

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

REF GXBCRABLP190-CE-10

Naudojimo instrukcijos

IVD

Prekės ženklas, patentai ir autorių teisių pareiškimai

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2022–2023 Cepheid.

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

„Cepheid“[®], „Cepheid“ logotipas, „GeneXpert“[®] ir „Xpert“[®] yra „Cepheid“ prekės ženklai, registruoti JAV ir kitose šalyse. Visi kiti prekių ženklai nuosavybės teise priklauso atitinkamiems turtinių teisių turėtojams.

ŠIO PRODUKTO PIRKIMAS PIRKĖJUI SUTEIKIA NEPERDUODAMĄ TEISĘ JĮ NAUDOTI PAGAL ŠIAS NAUDOJIMO INSTRUKCIJAS. JOKIOS KITOS TEISĖS NĖRA TINKAMAI PERTEIKIAMOS AIŠKIAI, NUMANOMAI ARBA ESTOPPEL. BE TO, PERKANT ŠĮ PRODUKTĄ NESUTEIKIAMOS JOKIOS PERPARDAVIMO TEISĖS..

© „Cepheid“, 2022–2023 m.

Pakeitimų aprašymą žr. Skirsnis 26, „Pakeitimų istorija“.

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

In vitro diagnostikai.

1 Patentuotas pavadinimas

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

2 Bendras arba įprastas pavadinimas

Xpert BCR-ABL Ultra p190

3 Numatytoji paskirtis

3.1 Numatytasis naudojimas

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 tyrimas yra *in vitro* diagnostinis testas, skirtas naudoti su „Cepheid“ GeneXpert[®] Dx System kiekybiškai įvertinti BCR-ABL1 p190 ir ABL1 mRNR transkriptus periferinio kraujo mėginiuose iš diagnozuotų Filadelfijos liga (Ph⁺) [t(9;22)(q34;q11)] lėtinės mieloidinės leukemijos (LML) ir ūminės limfoblastinės leukemijos (ŪLL) pacientų, kurie ekspresuoja e1a2 tipo BCR-ABL1 fuzijos transkriptą. Atliekant tyrimą naudojama automatizuota, kiekybinė, tikralaikė atvirkštinės transkripcijos polimerazės grandininė reakcija (AT-qPGR) ir tyrimas yra skirtas išmatuoti procentinį BCR-ABL1 p190 mRNR santykį lyginant su ABL1 mRNR, t(9;22) teigiamiems LML arba ŪLL pacientams per visą gydymo stebėjimo laikotarpį.

Tyrimas nestebi kitų fuzijos transkriptų, atsirandančių dėl t(9;22), ir nėra skirtas LML ar ŪLL diagnozei.

3.2 Numatytas naudotojas / aplinka

Xpert BCR-ABL Ultra p190 tyrimas skirtas apmokytiems naudotojams laboratorijoje.

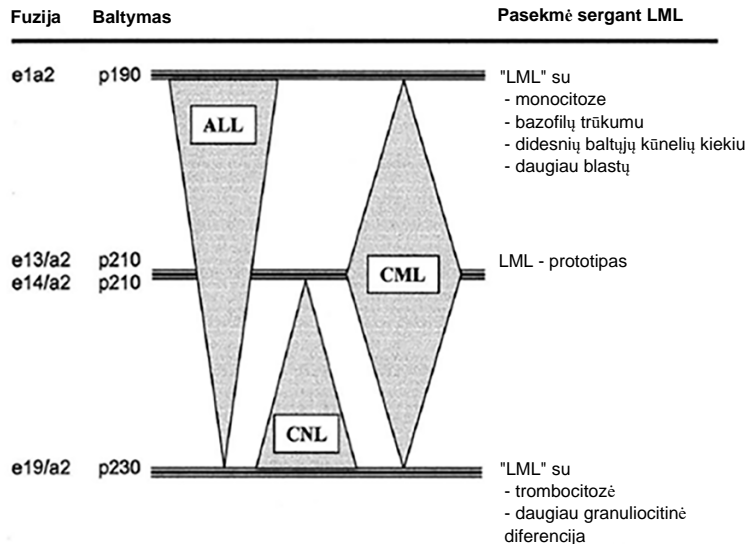
4 Santrauka ir paaiškinimas

Filadelfijos chromosoma (Ph) yra sutrumpinta chromosoma, atsirandanti dėl ABL geno 3' dalies 9 chromosomoje perkėlimo į 5' BCR geno dalį 22 chromosomoje. ABL geno atskaitos taškas yra gana pastovus, esantis 5' egzono a2 gale, tuo tarpu BCR geno atskaitos taškai yra kintami, bet daugiausia susitelkę į 3 skirtingus regionus (atskaitos taško klasterio regionai arba bcr). Priklausomai nuo atskaitos taško 22 chromosomoje, skirtingų dydžių segmentai yra sujungti su 3' ABL geno sekomis. Yra pagrindiniai (M-bcr), nedideli (m-bcr) ir mikro atskaitos taškai, kurių kiekvienas lemia skirtingo dydžio mRNR fuzijos transkriptus.¹

Ph chromosoma stebima daugiau nei 95% pacientų, sergančių lėtine mieloidine leukemija (LML), ir iki 20-30% suaugusiųjų, sergančių ūmine limfoblastine leukemija (ŪLL), 5% vaikų, sergančių ŪLL, ir 1-2% pacientų su ūmine mieloidine leukemija (ŪML).¹

Sergant LML, BCR-ABL p210 yra daugiau nei 95% pacientų, taip pat aptinkama maždaug 30% Ph teigiamų (Ph⁺) ŪLL pacientų. Likusiems pacientams, sergantiems Ph⁺ ŪLL ir retais LML atvejais (1–3%), yra randama BCR-ABL p190. Sergant LML, BCR-ABL p210 ir p190 gali egzistuoti kartu. Tiek p210, tiek p190 fuziniai baltymai rodo didesnę tirozino fosfokinazės aktyvumą, palyginti su normaliu p145 c-abl baltymu.^{1,2}

Ph+ ŪLL sergantiems pacientams p190 forma aptinkama maždaug 80% Ph+ vaikų ŪLL ir 20–40% Ph+ suaugusiųjų ŪLL.¹ Be to, Ph chromosomų dažnis didėja su amžiumi ir yra 10% 15–30 metų amžiaus, 25% 40–49 metų amžiaus ir 20–40% ŪLL pacientų, vyresnių nei 50 metų amžiaus.³⁻⁵



Ūminė limfoblastinė leukemija (ŪLL) yra hematologinis piktybinis navikas, kurio metu susikaupia nesubrendę blogai diferencijuoti baltieji kraujo kūneliai (BKK); limfoblastai kaulų čiulpuose, kraujyje ir kituose audiniuose. ŪLL klasifikuojamas kaip retas vėžys (retųjų ligų numeris ORPHA:513; GARD 522), kurio paplitimas yra 1,7/100 000. Jungtinėse Amerikos Valstijose ŪLL yra labiausiai paplitęs vėžys tarp vaikų nuo gimimo iki 15 metų amžiaus ir sudaro 75% visų vaikų leukemijos atvejų.^{6,7}

Ph chromosomos buvimas ŪLL pacientams po konsolidacijos yra reikšmingas atkryčio prognozė, todėl rekomenduojama stebėti. Tačiau šiuo metu nėra nustatytų gairių, apibrėžiančių ŪLL pacientų stebėjimo dažnumą, naudojant BCR-ABL p190 transkripto matavimus minimaliai liekamajai ligai (angl. minimal residual disease, MRD) aptikti. NCCN gairėse yra nustatyti galutiniai LML pacientų BCR-ABL p210 stebėjimo laiko momentai, todėl BCR-ABL p190 matavimas siekiant stebėti ŪLL atliekamas panašiais dažniais.⁵

Lėtinė mieloidinė leukemija (LML) pasižymi Ph chromosomos buvimu, >95% atvejų yra susiję su BCR-ABL p210 ir tik 1–3% atvejų yra susiję su BCR-ABL p190.^{2,3}

Skirtingai nuo BCR-ABL Pasaulio sveikatos organizacijos tarptautinio standarto (PSO TS) p210 transkriptui, šiuo metu nėra tarptautiniu mastu pripažintos nuorodos, kurią būtų galima naudoti standartizuoti p190 fuzijos transkriptą. Todėl dabartinė p190 molekulinė analizė paprastai aptinka fuzijos transkriptą ir nurodo jį procentais, palyginti su vidinio valdymo geno (pvz., ABL) ekspresija.

5 Procedūros principas

Xpert BCR-ABL Ultra p190 yra automatinis tyrimas, skirtas kiekybiškai įvertinti BCR-ABL1 p190 transkripto kiekį kaip BCR-ABL p190/ABL1 santykį. Tyrimas atliekamas naudojant „Cepheid“ GeneXpert Dx System, kuris automatizuoja ir integruoja mėginių gryninimą, nukleorūgščių amplifikaciją ir tikslinės sekos aptikimą paprastuose arba sudėtinguose mėginiuose, naudojant tikralaikės AT-PGR ir įdėtinius PGR testus. Sistema sudaro prietaisus, kompiuteris ir iš anksto įkelta programinė įranga, skirta vykdyti tyrimams ir rezultatams peržiūrėti. Sistemoms reikalingos vienkartinės GeneXpert kasetės, kuriose yra AT-PGR ir įdėtinius PGR reagentus, ir kuriose atliekami AT-PGR ir įdėtiniai PGR procesai. Norėdami gauti išsamų sistemos aprašymą, žr. atitinkamą *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Xpert BCR-ABL Ultra p190 kasetėje yra reagentai, skirti aptikti BCR-ABL1 p190 fuzijos genus, atsiradusius dėl nedidelio atskaitos taško, translokacijos e1a2, ir ABL1 transkripto kaip endogeninės periferinio kraujo mėginių kontrolės. BCR-ABL1 p190 transkripto kiekis yra kiekybiškai įvertintas kaip procentinis BCR-ABL1 p190/ABL1 santykis. Į Xpert BCR-ABL Ultra p190 tyrimą įtrauktos dvi kontrolės priemonės – endogeninė kontrolė (ABL1) ir zondo tikrinimo kontrolė (ZTK). ABL1 endogeninė kontrolė normalizuoja tikslinį BCR-ABL1 p190 ir užtikrina, kad atliekant tyrimą būtų naudojama pakankamai mėginio. ZTK patikrina reagento rehidrataciją, PGR mėgintuvėlio užpildymą ir ar visi reakcijos komponentai, įskaitant zondus ir dažus, yra ir veikia kasetėje.

6 Reagentai ir prietaisai

6.1 Pateiktos medžiagos

Xpert BCR-ABL Ultra p190 rinkinyje (GXBCRABLP190-CE-10) yra pakankamai reagentų 10 testo mėginių arba kokybės kontrolės mėginių apdorojimui. Rinkinyje yra:

„Xpert BCR-ABL Ultra“ reagentai

Kiekvieno po 10 rinkinyje

Proteinazė K (PK)	10 x 130 µl mėginėlyje
Komponentas	Reagento sudedamoji dalis
Proteinazė K	< 5%

Lizės reagentas (LY) (guanidinio chloridas)	10 x 5,3 ml mėginėlyje
Komponentas	Reagento sudedamoji dalis
Guanidinio chloridas	25 - 50%
Šlapalas	25 - 50%
Natrio dodecilo sulfatas	< 2%

Plovimo reagentas	10 x 2,9 ml ampulėje
Komponentas	Reagento sudedamoji dalis
Etanolis	< 50%
Guanidinio tiocianatas	< 50%

Xpert BCR-ABL Ultra p190 kasetės su integruotais reakciniais mėgintuvėliais		10 viename rinkinyje
Komponentas	Reagento sudedamoji dalis	Kiekis
1 granulė (liofilizuota)	Fermentas: Taq DNR polimerazė < 50V/ granulėje	1 vnt. vienoje kasetėje
	dNTPs < 0,05%	
2 granulė (liofilizuota)	Pradmenys ir zondai < 0,005%	1 vnt. vienoje kasetėje
3 granulė (liofilizuota)	Pradmenys ir zondai < 0,005%	1 vnt. vienoje kasetėje
4 granulė (liofilizuota)	Fermentas: Taq DNR polimerazė < 50V/ granulėje	1 vnt. vienoje kasetėje
	dNTPs < 0,05%	
Skalavimo reagentas	Kalio chloridas < 4%	2 ml vienoje kasetėje
	Natrio azidas < 0,1%	
	Polietilenglikolis < 15%	
	„Tween-20“ < 0,2%	
Išplovimo reagentas	Trizma bazė < 0,3%	2,5 ml vienoje kasetėje
	Trizma hidrochloridas < 0,1%	
	Natrio azidas < 0,05%	

Kompaktinis diskas (CD)**1 viename rinkinyje**

- Analizės apibrėžimo failas (AAF)
- Nurodymas perkelti AAF į „GeneXpert Dx“ programinę įrangą
- Naudojimo instrukcijos (pakuotės lapelis)

Pastaba Galvijų serumo albuminas (GSA) šio produkto granulėse buvo gaminamas tik iš JAV gaunamos galvijų plazmos. Atrajojančių gyvūnų baltymai ar kiti gyvūniniai baltymai nebuvo šeriami gyvūnams; gyvūnams buvo atliekamas priešmirtinis ir pomirtinis tyrimas. Apdorojant medžiaga nebuvo maišoma su kitomis gyvūninėmis medžiagomis.

Pastaba Analizės sertifikatus ir partijos specifikacijų duomenų lapus galite gauti iš „Cepheid“ techninės pagalbos.

