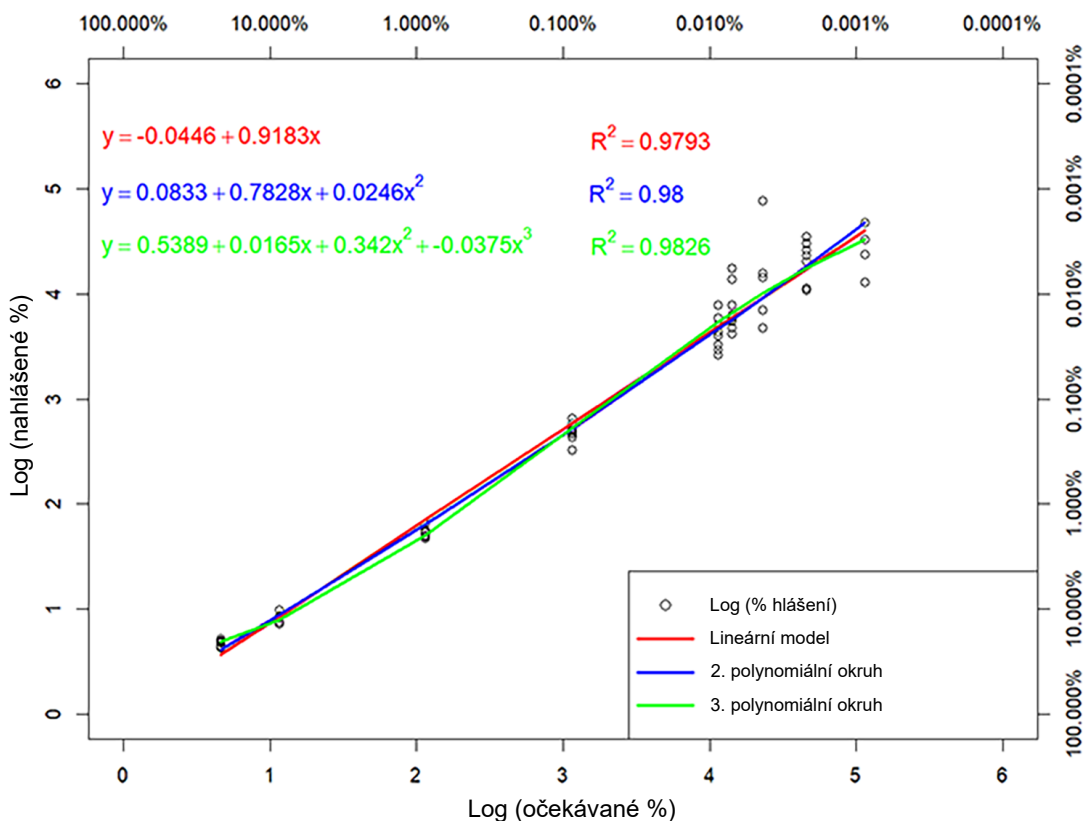
## 20 Analytický výkon

### 20.1 Rozsah linearity/dynamický rozsah

Linearita byla vyhodnocena pro drobné místo zlomu, e1a2, za použití celkové RNA z buněčné linie ALL SUP-B15. Celková RNA z transkriptu BCR-ABL p190 byla zředěna v základním lyzátu připraveném z klinického vzorku negativního na ALL pro zaměření na rozsahy ~25 % až 0,001 % (LR [snížení logu] 0,60 na LR5). Členy panelu, včetně negativní hladiny, byly testovány na dvou šaržích soupravy testu v replikátech 4 testů na jednu šarži soupravy.



Testování a analytické analýzy byly provedeny v souladu s CLSI EP06-A. Analýzy lineární regrese byly provedeny u prvního, druhého a třetího polynomiálního okruhu. Výsledky pro místo zlomu e1a2 byly považovány za lineární, pokud byly koeficienty polynomiální regrese nevýznamné (hodnoty  $p > 0,05$ ). Křivka lineární regrese je zobrazena v Obrázek 11 níže.



Obrázek 11. Křivky lineárních regresí transkriptu místa zlomu e1a2

Odhadované regresní průsečníky, směrnice a hodnoty  $R^2$  z lineárního modelu jsou zobrazeny v Tabulka 3.

Tabulka 3. Koeficienty regrese z lineárního modelu

Místo zlomu	Průsečník	Směrnice	$R^2$
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Souhrnná data podporují vypořádanou linearitu od ~25 %/LR 0,60 do 0,001 %/LR5 s maximální SD 0,26. Rozsah podléhající hlášení je v rozpětí od limitů linearitu o 25 %/LR0,6 po LoQ o 0,0065 %/LR4,19.