6.2 Reikalingos, bet nepateikiamos medžiagos

- GeneXpert Dx System (katalogo numeris skiriasi pagal konfigūraciją): „GeneXpert“ prietaisas, kompiuteris, brūkšniinių kodų skaitytuvas ir operatoriaus vadovas.
- GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx programinės įrangos versija 6.2 arba naujesnė
- Spausdintuvas: Jeigu reikia spausdintuvo, susisiekite su „Cepheid“ techninės pagalbos skyriumi ir susitarkite dėl rekomenduojamo spausdintuvo pirkimo.
- Maišytuvas
- Mikrocentrifuga (mažiausiai 1000 x g)
- Pipetės ir aerosolinių filtrų pipetės antgaliai
- 50 ml kūginiai vamzdeliai
- Reagento klasės absoliutus etanolis

7 Laikymas ir tvarkymas

- Xpert BCR-ABL Ultra p190 rinkinio turinį laikykite 2–8 °C temperatūroje iki etiketėje nurodyto galiojimo laiko.
- Neatidarykite kasetės dangtelio, kol nebūsate pasirengę atlikti tyrimą.
- Nenaudokite kasečių, kurių galiojimo laikas yra pasibaigęs.
- Plovimo reagentas yra skaidrus, bespalvis skystis. Nenaudokite drumstų ar pakitusios spalvos plovimo reagentų.
- Dvidešimt (20) minučių prieš pradėdami procedūrą išimkite kraujo mėginį, mėginio paruošimo reagentus ir kasetę iš laikymo vietos, kad jie sušiltų iki kambario temperatūros (20 – 30 °C).

8 Įspėjimai ir atsargumo priemonės**8.1 Bendra**

- *In vitro* diagnostikai.
- Visus biologinius mėginius, įskaitant panaudotas kasetes ir reagentus, tvarkykite taip, lyg jie galėtų perduoti infekcijos sukėlėjus. Dažnai neįmanoma žinoti, kuris mėginys gali būti infekcinis, todėl visi biologiniai mėginiai turėtų būti tvarkomi laikantis standartinių atsargumo priemonių. Mėginių tvarkymo gaires prieinamos JAV ligų kontrolės ir prevencijos centruose⁹ bei Klinikinių ir laboratorinių standartų institute (angl. „Clinical and Laboratory Standards Institute“, CLSI)¹⁰.
- Dirbdami su chemikalais ir tvarkydami biologinius mėginius, laikykitės savo įstaigos saugos procedūrų.
- Šio tyrimo veiksmingumas buvo nustatytas tik kraujui, surinktam EDTA mėgintuvėliuose. Šios tyrimo veiksmingumas su kitais mėginiais ar kitų tipų mėginiais nebuvo įvertintas.
- Patikimi rezultatai priklauso nuo tinkamo mėginių paėmimo, transportavimo, laikymo ir apdorojimo. Klaidingi tyrimo rezultatai gali būti netinkamo mėginio paėmimo, tvarkymo ar laikymo, techninės klaidos, mėginių sumaišymo atveju arba dėl to, kad tikslinis transkriptas mėginyje yra mažesnis nei tyrimo aptikimo riba (AR). Norint išvengti klaidingų rezultatų, būtina atidžiai laikytis pakuotės lapelio instrukcijų ir *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- Atlikus Xpert BCR-ABL Ultra p190 tyrimą už rekomenduojamą rinkinio ar mėginių laikymo laiko ir temperatūros ribų, rezultatai gali būti klaidingi arba negaliojantys.
- Turėtų būti laikoma, kad biologiniai mėginiai, perkėlimo priemonės ir panaudotos kasetės gali perduoti infekcijos sukėlėjus, reikalaujančius standartinių atsargumo priemonių. Laikykitės savo įstaigos aplinkos atliekų tvarkymo

procedūrų tinkamam panaudotų kasečių ir nepanaudotų reagentų šalinimui. Šios medžiagos gali pasižymėti pavojingų cheminių atliekų savybėmis, kurias reikia šalinti specifinėmis valstybinėmis arba regioninėmis procedūromis. Jeigu valstybiniuose arba regioniniuose teisės aktuose nėra aiškių nurodymų tinkamam šalinimui, biologinius mėginius ir panaudotas kasetes reikia šalinti pagal PSO [Pasaulio sveikatos organizacijos] medicininių atliekų tvarkymo ir šalinimo rekomendacijas.¹¹

8.2 Mėginys

- Transportuojant mėginį palaikykite tinkamas laikymo sąlygas, kad užtikrintumėte mėginio vientisumą (žr. Skirsnis 10). Mėginio stabilumas kitomis nei rekomenduojamomis transportavimo sąlygomis nebuvo įvertintas.
- Neužšaldykite visos sudėties kraujo mėginių.
- Tinkamas mėginių paėmimas, laikymas ir transportavimas yra būtini norint gauti teisingus rezultatus.


8.3 Tyrimas / reagentas

- Nekeiskite „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ reagentų kitais reagentais.
- Neatidarykite „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ kasetės dangtelio, išskyrus tuos atvejus, kai pilate mėginį ir plovimo reagentą.
- Nenaudokite kasetės, kuri buvo numesta išėmus ją iš pakuotės.
- Nekratykite kasetės. Pakračius arba numetus kasetę atidarius kasetės dangtelį, rezultatai gali būti netinkami. Nedėkite mėginio ID etiketės ant kasetės dangtelio ar kasetės brūkšninio kodo etiketės.
- Nenaudokite kasetės su pažeista brūkšninio kodo etikete. Nenaudokite kasetės su pažeistu reakcijos mėgintuvėliu.
- „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimui naudojamos kasetės turi būti kambario temperatūros (20–30 °C).
- Kiekviena vienkartinio naudojimo „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ kasetė naudojama vienam tyrimui apdoroti. Pakartotinai nenaudokite apdorotų kasečių.
- Nenaudokite panaudotų pipetės antgalių.
- Nenaudokite kasetės, jei ji atrodo drėgna arba atrodo, kad dangtelio sandariklis buvo pažeistas.
- Nenaudokite „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ kasetės, jei reagentas įpiltas į netinkamą angą. Neatidarykite „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ kasetės pasibaigus tyrimui.
- Atskirą pipetę ir reagentų rinkinį skirkite tik mėginių paruošimui.
- Dėvėkite švarius laboratorinius chalatus ir pirštines. Pakeiskite pirštines po kiekvieno mėginio tvarkymo.
- Jei mėginys ar kontrolės išsilieja, mūvėkite pirštines ir sugerkite išsiliejusį turinį popieriniu rankšluosčiu. Visus laboratorinius darbo paviršius kruopščiai nuvalykite ir dezinfekuokite šviežiai paruoštu 0,5 % natrio hipochlorito tirpalu distiliuotame arba dejonizuotame vandenyje (atskiesti buitinį baliklį santykiu 1:10). Galutinė aktyvaus chloro koncentracija turi būti 0,5 %. Kai darbo vieta išdžiūsta, nuvalykite paviršių 70 % etanoliumi. Įrangai vadovaukitės gamintojo rekomendacijomis dėl įrangos nukenksminimo. Arba laikykitės savo įstaigoje naudojamų standartinių procedūrų, numatytų atvejams, kai įvyksta užteršimas ar išsiliejimas.
- Panaudotose kasetėse gali būti galimai infekcinių medžiagų ir labai amplifikuotas (-ų) PGR taikynys (-ių). Neatidarykite ir nebandykite modifikuoti jokios kasetės dalies šalindami kasetę.

9 Cheminiai pavojai^{12,13}

Pastaba Saugos duomenų lapus (angl. „Safety Data Sheets“, SDS), galite rasti www.cepheid.com arba www.cepheidinternational.com skirtuke **PAGALBA (SUPPORT)**.

Pastaba Toliau pateikta informacija taikoma proteinazės K, lizės, plovimo ir skalavimo reagentams.

- JT GHS pavojingumo piktograma: 
- Signalinis žodis: PAVOJINGA
- **JT GHS pavojingumo frazės**
 - Kenksminga prarijus H302
 - Labai degūs skystis ir garai H225
 - Dirgina odą H315

- Sukelia smarkų akių dirginimą H319
- Gali sukelti mieguistumą arba galvos svaigimą H336
- Įtariama, kad gali sukelti genetinius defektus H341
- **JT GHS atsargumo frazės**
 - **Prevencija**
 - Prieš naudodami specialias instrukcijas žiūrėkite saugos duomenų lapę.
 - Nenaudoti, jeigu neperskaityti ar nesuprasti visi saugos įspėjimai.
 - Naudokite asmenines apsaugos priemones: pirštines, akinius, veido skydelį ir drabužius.
 - Naudokite tik gerai vėdinamose vietose.
 - Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių, žiežirbų, atviros liepsnos ir (arba) karštų paviršių.
 - Venkite įkvėpti rūko, garų ar purškalo.
 - Po naudojimo kruopščiai nuplaukite rankas.
 - **Reakcija**
 - GAISRO atveju: gesinimui naudoti tinkamas terpes.
 - ĮKVĖPUS: Išnešti nukentėjusį į gryną orą; jam būtina ramybė ir padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti.
 - Nukentėjusiam pasijautus blogai, skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ arba kreiptis į gydytoją.
 - IŠPYLUS: nedelsiant nusivilkite užterštus drabužius. Patekus ant odos arba plaukų, nuplaukite vandeniu/dušu.
 - Jeigu SUDIRGINAMA ODA: Kreiptis į gydytoją.
 - PATEKUS Į AKIS: Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra. Kelias minutes kruopščiai skalaukite akis vandeniu. Jei akių dirginimas nepraeina: Kreiptis į gydytoją.
 - Specialus gydymas: žr. papildomas pirmosios pagalbos priemones saugos duomenų lapę.
 - Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: Kreiptis į gydytoją.
 - **Laikymas / šalinimas**
 - Laikyti šaldomomis sąlygomis.
 - Talpyklas laikyti sandariai uždarytas.
 - Turinį ir (arba) talpyklą šalinkite laikydamiesi vietos, regioninių, šalies ir (arba) tarptautinių teisės aktų.

10 Mėginių paėmimas, transportavimas ir laikymas

- Tyrimui reikalingi visos sudėties kraujo mėginiai, paimti į EDTA vakuuminius mėgintuvėlius. Prieš naudojimą mėginiai gali būti laikomi iki 72 valandų 2–8 °C temperatūroje. Plazma neturėtų būti atskirta nuo ląstelių.
- Tinkamas mėginių paėmimas, laikymas ir transportavimas yra labai svarbūs šio tyrimo veikimui.

11 Procedūra

11.1 Prieš pradėdant

Dvidešimt (20) minučių prieš pradėdant procedūrą išimkite kraujo mėginį, mėginio paruošimo reagentus ir kasetes iš šaldymo kameros, kad jie sušiltų iki kambario temperatūros. Trumpai pasukite proteinazę K (PK) mikrocentrifugoje.

**Svarbi
informacija**

Išimkite kasetę iš kartoninės pakuotės prieš mėginio paruošimą. (Žr. Skirsnis 11.2, „Mėginio paruošimas“.)

**Svarbi
informacija**

Pradėkite tyrimą GeneXpert Dx prietaisu per 1 valandą nuo paruošto mėginio įdėjimo į kasetę.

11.2 Mėginio paruošimas

11.2.1 Mėginio su nežinomu baltųjų kraujo kūnelių (BKK) skaičiumi arba mėginių, kuriuose yra mažiau nei 30 mln. leukocitų/ml, paruošimas

1. Į naujo 50 ml kūginio mėgintuvėlio dugną įpilkite 100 µl PK (proteinazės K).
2. Užtikrinkite, kad kraujo mėginys būtų gerai sumaišytas, prieš pat pipetuoiant apversdami kraujo paėmimo mėgintuvėlį 8 kartus. Žr. gamintojo instrukcijas dėl EDTA kraujo surinkimo mėgintuvėlio.
3. Į mėgintuvėlį, kuriame jau yra proteinazės K, įpilkite 4 ml kraujo mėginio.
4. Nepertraukiamai 3 sekundes maišykite mėginį sukuriniu maišytuvu maksimaliu nustatymu.
5. Inkubuokite kambario temperatūroje 1 minutę.
6. Į tą patį mėgintuvėlį įpilkite 2,5 ml lizės reagento (LR).

Pastaba Lizės reagento likučius išsaugokite, kad galėtumėte vėl naudoti 13 veiksmė.

7. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį sukuriniu maišytuvu maksimaliu nustatymu.
8. Inkubuokite kambario temperatūroje 5 minutes.
9. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį sukuriniu maišytuvu maksimaliu nustatymu.
10. Inkubuokite kambario temperatūroje 5 minutes.
11. Mėginį sumaišykite 10 kartų bakstelėdami į mėgintuvėlio dugną.
12. Perkelkite 1 ml paruošto lizato į naują 50 ml kūginį mėgintuvėlį.

Pastaba Likusį lizatą galima naudoti pakartotiniam tyrimui. Likusį lizatą laikykite 2–8 °C temperatūroje iki 4 valandų arba –20 °C ar žemesnėje temperatūroje iki 24 savaičių.

13. Į naują kūginį mėgintuvėlį, kuriame yra lizatas, įpilkite 1,5 ml likusio lizės reagento (LR) iš 6 veiksmo.
14. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį sukuriniu maišytuvu maksimaliu nustatymu.
15. Inkubuokite kambario temperatūroje 10 minučių.
16. Į tą patį kūginį mėgintuvėlį įpilkite 2 ml reagento klasės absoliutaus etanolio (pateikia naudotojas).
17. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį sukuriniu maišytuvu maksimaliu nustatymu. Padėkite į šalį.
18. Išmeskite likusius PK arba LR reagentus.