## 20.2 Analytická senzitivita (limit detekce, limit kvantifikace, limit blanku)

Limit detekce (LoD) pro místo zlomu e1a2 byl odhadnut testováním řady ředění klinických vzorků pozitivních na ALL [ $> 10\%$ ]. Data byla shrnuta napříč ředěními a LoD byl odhadnut použitím regresní analýzy probit. Výsledná analýza pro místo zlomu e1a2 poskytla odhadovaný LoD 0,0070 %.

LoD byl ověřen adaptací neparametrické metody popsané v dokumentu s pokyny CLSI, EP17-A2 (Tabulka 4). Tři unikátní ALL pozitivní vzorky představující místo zlomu e1a2 byla nařazena na cílenou hladinu 0,0065 %. Čtyři operátoři testovali dvě stě patnáct replikátů napříč 3 šaržemi testovacích souprav po dobu 3 dnů.

Tabulka 4. Ověřený limit detekce v %

Místo zlomu	Pozitivní/replikáty	% pozitivních	Průměrný poměr %
e1a2	206/215	96,0 %	0,0065 %

Xpert BCR-ABL Ultra p190 LoD pro e1a2 je 0,0065 %.

Limit kvantifikace (LoQ) byl odhadnut použitím dat získaných z LoD a studií linearity. Průměrné a směrodatné odchylky pro % hodnoty BCR-ABL p190/ABL byly vypočteny pro replikáty s hladinami rovnými LoD nebo vyššími a pozitivitou vyšší nebo rovnou 95 %. LoQ se uvádí jako minimální % hlášení BCR-ABL p190/ABL, které lze spolehlivě kvantifikovat a které splňuje cíl preciznosti detekce transkriptu e1a2 s pozitivitou větší nebo rovnou 95 %, se směrodatnou odchylkou logaritmického snížení (LR)  $\leq 0,36$  LR. LoQ testu je omezen LoD testu; LoQ byl tudíž stanoven jako rovnající se LoD, tedy 0,0065 %. Výsledky byly rovněž vyhodnoceny oproti kritériu přijatelnosti pro směrodatnou odchylku (SD)  $\leq 0,36$  LR a byly v mezích kritérií přijatelnosti.

Byla provedena studie limitu blanku (LoB) pro odhad nejvyššího % poměru BCR-ABL p190/ABL, jehož detekce je pravděpodobná ve  $\geq 95\%$  p190-negativních vzorků plné krve s EDTA. Test LoB byl stanoven z 387 platných datových bodů v necenzurované neparametrické analýze s cílem odhadnout LoB 0,00032 % BCR-ABL p190/ABL, jak je popsáno v CLSI EP17-A2.

## 20.3 Analytická specifita

Analytická specifita testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 byla vyhodnocena testováním vzorků EDTA plné krve odebrané od dvaceti (20) zdravých dárců (bez CML a bez ALL). Každý vzorek byl testován ve čtyřech replikátech.

Signál BCR-ABL p190 byl detekován v jednom z 80 replikátů, což prokazuje analytickou specifitu testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 pro transkript BCR-ABL p190 98,8 %.

## 20.4 Kontaminace z přenosu

Byla provedena studie, jejímž cílem bylo prokázat, že soběstačné kazety GeneXpert na jedno použití brání v kontaminaci z přenosu z kazet, které jsou následně testovány ve stejném modulu. Bylo to prokázáno tak, že po vysoce pozitivních vzorcích byly ve stejném modulu GeneXpert testovány negativní vzorky. Tato studie sestávala ze zpracování normálního **NEGATIVNÍHO** vzorku (krev negativní na ALL) s EDTA ve stejném modulu GeneXpert bezprostředně po vysoce **POZITIVNÍM** vzorku (simulované krve pozitivní na ALL), přičemž z buněk SUP-B15 přidaných do krve negativní na ALL bylo získáno  $\geq 10\%$ . Schéma testování bylo u každého vzorku zopakováno 10krát, přičemž se začínalo a končilo s negativním vzorkem, na dvou modulech GeneXpert, což vedlo k 21 negativním a 20 pozitivním výsledkům na modul. Všech dvacet vzorků pozitivních na BCR-ABL p190 bylo správně hlášeno jako **BCR-ABL p190 DETEKOVANÁ [#,#%] (BCR-ABL p190 DETECTED [#,##%])**, zatímco všech jedenáct vzorků negativních na BCR-ABL p190 bylo správně hlášeno jako **BCR-ABL p190 NEBYLA DETEKOVÁNA [dostatečný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

## 20.5 Potenciálně interferující látky

Tato studie vyhodnotila pět látek, které mohou být přítomny ve vzorcích plné krve s EDTA a mohou potenciálně interferovat s výkonem testu Xpert BCR-ABL Ultra p190. Testované složky a hladiny (viz Tabulka 5) se zakládaly na pokynech v dokumentu CLSI EP07-A2. Interferující látky byly testovány na pozadí vzorků plné krve ALL EDTA, vytvořených pomocí buněk ALL SUP-B15, které představovaly tři hladiny s pěti vzorky na každé hladině: > 1 %, 0,1–0,02 % a negativní. Kontroly testu sestávaly z buněk SUP-B15 v plné krvi s EDTA a příslušnou úrovní transkriptu BCR-ABL p190 bez interferující látky. Každý vzorek ALL byl testován za nepřítomnosti i za přítomnosti pěti jednotlivých interferujících látek ve 4 replikátech na stav.

Látka byla považována za neinterferující, pokud v její přítomnosti vypočítaný průměrný % poměr vykazoval nanejvýš trojnásobný rozdíl ve srovnání s kontrolou.

U žádných interferujících látek hodnocených v této studii nebyly pozorovány žádné klinicky významné inhibiční účinky testu Xpert BCR-ABL Ultra p190. Přestože v některých testovacích podmínkách byly vypočítány jisté variability a statisticky významné rozdíly (hodnota  $p = < 0,05$ ), vykázané % poměry pro podmínky testu a kontroly spadaly do přijatelného trojnásobného rozsahu.

**Tabulka 5. Potenciálně interferující látky testované použitím Xpert BCR-ABL Ultra p190**

Interferující látky	Testovaná koncentrace
Nekonjugovaný bilirubin	20 mg/dl
Cholesterol celkem	500 mg/dl
Triglyceridy celkem (lipidy)	3 000 mg/dl
Heparin	3 500 U/l
EDTA (krátký odběr)	900 mg/dl

## 21 Reprodukovatelnost a preciznost

Reprodukovatelnost a preciznost testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 byly vyhodnoceny v multicentrické studii v souladu s CLSI EP05-A3. „Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních metod měření; schválené pokyny“ a CLSI EP15-A3, „Ověření výkonu uživatelem pro potvrzení preciznosti a pravdivosti, schválené pokyny“.

Tabulka 6 znázorňuje panel o pěti vzorcích, které byly připraveny a zahrnuty do této studie.

**Tabulka 6. Panel reprodukovatelnosti pro Xpert BCR-ABL Ultra p190**

Vzorek č.	Popis panelu	detekovaná hladina BCR-ABL p190/ABL (procentuální poměr)
1	LR1: e1a2	~10 %
2	LR2: e1a2	~1 %
3	LR3: e1a2	~0,1 %
4	LR3.7: e1a2	~0,02 %
5	Negativní	Nedetekovaná

Každý z pěti členů panelu byl testován dvakrát v duplikátech v šesti různých dnech dvěma různými operátory na třech různých pracovištích. Byly použity tři šarže souprav Xpert BCR-ABL Ultra p190 a každý operátor provedl testy s jednou šarží (3 pracoviště x 2 operátoři x 3 šarže x 2 dny (2 dny testování na každou šarží kazet) x 2 cykly x 2 replikáty = 144 replikátů na člena panelu).

Tabulka 7. Směrodatná odchylka a variační koeficient (CV) s procentním poměrem (PR)

Člen panelu	N	Střední hodnota	Pracoviště		Operátor		Šarže		Den		Cyklus		V testovacím rozsahu		Celkem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (poměr ~10 %)	144	14,04	0,20	1,44	0,00	0,00	3,14	22,35	0,55	3,94	0,00	0,00	1,63	11,60	3,58	25,53
LR2: e1a2 (poměr ~1 %)	144	1,65	0,14	8,58	0,00	0,00	0,61	36,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	19,35	0,70	42,45
LR3: e1a2 (poměr ~0,1 %)	144	0,16	0,01	6,15	0,00	0,00	0,08	50,18	0,01	5,26	0,00	0,00	0,04	24,42	0,09	56,39
LR3.7: e1a2 (poměr ~0,02 %)	143 <sup>a</sup>	0,03	0,00	6,60	0,00	0,00	0,02	62,48	0,00	11,43	0,00	0,00	0,01	43,56	0,02	77,30

<sup>a</sup> Jeden vzorek vykázal neurčitý výsledek při testu i opakovaném testu.

Celkový variační koeficient (CV%) procentuálního poměru vykazujícího kvantitativní hodnoty se u pozitivních vzorků pohyboval v rozmezí od 25,53 do 77,30. Složka odchylky pro vykazované hodnoty PR nepřekročila 50 % celkové odchylky testu u následujících faktorů: Mezi pracovišti, mezi operátory, mezi dny, mezi cykly. Analýza odchylky kvantitativní střední hodnoty PR poskytla podobné výsledky.