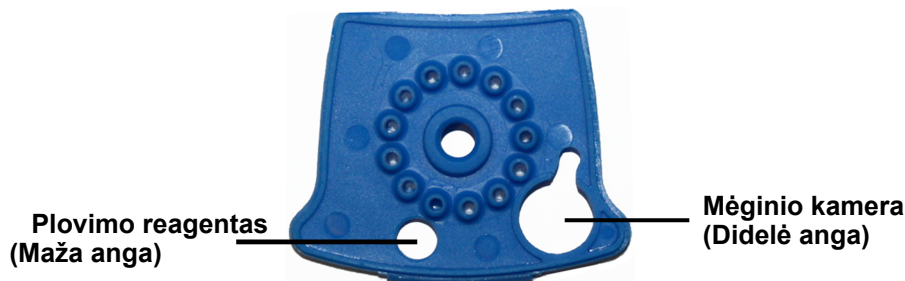
11.2.2 Mėginio, kurio BKK skaičius didesnis nei 30 milijonų ląstelių/ml, paruošimas

1. Į naujo 50 ml kūginio mėgintuvėlio dugną įpilkite 100 µl PK (proteinazės K).
2. Užtikrinkite, kad kraujo mėginys būtų gerai sumaišytas, prieš pat pipetę apversdami kraujo paėmimo mėgintuvėlį 8 kartus. Žr. gamintojo instrukcijas dėl EDTA kraujo paėmimo mėgintuvėlio.
3. Į mėgintuvėlį, kuriame jau yra proteinazės K, įpilkite 50 µl kraujo mėginio.
4. Nepertraukiamai 3 sekundes maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
5. Inkubuokite kambario temperatūroje 1 minutę.
6. Į tą patį mėgintuvėlį įpilkite 2,5 ml lizės reagento (LR).
7. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
8. Inkubuokite kambario temperatūroje 5 minutes.
9. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu.
10. Inkubuokite kambario temperatūroje 5 minutes.
11. Į tą patį kūginį mėgintuvėlį įpilkite 2 ml reagento klasės absoliutaus etanolio (pateikiama naudotojo).
12. Nepertraukiamai 10 sekundžių maišykite mėginį maišytuvu maksimaliu nustatymu. Padėkite į šalį.
13. Išmeskite likusius PK arba LR reagentus.

11.3 Kasetės paruošimas

Norėdami įdėti mėginį į Xpert BCR-ABL Ultra p190 kasetę:

1. Išimkite kasetę iš kartoninės pakuotės.
2. Įsitikinkite, kad kasetė nepažeista. Nenaudokite jeigu pažeista.
3. Pakelkite kasetės dangtelį ir perkelkite visą plovimo reagento (1) ampulės turinį į plovimo reagento kamerą (maža anga). Žr. pav. 1.
4. Pipete supilkite visą paruošto mėginio turinį į mėginio kamerą (didelė anga). Žr. pav. 1.



pav. 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Kasetė (vaizdas iš viršaus)

5. Uždarykite kasetės dangtelį. Įsitikinkite, kad dangtelis tvirtai užsifiksuoja. Pradėkite tyrimą (žr. Skirsnis 11.4, „Tyrimo pradžia“).

11.4 Tyrimo pradžia

Šiame skirsnyje pateikiami pagrindiniai tyrimo vykdymo veiksmai. Išsamias instrukcijas rasite *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Svarbi informacija Prieš pradėdami tyrimą įsitikinkite, kad prietaise veikia GeneXpert Dx programinės įrangos 6.2 arba naujesnė versija ir ar į programinę įrangą yra importuotas teisingas analizės apibrėžimo failas (AAF).

Pastaba Atlikti veiksmai gali būti skirtingi, jei sistemos administratorius pakeitė numatytąją sistemos darbo eigą.

1. Įjunkite GeneXpert prietaisą.
Jei naudojate GeneXpert Dx prietaisą, pirmiausia įjunkite GeneXpert Dx prietaisą, tada įjunkite kompiuterį. Programinė įranga GeneXpert bus paleista automatiškai. Jeigu ji nepaleidžiama, dukart spustelėkite GeneXpert Dx programinės įrangos nuorodos piktogramą Windows® darbalaukyje.
2. Prisijunkite prie prietaiso sistemos GeneXpert programinės įrangos naudodami savo vartotojo vardą ir slaptažodį.
3. Lange „**GeneXpert**“ Sistema spustelėkite „**Sukurti tyrimą**“ („**Create Test**“) (GeneXpert Dx). Atsidaro langas **Kurti tyrimą (Create Test)**. Pasirodys dialogo langas **Nuskaityti paciento ID brūkšninį kodą (Scan Patient ID barcode)**.
4. Nuskaitykite arba įveskite paciento ID (Patient ID). Jeigu įvedate paciento ID (Patient ID), įsitikinkite, kad paciento ID (Patient ID) įvestas teisingai. Paciento ID (Patient ID) yra susietas su tyrimo rezultatais ir rodomas lange **Peržiūrėti rezultatus (View Results)** ir visomis ataskaitomis. Pasirodys dialogo langas **Nuskaityti mėginio ID brūkšninį kodą (Scan Sample ID barcode)**.
5. Nuskaitykite arba įveskite mėginio ID (Sample ID). Jeigu įvedate mėginio ID (Sample ID), įsitikinkite, kad mėginio ID (Sample ID) įvestas teisingai. Mėginio ID (Sample ID) susietas su tyrimo rezultatais ir rodomas lange **Peržiūrėti rezultatus (View Results)** ir visose ataskaitose. Pasirodys dialogo langas **Nuskaityti kasetės brūkšninį kodą (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Nuskaitykite brūkšninį kodą ant tyrimo kasetės. Naudojant brūkšninio kodo informaciją, programinė įranga automatiškai užpildo šių laukelių langelius: Pasirinkti analizę (Select Assay), Reagento partijos ID (Reagent Lot ID), Kasetės SN (Cartridge SN) ir galiojimo laikas (Expiration Date).

Pastaba Jeigu brūkšninis kodas ant kasetės nenuskaitytas, pakartokite tyrimą naudodami naują kasetę. Jeigu programinėje įrangoje nuskaitėte kasetės brūkšninį kodą ir analizės apibrėžimo failo (AAF) nėra, pasirodys ekranas, rodantis, kad analizės apibrėžimo failas (AAF) nėra įkeltas į sistemą. Jeigu pasirodys šis ekranas, susisiekite su „Cepheid“ technine pagalba.

7. Spustelėkite **Pradėti tyrimą** („Start Test“). Pasirodžiusiame dialogo lange įveskite savo slaptažodį, jei to reikia.
8. Atidarykite prietaiso modulio dureles mirksint žaliai lemputei ir įdėkite kasetę.

9. Uždarykite dureles. Tyrimas prasideda ir žalia lemputė nustoja mirksėti. Baigus tyrimą, lemputė išsijungia.
10. Prieš atidarydami modulio dureles, palaukite, kol sistema atleis durų užraktą. Tada išimkite kasetę.
11. Panaudotas kasetes šalinkite į atitinkamą mėginių atliekų konteinerį pagal Jūsų įstaigos standartinę praktiką.

12 Rezultatų peržiūra ir spausdinimas

Šiame skirsnyje pateikiami pagrindiniai rezultatų peržiūros ir spausdinimo veiksmai. Išsamesnes instrukcijas, kaip peržiūrėti ir spausdinti rezultatus, rasite *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Rezultatams peržiūrėti spustelėkite piktogramą **Peržiūrėti rezultatus (View Results)**.
2. Baigę tyrimą, spustelėkite mygtuką **Ataskaita (Report)** lange **Peržiūrėti rezultatus (View Results)** PDF ataskaitos failui peržiūrėti ir (arba) sugeneruoti.

13 Kokybės kontrolė

Kiekvienas tyrimas apima endogeninę kontrolę (ABL) ir zondo tikrinimo kontrolę (ZTK).

ABL endogeninė kontrolė — ABL endogeninė kontrolė patikrina, ar atliekant tyrimą buvo panaudota pakankamai mėginio. Be to, ši kontrolė nustato su mėginiu susijusį tikrąją PGR reakcijos slopinimą. ABL tinkama, jei atitinka priimtumo kriterijus.

Zondo tikrinimo kontrolė (ZTK) - prieš prasidedant PGR reakcijai, „GeneXpert“ sistema matuoja fluorescencijos signalą iš zondų, kad būtų galima stebėti granulių rehidraciją, reakcijos mėgintuvėlio užpildymą, ir ar visi reakcijos komponentai veikia kasetėje. ZTK tinkama, jei atitinka priimtumo kriterijus.

14 Rezultatų interpretavimas

Xpert BCR-ABL Ultra p190 kiekybiniai rezultatai pateikiami kaip procentinis BCR-ABL1 p190/ABL1 santykis. Galimų rezultatų ir interpretacijų pavyzdžiai pateikti lentelė 1.

lentelė 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Galimi rezultatai ir interpretavimas

Zondo tikrinimas*	ABL Ct*	e1a2 Ct*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 Tyrimo rezultatas	Pastabos
TINKAMAS (PASS)	TINKAMAS (PASS)	TEIG.	BCR-ABL p190 APTIKTA [#.##]% (BCR-ABL p190 DETECTED [#.## %])	Nurodoma apskaičiuoto procentinio santykio vertė. Žr. pav. 2.
			BCR-ABL p190 APTIKTA [žemiau AR; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])	Apskaičiuotas procentinis santykis yra mažesnis už aptikimo ribą ir nenurodytas. Žr. pav. 3.
			BCR-ABL p190 APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (BCR-ABL p190 DETECTED [above upper LoQ])	Apskaičiuota procentinė vertė viršija kiekybinio įvertinimo ribą ir nenurodyta. Žr. pav. 4.
		NEIG. (NEG)	BCR-ABL p190 NEAPTIKTA [pakankamas ABL transkriptas] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])	e1a2 Ct yra lygus nuliui arba didesnis už priimtumo slenkstį. Žr. pav. 5.
	NEGALIOJANTIS (INVALID)	NEGALIOJANTIS [per daug BCR-ABL p190 ir ABL transkriptų] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])	e1a2 Ct yra žemiau priimtumo slenkščio.	
	NETINKAMAS (FAIL)	TEIG. (POS), NEIG. (NEG), arba NEGALIOJANTIS (INVALID)	NEGALIOJANTIS [nėra ABL transkripto] (INVALID [No ABL transcript])	ABL Ct reikšmė lygi nuliui. ABL neaptikta. Žr. pav. 6.
			NEGALIOJANTIS [nepakankamas ABL transkriptas] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	ABL Ct viršija priimtumo slenkstį. Žr. pav. 7.
NEGALIOJANTIS [per daug ABL transkripto] (INVALID [Too high ABL transcript])			ABL Ct yra žemiau priimtumo slenkščio.	
NEGALIOJANTIS [per daug BCR-ABL p190 ir ABL transkriptų] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])			Tiek e1a2, tiek ABL Ct vertės yra mažesnės už priimtumo slenkščius. Žr. pav. 8.	
NETINKAMAS (FAIL)	TINKAMAS (PASS) arba NETINKAMAS (FAIL)	TEIG. (POS), NEIG. (NEG) arba NEGALIOJANTIS (INVALID)	KLAIDA (ERROR)	Zondo tikrinimo kontrolė neatitiko priimtumo kriterijų. Žr. pav. 9.
* Norėdami gauti daugiau informacijos, žr. „GeneXpert Dx“ sistemos programinės įrangos skirtuką „Analitės rezultatai (Analyte Results)“				

„GeneXpert“ sistemos apskaičiuoja rezultatus automatiškai pagal *ciklo slenkščio* (Ct) reikšmes, sugeneruotas atliekant tyrimą, ir gamybos metu priskirtus konkrečios partijos parametrus. Programinė įranga taiko šį algoritmą, kuriame ΔCt (Delta Ct) vertė gaunama iš ABL Ct atėmus BCR-ABL p190 Ct, o efektyvumas (*E*) ir masto koeficientas (*SF*) yra konkrečios partijos vertės:

Pastaba

$$\text{Procentinis santykis} = \text{efektyvumas}^{(\Delta Ct)} \times \text{masto koeficientas} \times 100$$

Pastaba

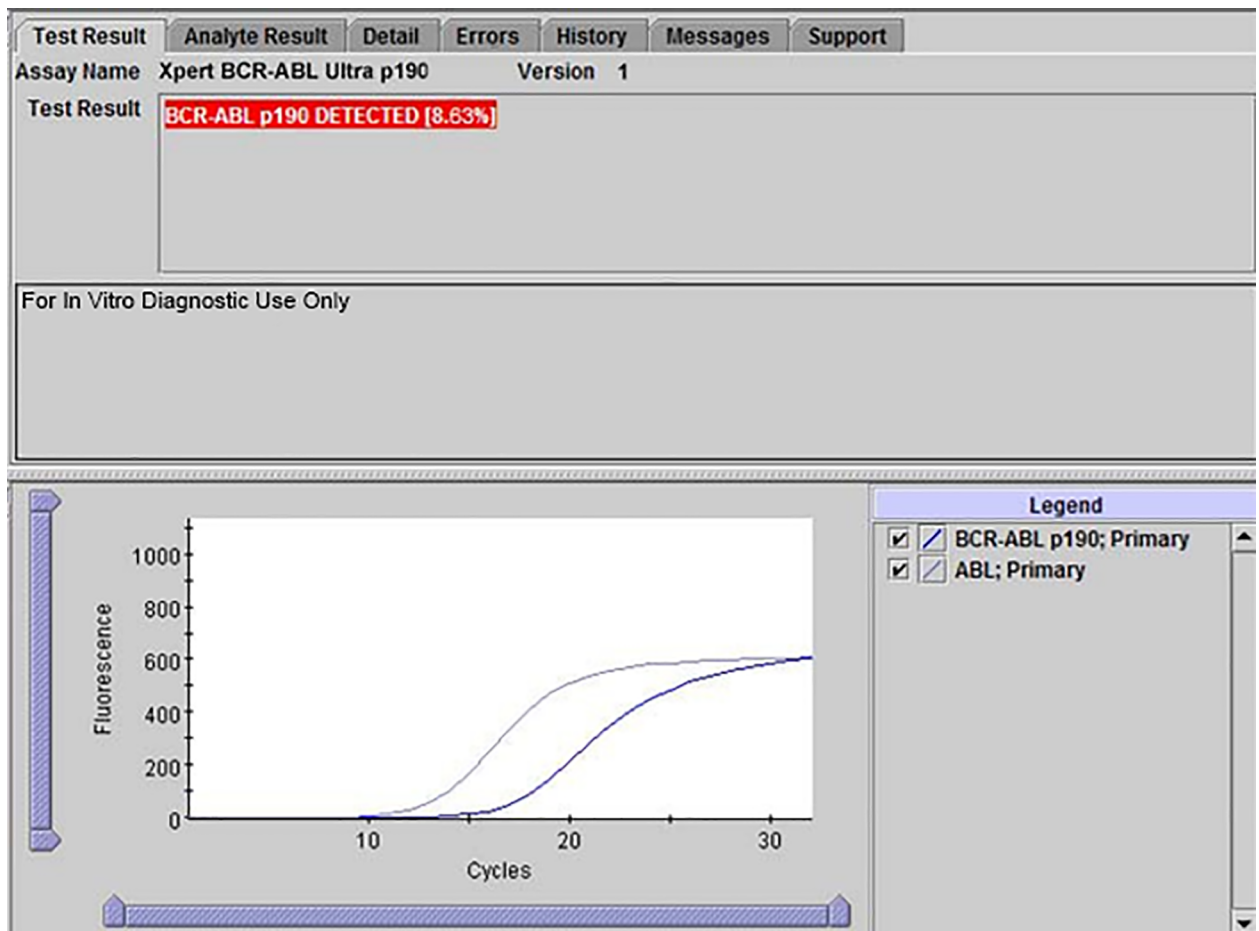
Efektyvumo ir masto koeficiento reikšmės kalibruoja BCR-ABL1 p190 (e1a2) ir ABL1 transkriptų kiekybinį įvertinimą, kad būtų galima kopijuoti sintetinių BCR-ABL p190 ir ABL1 RNR *in vitro* transkribuotų RNR (IVT-RNR) pirminių standartų skaičių. Efektyvumo ir masto koeficiento reikšmės yra įterptos į kiekvienos kasetės brūkšninį kodą. Partijos specifikacijų duomenų lapus galite gauti iš „Cepheid“ techninės pagalbos.