Tabulka 8. Směrodatná odchylka a variační koeficient (CV) snížení logu (LR)

Člen panelu	N	Střední hodnota	Pracoviště		Operátor		Šarže		Den		Cyklus		V testovacím rozsahu		Celkem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (poměr ~10 %)	144	0,86	0,01	1,47	0,00	0,00	0,10	11,17	0,02	2,53	0,00	0,00	0,05	5,87	0,11	26,17
LR 2: e1a2 (poměr ~1 %)	144	1,81	0,03	1,93	0,00	0,00	0,15	8,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	3,64	0,17	40,75
LR 3: e1a2 (poměr ~0,1 %)	144	2,84	0,03	1,06	0,00	0,00	0,22	7,60	0,01	0,51	0,00	0,00	0,09	3,34	0,24	59,16
LR 3.7: e1a2 (poměr ~0,02 %)	143 <sup>a</sup>	3,66	0,04	1,19	0,00	0,00	0,27	7,26	0,04	1,12	0,03	0,86	0,19	5,06	0,33	88,68

<sup>a</sup> Jeden vzorek vykázal neurčitý výsledek při testu i opakovaném testu.

Celkové procento variačního koeficientu (CV) hodnoty LR vykazujícího kvantitativní hodnoty se u pozitivních vzorků pohyboval v rozmezí od 26,17 do 88,68.

## 22 Literatura

1. Faderl S. et al. Clinical Significance of Cytogenetic Abnormalities in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*. 1998; 91 (11): 3995-4019.
2. Dushyant, V. et al. Chronic myeloid leukemia (CML) with p190 BCR-ABL: analysis and characteristics, outcomes and prognostic significance. *Blood*. 2009; 114: 2232-2235.
3. Moorman, A. V. et al. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115:206-214.
4. Burmeister T. et al. Patient's age and BCR-ABL frequency in adult B-precursor ALL: A retrospective analysis from the GMALL study group. *Blood*. 2008; 112:918-919.
5. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology Acute Lymphoblastic Leukemia v2.2019.
6. Leukemia - Acute Lymphocytic Leukemia (ALL). National Cancer Institute | Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/aly1.html>
7. Bondi, A., Chiesa, R. Citterio, C., Conter, V., Rizzari, C., Sala, A. Acute lymphoblastic leukemia. *Orphanet encyclopedia*. August 2007. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=EN&Expert=513](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=513).
8. White H. E. et al. Establishment of the First World Health Organization international genetic reference panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood*. 2010; 116:e111-e117.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (viz poslední vydání). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokument M29 (viz poslední vydání).
11. Zdravotnický odpad. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnic 67/548/EHS a 1999/45/ES a o změně nařízení (ES) č. 1907/2006.
13. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

## 23 Hlavní sídla společnosti Cepheid

### Podniková centrála

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

### Evropská centrála

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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

## 24 Technická pomoc

Dříve, než kontaktujete technickou podporu společnosti Cepheid, připravte si následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybové zprávy (pokud je to relevantní)
- Verze softwaru a (pokud je to relevantní) číslo servisního štítku počítače

### Spojené státy americké




















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

### Francie

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

Kontaktní informace všech kanceláří technické podpory společnosti Cepheid jsou uvedeny na našem webu:  
[www.cepheid.com/en\\_US/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en_US/support/contact-us).

## 25 Tabulka značek

Značka	Význam
	Katalogové číslo
	Označení CE – Evropská shoda
	Zdravotnický diagnostický prostředek <i>in vitro</i>
	Kód šarže
	Nepoužívat opakovaně
	Datum expirace
	Varování
	Čtěte návod k použití
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro $n$ testů
	Kontrola
	Teplotní limit
	Biologická rizika
	Hořlavé kapaliny
	Toxicita pro reprodukci a toxicita pro orgány
	Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefon: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301



Cepheid Switzerland GmbH  
Zürcherstrasse 66  
Postfach 124, Thalwil  
CH-8800  
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH  
Zürcherstrasse 66  
Postfach 124, Thalwil  
CH-8800  
Switzerland



## 26 Historie revizí

**Popis změn:** 302-6673, rev. B na rev. C

**Účel:** Aktualizace návodu k použití

Část	Popis změny
8.3	Přidáno varování, abyste kazety při likvidaci neotvírali ani neupravovali.
11.2.1	Aktualizována poznámka týkající se zbývajících lyzátů.
17	Aktualizovány pokyny k opakovanému testu a opraveny odkazy na oddíly.
19	Aktualizovány popisky diagramů na obrázku 10.
21	Aktualizován obsah části Reprodukovatelnost a preciznost.
25	Přidány symboly CH REP a dovozce a jejich definice do tabulky symbolů. Přidány informace o CH REP a dovozci se švýcarskou adresou.
26	Aktualizována tabulka Historie revizí.