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

„BCR-ABL p190 APTIKTA [#,## %] (BCR-ABL p190 DETECTED [#,##]%)“ rezultatas rodo, BCR-ABL p190 aptinkamas, kai BCR-ABL p190 Ct yra didesnis arba lygus „8“ ir mažesnis arba lygus „32“ ribinei vertei, o ABL Ct yra didesnis nei arba lygus „8“ ir mažesnis arba lygus „18“.

Pavyzdys: ABL Ct = 11,4; BCR-ABL p190 Ct = 15,6 ; $\Delta Ct = -4,2$
 Konkrečios partijos $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $\% \text{ santykis} = 2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63 \%$

Rezultatas: BCR-ABL p190 APTIKTA [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%]). Žr. pav. 2.



pav. 2. „GeneXpert Dx“ langas „Peržiūrėti rezultatus“: BCR-ABL p190 APTIKTA [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])

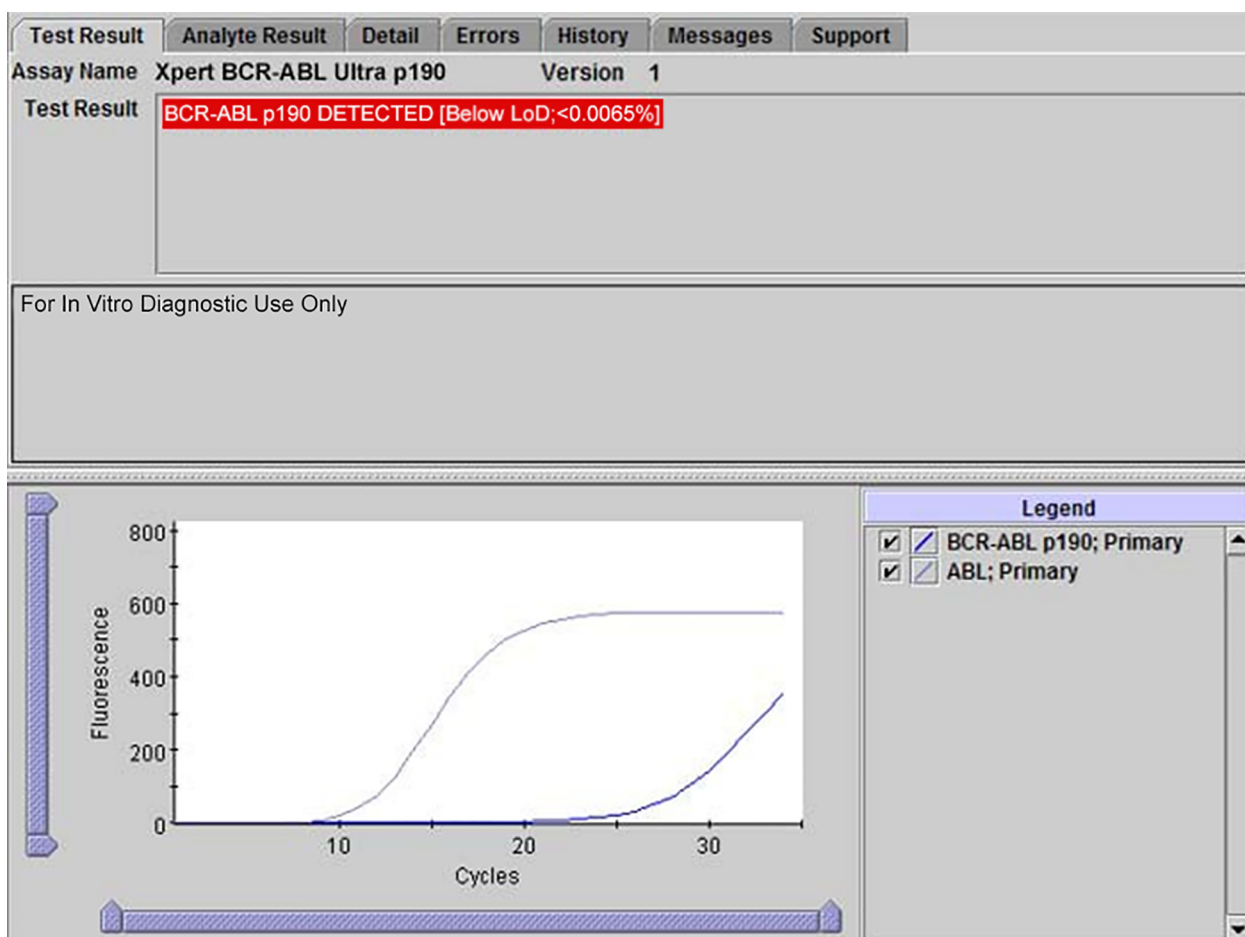
14.2 BCR-ABL p190 APTIKTA [žemiau AR; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

BCR-ABL p190 buvo aptikta lygyje < 0,0065%.

“**BCR-ABL p190 APTIKTA [žemiau AR; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**” rezultatas rodo, BCR-ABL p190 aptinkamas, kai BCR-ABL p190 Ct yra didesnis arba lygus "8" ir mažesnis arba lygus "32" ribinei vertei, o ABL Ct yra didesnis nei arba lygus "8" ir mažesnis arba lygus „18“.

Pavyzdys: ABL Ct = 10,1; BCR-ABL p190 Ct = 24,8; $\Delta Ct = -14,8$
 Konkrečios partijos $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $\% \text{ santykis} = 2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044\%$ yra mažiau nei apibrėžta tyrimo AR prie 0,0065%

Rezultatas: **BCR-ABL p190 APTIKTA [žemiau AR; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**. Žr. pav. 3.



pav. 3. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: BCR-ABL p190 APTIKTA [žemiau AR; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

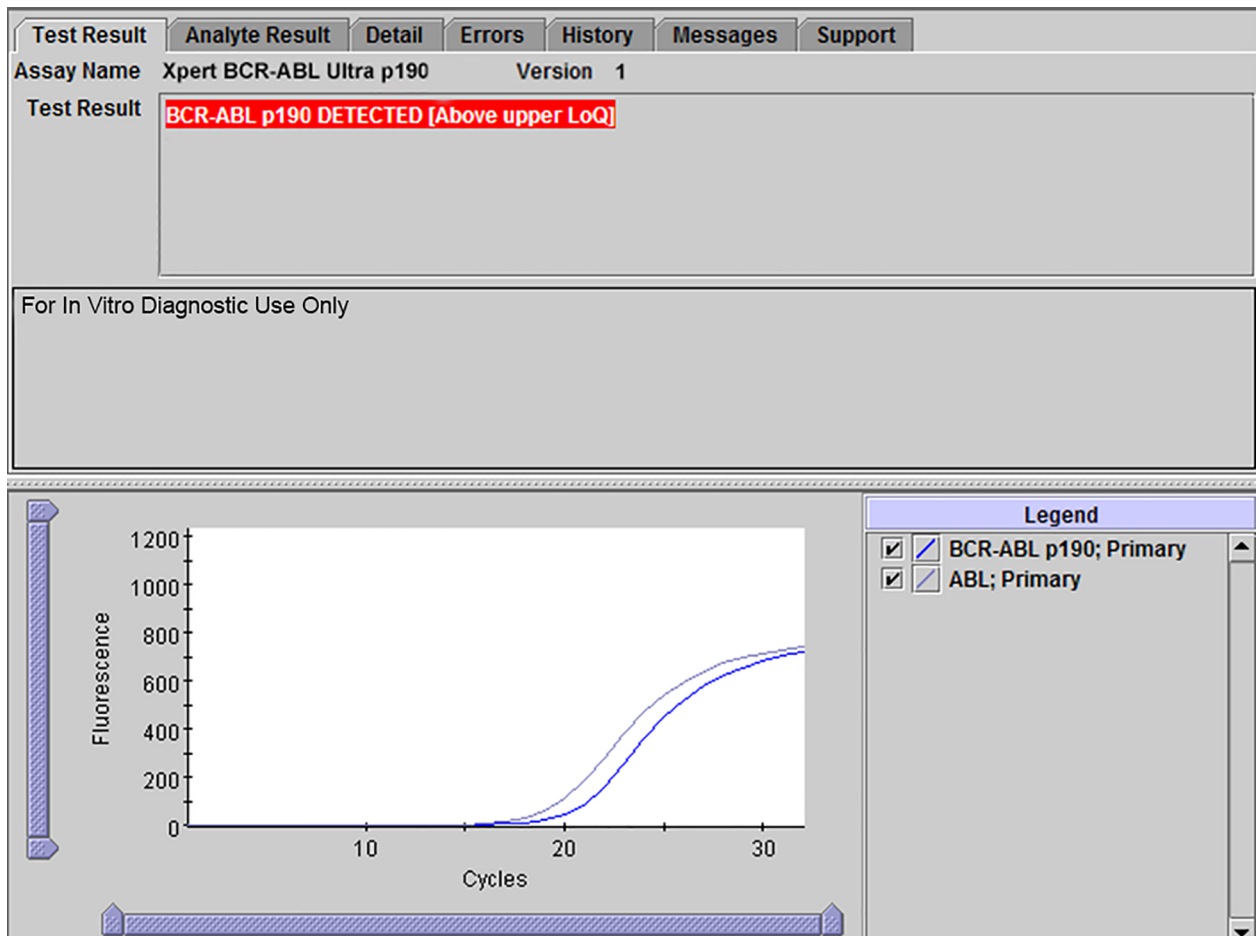
14.3 BCR-ABL p190 APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (BCR-ABL p190 DETECTED [above upper LoQ])

BCR-ABL p190 buvo aptikta lygyje > 25%.

“BCR-ABL p190 APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])” rezultatas rodo, BCR-ABL p190 aptinkamas, kai BCR-ABL p190 Ct yra didesnis arba lygus "8" ir mažesnis arba lygus "32" ribinei vertei, o ABL Ct yra didesnis nei arba lygus "8" ir mažesnis arba lygus „18“.

Pavyzdys: ABL Ct = 17,2; BCR-ABL p190 Ct = 18,7; $\Delta Ct = -1,6$
 Konkrečios partijos $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $\% \text{ santykis} = 2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6\%$ yra didesnis nei nustatyta tyrimo viršutinė KIR prie 25%

Rezultatas: BCR-ABL p190 APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (BCR-ABL p190 DETECTED [above upper LoQ]). Žr. pav. 4.



pav. 4. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: BCR-ABL p190 APTIKTA [daugiau nei viršutinė KIR] (BCR-ABL p190 DETECTED [above upper LoQ])

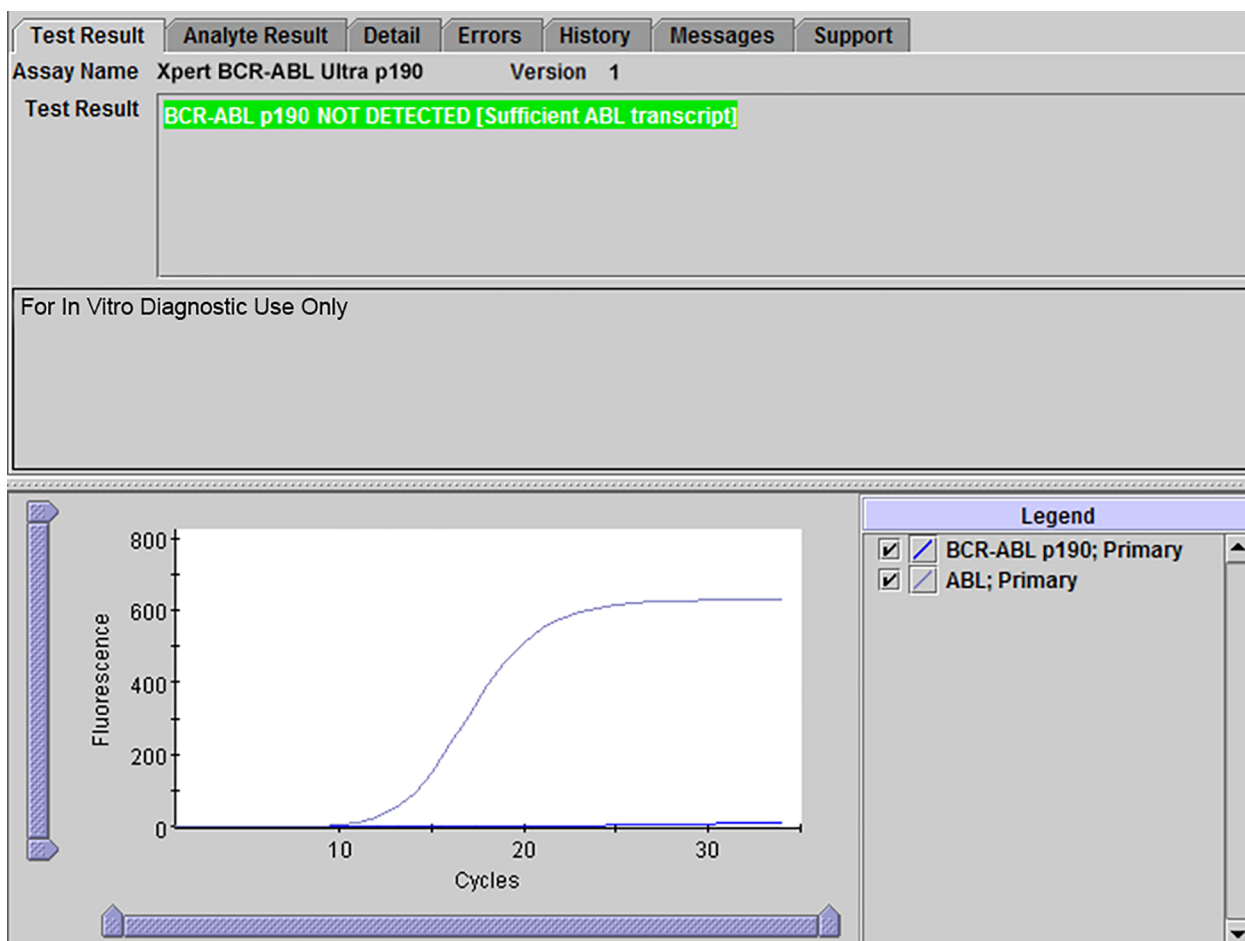
14.4 BCR-ABL p190 NEAPTIKTA [pakankamas ABL transkriptas] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 buvo neaptikta, kai BCR-ABL p190 Ct lygus „0“ arba didesnis už „32“ ribinę vertę, o ABL Ct didesnis nei „8“ ir mažesnis arba lygus „18“.

Kai BCR-ABL p190 neaptinkamas prie BCR-ABL p190 Ct lygios „0“ arba didesnės už „32“ ribinę vertę, GeneXpert programinė įranga pirmiausiai ieško ABL Ct, kad patvirtintų, ar ABL Ct yra didesnis arba lygus „8“ ir mažesnis arba lygus „18“, kad būtų užtikrintas „pakankamas ABL transkriptas“. Žr. lentelė 2.

Pavyzdys: BCR-ABL p190 Ct = 0; ABL Ct = 11,6 yra mažiau nei „18“.

Rezultatas: **BCR-ABL p190 NEAPTIKTA [pakankamas ABL transkriptas] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Žr. pav. 5.



pav. 5. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: BCR-ABL p190 NEAPTIKTA [pakankamas ABL transkriptas] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

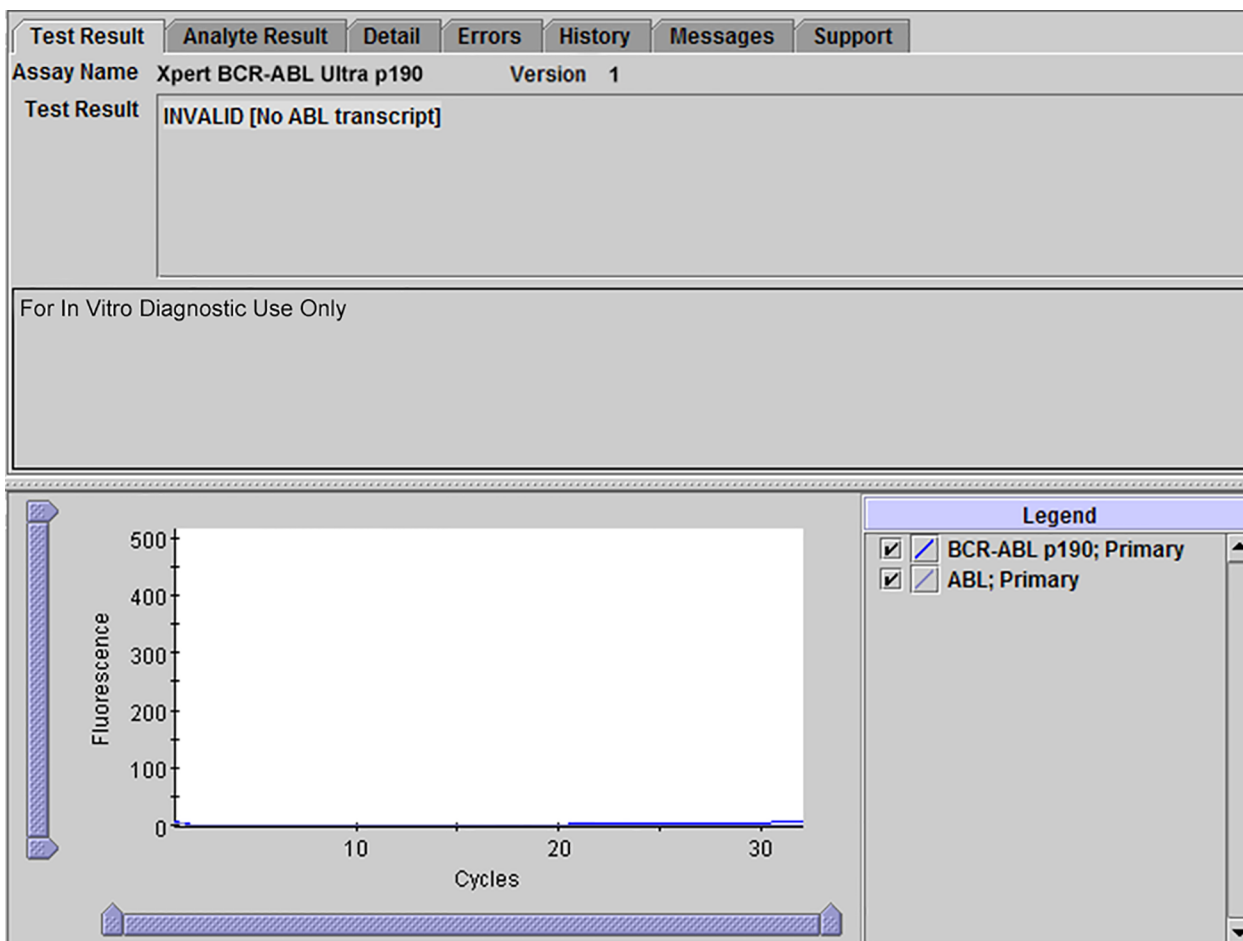
14.5 NEGALIOJANTIS [nėra ABL transkripto] (INVALID [No ABL transcript])

BCR-ABL p190 neaptiktas su ABL Ct verte lygia „0“.

Kai BCR-ABL p190 aptiktas arba neaptiktas, GeneXpert programinė įranga pirmiausia ieško ABL Ct, kad patvirtintų, ar ABL Ct yra mažesnis arba lygus „18“, jog užtikrintų, kad yra „Pakankamas ABL transkriptas (Sufficient ABL transcript)“. Žr. Skirsnis 16, „Trikčių šalinimo vadovas“.

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

Rezultatas: **NEGALIOJANTIS [nėra ABL transkripto] (INVALID [No ABL transcript])**. Žr. pav. 6.



pav. 6. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: NEGALIOJANTIS [nėra ABL transkripto] (INVALID [No ABL transcript])

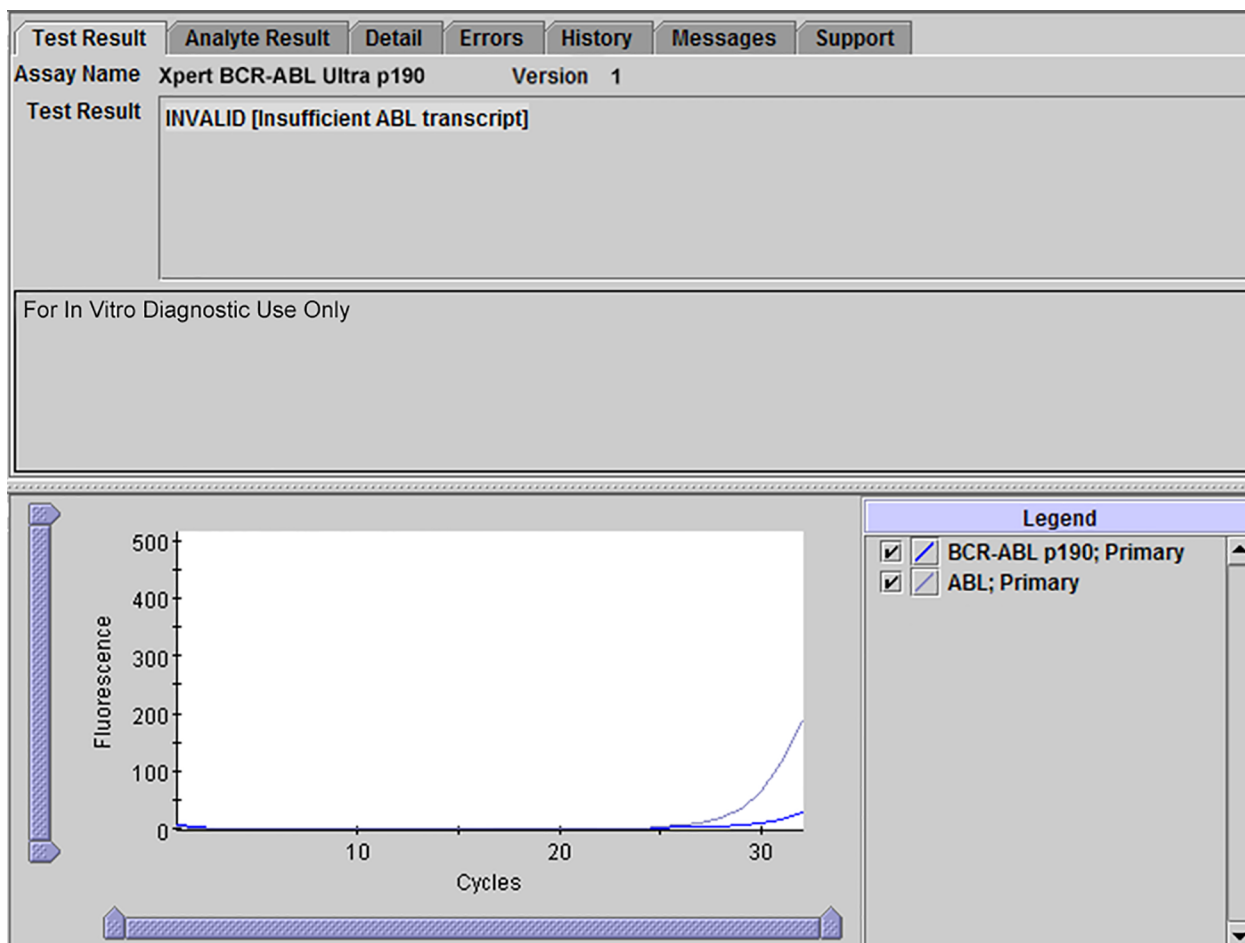
14.6 NEGALIOJANTIS [nepakankamas ABL transkriptas] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 nebuvo aptiktas, kai ABL Ct yra didesnis nei „18“.

Kai BCR-ABL p190 aptiktas arba neaptiktas, GeneXpert programinė įranga pirmiausia ieško ABL Ct, kad patvirtintų, ar ABL Ct yra mažesnis arba lygus „18“, jog užtikrintų, kad yra „Pakankamas ABL transkriptas (Sufficient ABL transcript)“. Žr. Skirsnis 16, „Trikčių šalinimo vadovas“.

Pavyzdys: BCR-ABL p190 Ct = 31,2; ABL Ct = 28 yra daugiau nei „18“.

Rezultatas: **NEGALIOJANTIS [nepakankamas ABL transkriptas] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Žr. pav. 7.



pav. 7. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: NEGALIOJANTIS [nepakankamas ABL transkriptas] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

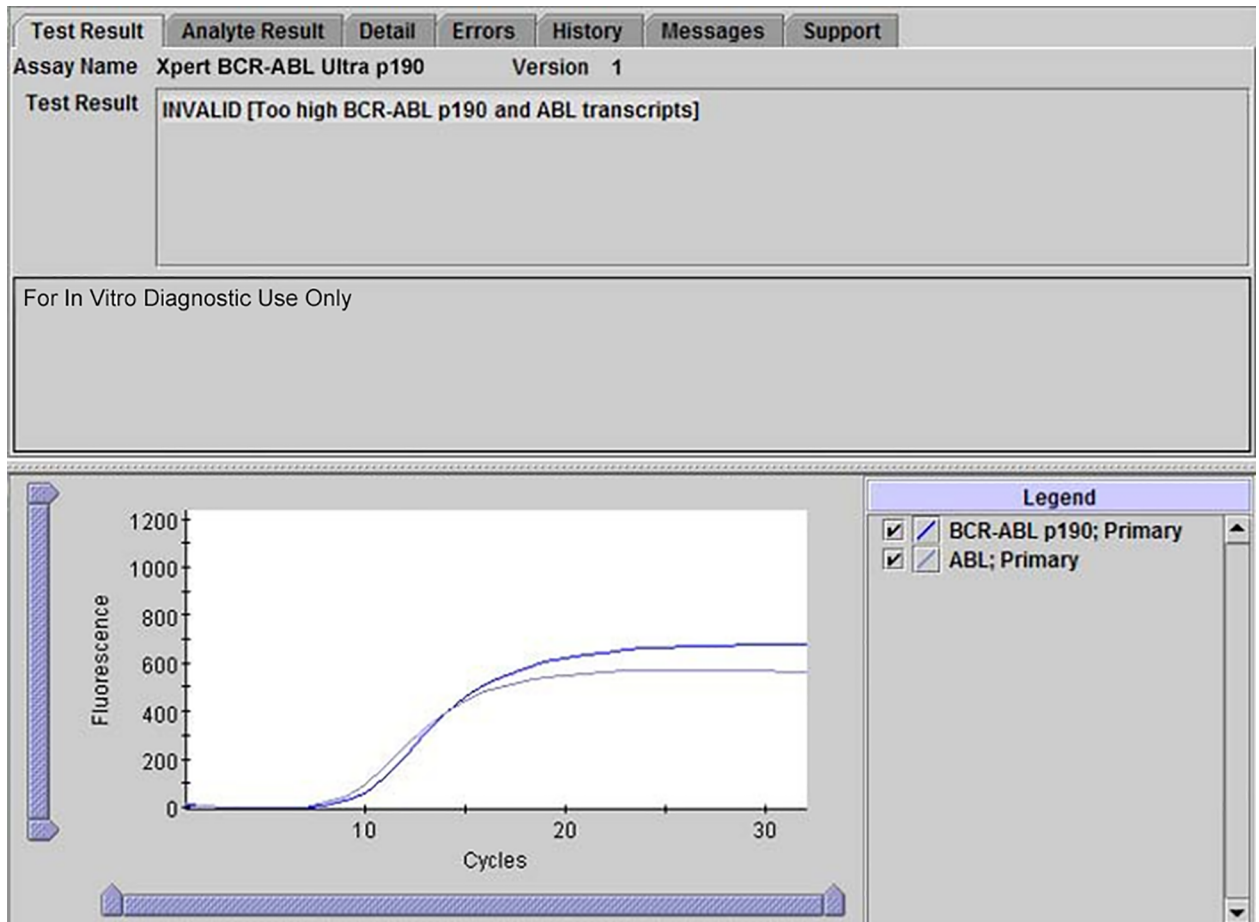
14.7 NEGALIOJANTIS [per daug BCR-ABL p190 ir ABL transkriptų] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

BCR-ABL p190 aptikta ir su BCR-ABL p190, ir su ABL Ct vertėmis, mažesnėmis už „8“.

Kai BCR-ABL p190 aptiktas arba neaptiktas, GeneXpert programinė įranga pirmiausia ieško ABL Ct, kad patvirtintų, ar ABL Ct yra mažesnis arba lygus „18“, jog užtikrintų, kad yra „Pakankamas ABL transkriptas (Sufficient ABL transcript)“. Žr. Skirsnis 16, „Trikčių šalinimo vadovas“.

Pavyzdys: BCR-ABL p190 Ct = 7,9; ABL Ct = 7,6 yra mažiau nei „8“.

Rezultatas: **NEGALIOJANTIS [per daug BCR-ABL p190 ir ABL transkriptų] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])**. Žr. pav. 8.



pav. 8. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: NEGALIOJANTIS [per daug BCR-ABL p190 ir ABL transkriptų] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

14.8 KLAIDA (ERROR)

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

pav. 9. GeneXpert Dx langas „Peržiūrėti rezultatus“: KLAIDA (ERROR)

15 Apribojimai

- Produktas skirtas tik *in vitro* diagnostikai.
- Tyrimas nėra skirtas naudoti su išoriniais kalibratoriais.
- Tyrimas neskirtas gydymo tirozinkinazių inhibitoriais (TKI) nutraukimui nustatyti ar stebėjimui nutraukus gydymą.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 tyrimo veiksmingumo atlikimas buvo įvertintas taikant tik šiose naudojimo instrukcijose pateiktas procedūras. Šių procedūrų pakeitimai gali pakeisti tyrimo veiksmingumą.
- Šis produktas buvo patvirtintas kraujui, surinktam EDTA mėgintuvėliuose.
- Nenaudokite heparino kaip antikoagulianto, nes jis gali slopinti PGR reakciją.
- Natrio citrato (Na Citrate), leuko-trombo sluoksniu ir kaulų čiulpų mėginių tipai nebuvo patvirtinti.
- Klaidingi tyrimo rezultatai gali kilti dėl netinkamo mėginių paėmimo, tvarkymo, laikymo ar mėginių sumaišymo. Norint išvengti klaidingų rezultatų, būtina griežtai laikytis naudojimo instrukcijų.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 tyrimas skirtas tik aptikti p190 BCR-ABL fuzijos transkriptą e1a2. Galimybė aptikti kitus fuzijos transkriptus nei aprašyta šiose naudojimo instrukcijose nebuvo įvertinta. Tyrimas neaptinka pagrindinių ar mikro atskaitos taškų, mikrolelekcijų ar mutacijų.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 nėra skirtas aptikti e13a2/b2a2 ir e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) ar kitų nedidelių translokacijų, kurios gali būti leukemija sergančio paciento periferinio kraujo mėginyje.
- Kai kurių mėginių, kurių baltųjų kraujo kūnelių skaičius yra labai didelis (daugiau nei 30 mln. ląstelių/ml), Xpert BCR-ABL Ultra p190 gali nurodyti **NEGALIOJANTIS (INVALID)** (2 tipo) rezultatus dėl BCR-ABL p190 arba ABL pertekliaus mėginyje. Žr. lentelė 2 dėl papildomos informacijos.
- Kai kurie mėginiai, kurių ABL transkripto kiekis labai mažas arba kurių baltųjų kraujo kūnelių kiekis mažesnis nei 150 000 ląstelių/ml, gali būti nurodyti **NEGALIOJANTIS (INVALID)** (1 tipo). Nenustatytas rezultatas neatmeta, kad paciento kraujyje yra labai mažai leukeminių ląstelių.
- LML p230 transkriptas su e19a2 mikro atskaitos tašku gali nurodyti apie teigiamą BCR-ABL rezultatą, mažesnę už tyrimo AR (0,0065%), kai tiriama esant dideliame tiksliniam lygiui (> 3,52 log virš AR).

- Mutacijos ar polimorfizmai pradmenyje arba zondą rišančiuose regionuose gali turėti įtakos naujų ar nežinomų variantų nustatymui ir gali sukelti klaidingai neigiamą rezultatą.
- Kai kurie pacientai, kurių BCR-ABL1 transkripto lygis yra labai mažas (t.y., mažesnis nei AR 0,0065%), gali būti nurodyti kaip **BCR-ABL p190 NEAPTIKTA [pakanka ABL transkripto] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Taigi, nenustatytas rezultatas neatmeta, kad paciento kraujyje yra mažai leukeminių ląstelių.
- Tyrimas patvirtintas naudoti su GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

16 Trikčių šalinimo vadovas

I lentelė 2. Trikčių šalinimo vadovas

Tyrimo rezultatas	Galimos priežastys	Patarimai
NEGALIOJANTIS (INVALID)	1 tipas: Endogeninės kontrolės ABL klaida: <ul style="list-style-type: none"> • Prasta mėginio kokybė • AT-PGR slopinimas • Jei ABL Ct > 18, ir (arba) baigties taškas < 200 	<ul style="list-style-type: none"> • Patikrinkite mėginio kokybę (pvz., viršytas mėginio saugojimo reikalavimas, įskaitant laiką ir temperatūrą). • Pakartokite tyrimą su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir naujos kasetės, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 17.1, „Pakartotinio tyrimo procedūra dėl KLAIDA (ERROR) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (1 tipas)“.
	2 tipas: BCR-ABL transkripto lygio negalima nustatyti dėl mėginio, kuriame yra BCR-ABL p190 ir (arba) ABL transkriptų pertekliaus (Ct < 8)	Pakartokite tyrimą su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir naujos kasetės, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 17.2, „Pakartotinio tyrimo procedūra, kai yra KLAIDA (ERROR) (Kodas 2008) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (2 tipas)“.
KLAIDA (ERROR) (kodas 2008)	Slėgis viršija ribą (2008 klaidos pranešimas)	<ul style="list-style-type: none"> • Patikrinkite mėginio kokybę • Patikrinkite, ar stipriai nepadidėjęs BKK skaičius • Pakartokite tyrimą su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir naujos kasetės, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 17.2, „Pakartotinio tyrimo procedūra, kai yra KLAIDA (ERROR) (Kodas 2008) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (2 tipas)“.
KLAIDA (ERROR) (Kodas 5006, 5007, 5008 ir 5009 ^a)	Nepavyko patikrinti zondo	Pakartokite tyrimą su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir naujos kasetės, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 17.1, „Pakartotinio tyrimo procedūra dėl KLAIDA (ERROR) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (1 tipas)“.
REZULTATO NĖRA (NO RESULT)	Duomenų rinkimo klaida. Pavyzdžiui, operatorius sustabdė vykstantį tyrimą arba įvyko elektros maitinimo gedimas.	Pakartokite tyrimą su originaliu mėginiu (jei yra) arba iš išsaugoto lizato ir naujos kasetės, vadovaudamiesi procedūra, kaip aprašyta Skirsnis 17.1, „Pakartotinio tyrimo procedūra dėl KLAIDA (ERROR) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (1 tipas)“.

^a Tai nėra baigtinis KLAIDŲ (ERROR) kodų sąrašas.

17 Pakartotiniai tyrimai

17.1 Pakartotinio tyrimo procedūra, kai yra KLAIDA (ERROR) arba NETINKAMAS (INVALID) (1 tipas)

Pakartotiniai išstirkite mėginius, kurių rezultatai yra **KLAIDA (ERROR)** ar **NEGALIOJANTIS (INVALID)**, nes ABL ciklo slenkstis (Ct) viršija didžiausią galiojančią Ct ribą (Ct >18) arba baigties taškas yra žemiau slenkščio nustatymo (<200). Taip pat žr. lentelė 2.

1. Išmatuokite kraujo mėginio tūrį:

- Jei yra *pakankamas* kraujo mėginio tūris, pakartokite tyrimą iš pradinio kraujo mėginio paėmimo mėgintuvėlio, atlikdami procedūrą, aprašytą Skirsnis 11.2.1.
 - ARBA-
 - Jei yra *nepakankamas* kraujo mėginio tūris, pakartotinis tyrimas gali būti atliekamas su išsaugotu lizatu nuo Skirsnis 11.2.1 12 veiksmo.
 - a. Jei išsaugotas lizatas iš Skirsnis 11.2.1 12 veiksmo yra laikomas užšaldytas, prieš naudojimą atšildykite iki kambario temperatūros.
 - b. Įsitikinkite, kad lizatas gerai sumaišytas, 10 sekundžių nuolat maišydami mėginį sukuriniu maišytuvu maksimaliu nustatymu ir palikite 3 minutėms, kad burbuliukai nusistovėtų. Imkitės 2 veiksmo.
2. Perkelkite 1 ml išsaugoto lizato į naują 50 ml kūginį mėgintuvėlį.
 3. Į naują kūginį mėgintuvėlį, kuriame yra lizatas, įpilkite 1,5 ml lizės reagento (LR).
 4. Atlikite 14–17 veiksmus iš Skirsnis 11.2.1, kad pasidarytumėte galutinį lizatą.
 5. Atidarykite kasetę pakeldami kasetės dangtelį ir perkelkite visą plovimo reagento (1) ampulės turinį į plovimo reagento kamerą (su maža anga). Žr. pav. 1.
 6. Pipete supilkite visą paruošto mėginio turinį į mėginio kamerą (didelė anga), žr. pav. 1.
 7. Uždarykite kasetės dangtelį. Pradėkite tyrimą (žr. Skirsnis 11.4).

17.2 Pakartotinio tyrimo procedūra, kai yra KLAIDA (ERROR) (kodas 2008) arba NEGALIOJANTIS (INVALID) (2 tipas)

Pakartotiniai išstirkite mėginius su BCR-ABL ir (arba) ABL transkriptų lygiais, esančiais žemiau galiojančių minimaliai Ct ribinei vertei (Ct <8) ir (arba) kai viršijama slėgio riba. Taip pat žr. lentelė 2.

1. Į naujo 50 ml kūginio mėgintuvėlio dugną įpilkite 100 µl PK (proteinazės K).

2. Išmatuokite kraujo mėginio tūrį:

- Jei yra *pakankamas* kraujo mėginio tūris, pakartokite tyrimą iš pradinio kraujo mėginio surinkimo mėgintuvėlio. Užtikrinkite, kad kraujo mėginys būtų gerai sumaišytas, prieš pat pipetuojuant apversdami kraujo paėmimo mėgintuvėlį 8 kartus. Imkitės 3 veiksmo.
 - ARBA-
 - Jei yra *nepakankamas* kraujo mėginio tūris, pakartotinis tyrimas gali būti atliekamas su išsaugotu lizatu nuo Skirsnis 11.2.1 12 veiksmo.
 - a. Jei išsaugotas lizatas iš Skirsnis 11.2.1 12 veiksmo yra laikomas užšaldytas, prieš naudojimą atšildykite iki kambario temperatūros. Jei naudojamas atšaldytas lizatas, prieš naudojimą leiskite atšilti iki kambario temperatūros.
 - b. Įsitikinkite, kad lizatas gerai sumaišytas, 10 sekundžių nuolat maišydami mėginį sukuriniu maišytuvu maksimaliu nustatymu ir palikite 3 minutėms, kad burbuliukai nusistovėtų. Imkitės 3 veiksmo.
3. Į mėgintuvėlį, kuriame jau yra proteinazės K, įpilkite 50 µl pradinio kraujo mėginio, jei yra, arba 80 µl išsaugoto lizato iš Skirsnis 11.2.1 12 veiksmo.
 4. Nepertraukiamai 3 sekundes maišykite mėginį sukuriniu maišytuvu maksimaliu nustatymu.
 5. Inkubuokite kambario temperatūroje 1 minutę.
 6. Atlikite 6–13 veiksmus iš Skirsnis 11.2.2, kad pasidarytumėte galutinį lizatą.
 7. Atidarykite kasetę pakeldami kasetės dangtelį ir perkelkite visą plovimo reagento (1) ampulės turinį į plovimo reagento kamerą (su maža anga). Žr. pav. 1.
 8. Pipete supilkite visą paruošto mėginio turinį į mėginio kamerą (didelė anga). Žr. pav. 1.

9. Uždarykite kasetės dangtelį. Pradėkite tyrimą (žr. Skirsnis 11.4).

18 Numatytos vertės

Xpert BCR-ABL Ultra p190 diapazonas apima pagrindinius klinikinio sprendimo taškus stebint LML ir ŪLL. Numatytos vertės išreiškiamos procentais BCR-ABL p190 mRNR (e1a2) ir ABL mRNR santykiu ir svyruoja nuo 0,0065% iki 25%. Matavimai žemiau šio diapazono nurodomi kaip neaptikti arba mažesni už aptikimo ribą (AR). Matavimai, viršijantys šį diapazoną, nurodomi kaip viršijantys kiekybinio įvertinimo ribą (KIR). Žr. Skirsnis 14 norėdami gauti daugiau informacijos.

19 Klinikinis veiksmingumas

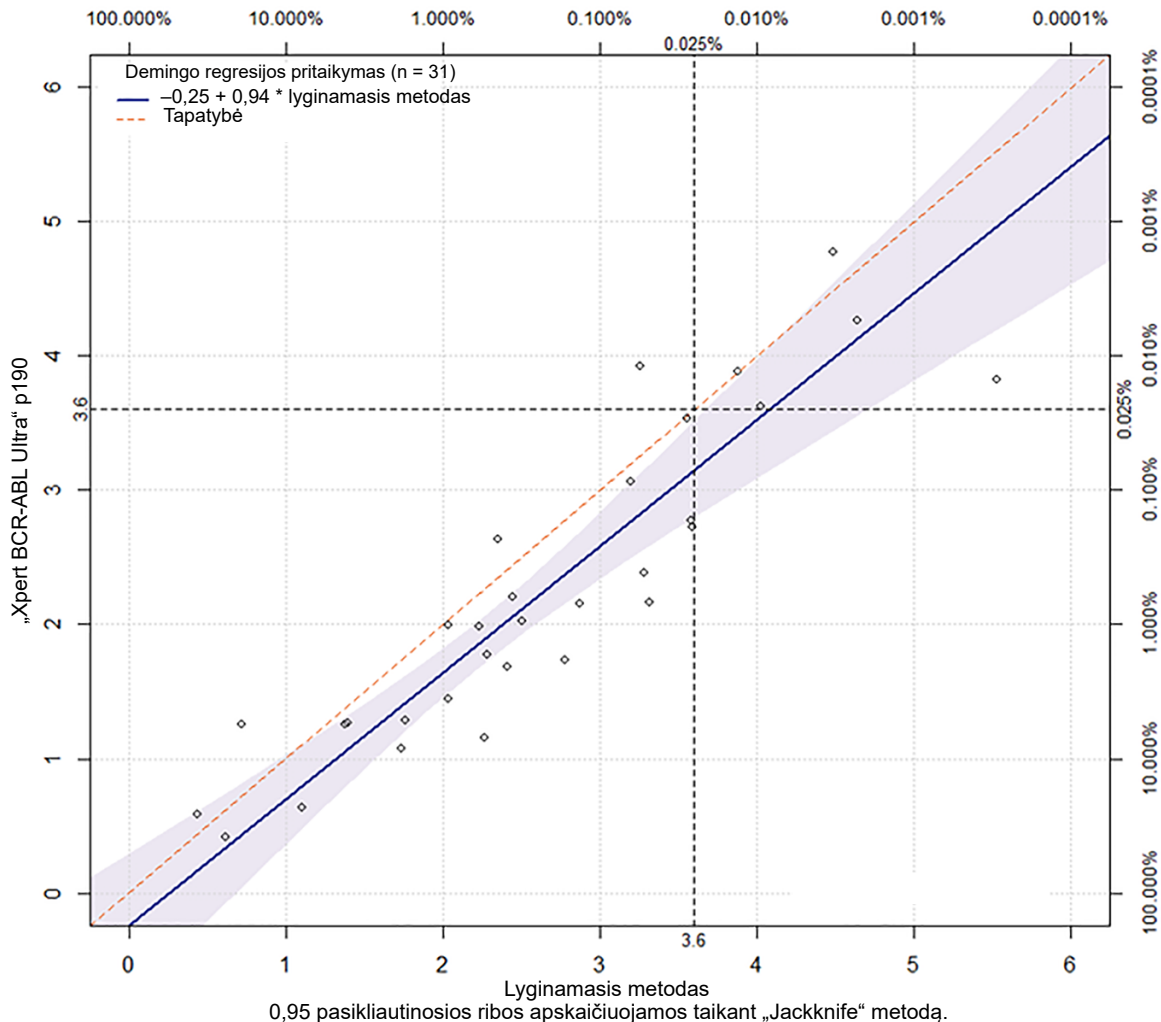
Klinikinis „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimo veiksmingumas buvo įvertintas trijose JAV institucijose kaip kelių centrų klinikinio tyrimo dalis. Tyrimas buvo atliktas naudojant perspektyviai paimtus EDTA periferinio kraujo (PK) mėginius iš pacientų, sergančių ūmine limfoblastine leukemija (ŪLL) ir lėtine mieloidine leukemija (LML), per visą gydymo stebėjimo laikotarpį. Be to, į tyrimą buvo įtraukti likę mėginiai, saugomi kaip šaldyti klinikiniai lizatai, pagaminti iš EDTA PK iš tos pačios pacientų populiacijos. „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimo veiksmingumas buvo lyginamas su molekulinio testu, kuriuo aptinkami ir kiekybiškai įvertinami mRNR transkriptai p190 [t(9;22)(q34;q11)] teigiamiems LML ir ŪLL pacientams, kurie ekspresuoja e1a2 tipo BCR-ABL1 fuzijos transkriptą, ir naudoja ABL kaip endogeninės kontrolės mRNR transkriptą.

Iš viso į šį tyrimą buvo įtraukti 47 mėginiai. Iš šių 47 mėginių, 9 RNR išeiga buvo <100 ng/ml ir jie nebuvo įtraukti į analizę. Iš viso buvo neįtraukti 9 mėginiai, o galutiniame duomenų rinkinyje liko 38 mėginiai. Svarbu pažymėti, kad visi 9 mėginiai, kurie buvo neįtraukti, davė galiojančius „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimo rezultatus.

Buvo renkamas amžius ir lytis į šį tyrimą įtrauktiems 38 mėginiams. Mėginiai buvo paimti iš 25 vyrų (65,8 %) ir 13 moterų (34,2 %). Visi mėginiai buvo paimti iš 20–88 metų amžiaus pacientų, vidutiniškai 54,5 metų. Dvidešimt trys (61 %) mėginiai buvo paimti iš pacientų, kuriems diagnozuota ŪLL, ir 15 (39 %) mėginių iš pacientų, kuriems diagnozuota LML.

Iš 38 tinkamų mėginių, septyni (7) mėginiai buvo pašalinti iš Demingo regresijos, nes jie buvo neigiami bent vienam iš tyrimų. Į Demingo regresijos analizę buvo įtrauktas trisdešimt vienas mėginys abiejų tyrimų kiekybiniuose diapazonuose.

Procentinio santykio (PS) rezultatų Demingo regresinė analizė rodo gerą koreliaciją tarp „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ ir lyginamojo metodo matavimų PS matavimo požiūriu. Atkarpa buvo 0,01, o nuolydis - 1,08; abu atitiko priimtino kriterijus. Pirsono r buvo 0,814. Logartiminė redukcija (LR) buvo atlikta siekiant normalizuoti PS duomenų pasiskirstymą. Atlikta Demingo regresinė analizė naudojant LR matavimus ir pateikta pav. 10 žemiau.



pav. 10. Demingo regresija LR

pav. 10 rodo didelę koreliaciją tarp „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ ir lyginamųjų metodų LR matavimų. Demingo regresijos nuolydis yra 0,94, o atkarpa -0,25. LR reikšmių Demingo regresijos rezultatai taip pat atitiko atkarpos ir nuolydžio priimtumo kriterijus. Bendra koreliacija (Pirsono) $r=0,904$ buvo didelė.

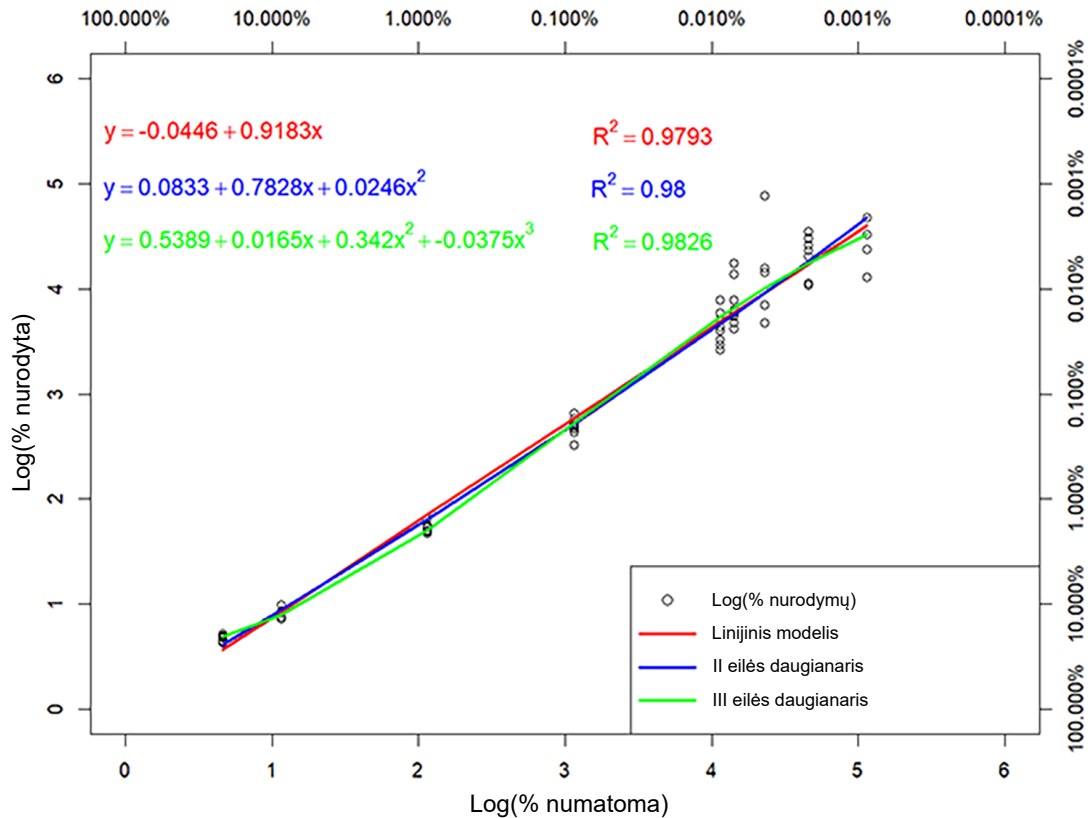
Teigiamas prognozuojamas 0,01 procentinis šališkumas (LR: -0,39) ir pasiskirstymas nurodo, kad daugumos mėginių „Xpert“ tyrimas matuoja didesnę p190 transkripto koncentraciją, palyginti su lyginamuoju metodu. „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimas parodė didelę 0,904 koreliaciją su lyginamuoju metodu ir turėjo mažą šališkumą, naudojant LR matavimus. Šiame tyrime nustatytas nenustatytų rezultatų rodiklis buvo 0 %, o priimtumo kriterijai, kai neaiškių rezultatų ≤ 5 %, taip pat buvo įvykdyti. „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimas parodė priimtina suderinamumą su lyginamuoju metodu, kaip rodo nuolydis ir atkarpa Demingo regresijos analizėje.

20 Analitinis veiksmingumas

20.1 Tiesiškumas / dinaminis diapazonas

Tiesiškumas buvo įvertintas pagal mažąjį atskaitos tašką e_{1a2} , naudojant bendrą RNR iš ŪLL SUP-B15 ląstelių linijos. Bendra RNR iš BCR-ABL p190 transkripto buvo praskiesta foniniu lizatu, paruoštu iš ŪLL neigiamo klinikinio mėginio, kad būtų pasiektas tikslinis intervalas nuo ~25% iki 0,001% (LR [logaritminė redukcija] nuo 0,60 iki LR5). Skydelio elementų nariai, įskaitant neigiamą lygį, buvo tirti dviem tyrimo rinkinių partijomis, pakartojimais po 4 kiekvienoje rinkinio partijoje.

Tyrimas ir statistinė analizė buvo atlikta pagal CLSI EP06-A. Pirmos, antros ir trečios eilės daugianariams buvo atlikta tiesinės regresijos analizė. e1a2 atskaitos taško rezultatas buvo laikomas tiesiniu, jei daugianario regresijos koeficientai buvo nereikšmingi (p reikšmės $> 0,05$). Tiesinės regresijos kreivė parodyta pav. 11 žemiau.



pav. 11. Atskaitos taško transkripto e1a2 tiesinės regresijos kreivės

Apskaičiuotos regresijos atkarpos, nuolydžiai ir R^2 reikšmės iš tiesinio modelio parodytos lentelė 3.

lentelė 3. Regresijos koeficientai iš tiesinio modelio

Atskaitos taškas	Atkarpa	Nuolydis	R^2
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Visi duomenys patvirtina tiesiškumo stebėjimą nuo ~25%/LR 0,60 iki 0,001%/LR5, kai didžiausias SN yra 0,26. Nurodomas diapazonas apima nuo tiesiškumo ribų 25%/LR0,6 iki KIR ties 0,0065%/LR4,19.

20.2 Analitinis jautrumas (aptikimo riba, kiekybinio įvertinimo riba, tuščio mėginio riba)

Aptikimo riba (AR) buvo įvertinta e1a2 atskaitos taškui tiriant ŪLL teigiamų klinikinių mėginių serijinius praskiedimus [$>10\%$]. Duomenys tarp praskiedimų buvo surinkti ir AR įvertinta naudojant probito regresijos analizę. Gauta analizė parodė, kad e1a2 atskaitos taško AR yra 0,0070 %.

AR buvo patikrinta pritaikant nparametrinį metodą, aprašytą CLSI rekomendaciniame dokumente EP17-A2 (lentelė 4). Trys unikalūs ŪLL teigiami mėginiai, atitinkantys e1a2 atskaitos tašką, buvo praskiesti iki tikslinio 0,0065 % lygio. 4 operatoriai ištyrė du šimtus penkiolika pakartojimų 3 tyrimo rinkinių partijose per 3 dienas.

lentelė 4. Patvirtinta aptikimo riba, %

Atskaitos taškas	Teigiamų skaičius / Pakartojimai	% teigiamų	Vidutinis % santykis
e1a2	206 / 215	96,0 %	0,0065 %

„Xpert BCR-ABL Ultra p190“ AR skirta e1a2 yra 0,0065 %.

Kiekybinio įvertinimo riba (KIR) buvo įvertinta pagal duomenis, gautus iš AR ir tiesiškumo tyrimų. Vidutinis ir standartinis procentinis BCR-ABL p190/ABL verčių nuokrypis buvo apskaičiuotas pakartojimais, atitinkančiais AR arba didesniais, kai teigiamumas didesnis arba lygus 95 %. KIR nurodoma kaip minimalus procentinis BCR-ABL p190/ABL rezultatas, kurį galima patikimai kiekybiškai įvertinti, atitinkant tikslumo poreikį aptikti e1a2 transkriptą, kurios teigiamumas yra didesnis nei arba lygus 95 %, su logaritminės redukcijos (LR) standartiniu nuokrypiu. $\leq 0,36$ LR. Tyrimo KIR yra ribojama tyrimo AR; todėl KIR buvo nustatyta lygi AR, 0,0065 %. Rezultatai taip pat buvo įvertinti pagal standartinio nuokrypio (SN) $\leq 0,36$ LR priimtumo kriterijus ir atitiko priimtumo kriterijus.

Tuščios mėginio ribos (TMR) tyrimas buvo atliktas siekiant įvertinti didžiausią procentinį BCR-ABL p190/ABL santykį, kuris gali būti aptiktas ≥ 95 % p190-neigiamų visos sudėties EDTA kraujo mėginių. Tyrimo TMR buvo nustatyta iš 387 tikslių duomenų taškų atliekant necenzūruotą nparametrinę analizę, kaip aprašyta CLSI EP17-A2, siekiant įvertinti TMR nuo 0,00032 % BCR-ABL p190/ABL.

20.3 Analitinis specifiškumas

„Xpert BCR-ABL Ultra“ p190 analitinis specifiškumas buvo įvertintas tiriant EDTA visos sudėties kraujo mėginius, paimtus iš dvidešimties (20) sveikų donorų (ne lėtinės mieloidinės leukemijos (LML) ir ne ūminės limfoblastinės leukemijos (ŪLL)). Kiekvienas mėginys buvo tirtas keturiais egzemplioriais.

Viename iš 80 pasikartojimų buvo aptiktas BCR-ABL p190 signalas, taip pademonstruojant 98,8% „Xpert BCR-ABL Ultra“ p190 tyrimo analitinį specifiškumą BCR-ABL p190 transkriptui.

20.4 Pernešamas užkrėtimas

Buvo atliktas tyrimas, siekiant parodyti, kad vienkartinės, atskiros GeneXpert kasetės apsaugo nuo pernešamo užkrėtimo iš kasečių, vykdomų nuosekliai tame pačiame modulyje. Norėdami tai įrodyti, neigiami mėginiai buvo vykdomi po labai teigiamų mėginių tame pačiame GeneXpert modulyje. Šį tyrimą sudarė **NEIGIAMO (NEGATIVE)** EDTA normalaus mėginio (ŪLL neigiamo kraujo) apdorojimas tame pačiame GeneXpert modulyje iškart po labai **TEIGIAMO (POSITIVE)** mėginio (imituojant ŪLL teigiamą kraują) su SUP-B15 ląstelėmis, pridėtomis į ŪLL neigiamą kraują, kad išveiga būtų $\geq 10\%$. Testavimo schema buvo pakartota 10 kartų kiekvienam mėginiui, pradedant ir baigiant neigiamu, dviejuose GeneXpert moduluose, taip gaunant kiekviename modulyje po 21 neigiamą ir 20 teigiamų. Visi dvidešimt BCR-ABL p190 teigiamų mėginių buvo teisingai nurodyti kaip **BCR-ABL p190 APTIKTA [#.##%] (BCR-ABL p190 DETECTED [#.##%])**, tuo tarpu visi dvidešimt vienas BCR-ABL p190 neigiamų mėginių buvo teisingai nurodyti kaip **BCR-ABL p190 NEAPTIKTA [pakankamas ABL transkriptas] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

20.5 Potencialiai trukdančios medžiagos

Šis tyrimas įvertino penkias medžiagas, kurios gali būti EDTA visos sudėties kraujo mėginiuose, galėjusių trukdyti atlikti „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimą. Ištirti junginiai ir lygiai (žr. lentelė 5) buvo pagrįsti CLSI dokumento EP07-A2 nurodymais. Trikdžiai buvo tiriami ŪLL EDTA visos sudėties kraujo mėginių fone, sukurtų naudojant ŪLL SUP-B15 ląsteles, atstovaujančias tris lygius su penkiais mėginiais kiekviename lygyje: >1 %, 0,1–0,02 %, ir neigiamą. Tyrimo kontrolę sudarė SUP-B15 ląstelės EDTA visos sudėties kraujyje atitinkamu BCR-ABL p190 transkripto lygiu be trukdančios medžiagos. Kiekvienas ŪLL mėginys buvo ištirtas nesant ir esant penkiems atskiriems trikdžiams po 4 pakartojimus kiekvienai sąlygai.

Medžiaga buvo laikoma netrukdančia, jei jai esant nustatytas vidutinis procentinis santykis buvo 3 kartus mažesnis nei kontrolinės medžiagos.

Kliniškai reikšmingo slopinamojo poveikio „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimui nepastebėta naudojant nė viena iš šioje studijoje įvertintų trukdančių medžiagų. Nors buvo pastebėtas tam tikras kintamumas ir statistškai reikšmingi skirtumai (p-reikšmė <0,05) kai kuriose tirtose sąlygose, nurodomi tyrimo ir kontrolės sąlygų procentiniai santykiai buvo priimtiniose 3 kartų ribose.

lentelė 5. Ištirtos potencialiai trukdančios medžiagos naudojant „Xpert BCR-ABL Ultra p190“

Trukdančios medžiagos	Ištirta koncentracija
Nekonjuguotas bilirubinas	20 mg/dl
Cholesterolis, bendras	500 mg/dl
Trigliceridai, iš viso (lipidai)	3000 mg/dl
Heparinas	3500 V/l
EDTA (trumpo trukimo)	900 mg/dl

21 Atkuriamumas ir tikslumas

„Xpert BCR-ABL Ultra p190“ tyrimo atkuriamumas ir tikslumas buvo įvertintas atliekant daugiacentrį tyrimą pagal CLSI EP05-A3, „Kiekybinių matavimų metodų tikslumo atlikimo įvertinimas; Patvirtintos gairės“ ir CLSI EP15-A3, „Naudotojo patikrinimas dėl tikslumo ir teisingumo, patvirtintos gairės“.

„Lentelė 6“ parodytas penkių mėginių, kurie buvo paruošti ir įtraukti į šį tyrimą, skydelis.

lentelė 6. Atkuriamumo skydelis, skirtas „Xpert BCR-ABL Ultra p190“

Mėgino Nr.	Skydelio aprašymas	BCR-ABL p190/ABL lygis aptiktas (procentinis santykis)
1	LR1: e1a2	~10 %
2	LR2: e1a2	~1 %
3	LR3: e1a2	~0,1 %
4	LR3.7: e1a2	~0,02 %
5	Neigiamas	Neaptikta

Kiekvienas iš penkių skydelių elementų buvo tirtas dviem egzemplioriais du kartus per dieną šešias skirtingas dienas dviejų skirtingų operatorių trijuose skirtinguose centruose. Buvo panaudotos trys „Xpert BCR-ABL Ultra p190“ rinkinių partijos ir kiekvienas operatorius atliko tyrimus su viena partija (3 centrai x 2 operatoriai x 3 partijos x 2 dienos (2 dienos tyrimo kiekvienai kasetės partijai) x 2 vykdymai x 2 pakartojimai = 144 pakartojimai / skydelio elementui).

lentelė 7. Standartinis nuokrypis ir variacijos koeficientas (VK) su procentiniu santykiu (PS)

Skydelio elementas	N	Vid-urkis	Centras		Op		Partija (Lot)		Diena		Vykdymas		Tyrimė		Iš viso	
			SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)
LR1: e1a2 (~10 % santykis)	144	14,04	0,20	1,44	0,00	0,00	3,14	22,35	0,55	3,94	0,00	0,00	1,63	11,60	3,58	25,53
LR2: e1a2 (~1 % santykis)	144	1,65	0,14	8,58	0,00	0,00	0,61	36,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	19,35	0,70	42,45
LR3: e1a2 (~0,1 % santykis)	144	0,16	0,01	6,15	0,00	0,00	0,08	50,18	0,01	5,26	0,00	0,00	0,04	24,42	0,09	56,39
LR3.7: e1a2 (~0,02 % santykis)	143 ^a	0,03	0,00	6,60	0,00	0,00	0,02	62,48	0,00	11,43	0,00	0,00	0,01	43,56	0,02	77,30

^a Vieno mėginio tyrimo ir pakartotinio tyrimo rezultatas buvo nenustatytas.

Bendras procentinio santykio kiekybinių verčių pateikimo variacijos koeficientas (VK %) svyravo nuo 25,53 iki 77,30 teigiamiems mėginiams. PS verčių pateikimo dispersijos komponentas neviršijo 50 % bendros šių veiksmų tyrimo dispersijos: Iš centro į centrą, nuo operatorius iki operatoriaus, nuo dienos iki dienos, ir nuo vykdymo iki vykdymo. Vidutinės PS kiekybinės vertės dispersijos analizė davė panašius rezultatus.

lentelė 8. Logaritminės redukcijos (LR) standartinis nuokrypis ir variacijos koeficientas (VK)

Skydelio elementas	N	Vid-urkis	Centras		Op		Partija (Lot)		Diena		Vykdymas		Tyrimė		Iš viso	
			SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)
LR1: e1a2 (~10 % santykis)	144	0,86	0,01	1,47	0,00	0,00	0,10	11,17	0,02	2,53	0,00	0,00	0,05	5,87	0,11	26,17
LR 2: e1a2 (~1 % santykis)	144	1,81	0,03	1,93	0,00	0,00	0,15	8,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	3,64	0,17	40,75
LR 3: e1a2 (~0,1 % santykis)	144	2,84	0,03	1,06	0,00	0,00	0,22	7,60	0,01	0,51	0,00	0,00	0,09	3,34	0,24	59,16
LR 3.7: e1a2 (~0,02 % santykis)	143 ^a	3,66	0,04	1,19	0,00	0,00	0,27	7,26	0,04	1,12	0,03	0,86	0,19	5,06	0,33	88,68

^a Vieno mėginio tyrimo ir pakartotinio tyrimo rezultatas buvo nenustatytas.

Bendras LR kiekybinių verčių pateikimo variacijos koeficiento (VK) procentas svyravo nuo 26,17 to 88,68 teigiamiems mėginiams.

22 Nuorodos

1. Faderl S. et al. Clinical Significance of Cytogenetic Abnormalities in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*. 1998; 91 (11): 3995-4019.
2. Dushyant, V. et al. Chronic myeloid leukemia (CML) with p190 BCR-ABL: analysis and characteristics, outcomes and prognostic significance. *Blood*. 2009; 114: 2232-2235.
3. Moorman, A. V. et al. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115:206-214.
4. Burmeister T. et al. Patient's age and BCR-ABL frequency in adult B-precursor ALL: A retrospective analysis from the GMALL study group. *Blood*. 2008; 112:918-919.
5. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology Acute Lymphoblastic Leukemia v2.2019.
6. Leukemia - Acute Lymphocytic Leukemia (ALL). National Cancer Institute | Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/aly1.html>
7. Bondi, A., Chiesa, R. Citterio, C., Conter, V., Rizzari, C., Sala, A. Acute lymphoblastic leukemia. *Orphanet encyclopedia*. August 2007. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=513.
8. White H. E. et al. Establishment of the First World Health Organization international genetic reference panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood*. 2010; 116:e111-e117.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (žr. naujausią leidimą). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokumentas M29 (žr. naujausią leidimą).
11. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. 2008 m. gruodžio 16 d. EUROPOS PARLAMENTO IR TARYBOS REGLAMENTAS (EB) Nr 1272/2008 „Cheminių medžiagų ir mišinių klasifikavimas, ženklavimas ir pakavimas“, pakeičiantis ir panaikinantis direktyvas 67/548/EEC ir 1999/45/EC, ir pakeičiantis Reglamentą (EB) Nr. 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 „Cepheid“ pagrindinių būstinių adresai

Bendrovės būstinė

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefonas: + 1 408 541 4191
Faksas: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Būstinė Europoje

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefonas: + 33 563 825 300
Faksas: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

24 Techninė pagalba

Prieš susisiekdami su „Cepheid“ technine pagalba, pasiruoškite šią informaciją:

- Produkto pavadinimas
- Partijos numeris
- Prietaiso serijos numeris
- Klaidų pranešimai (jeigu yra)
- Programinės įrangos versija ir, jei taikoma, kompiuterio techninės priežiūros kodas

Jungtinės Amerikos Valstijos




















Telefonas: + 1 888 838 3222
El. paštas: techsupport@cepheid.com

Prancūzija

Telefonas: + 33 563 825 319
El. paštas: support@cepheideurope.com

Visų „Cepheid“ techninės pagalbos padalinių kontaktinę informaciją galima rasti mūsų svetainėje: www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

25 Simbolių lentelė

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	Žymėjimas CE ženklu – Europos atitiktis
	<i>In vitro</i> diagnostinė medicinos priemonė
	Partijos kodas
	Nenaudoti pakartotinai
	Galiojimo pabaigos data
	Atsargiai
	Žr. naudojimo instrukcijas
	Gamintojas
	Gamybos šalis
	Pakanka šiam skaičiui tyrimų: n
	Kontrolė
	Temperatūros apribojimas
	Biologinė rizika
	Degūs skysčiai
	Toksinis poveikis reprodukcijai ir organams
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
	Įgaliotasis atstovas Šveicarijoje
	Importuotojas



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefonas: + 1 408 541 4191

Faksas: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefonas: + 33 563 825 300

Faksas: + 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 Redakcijų istorija

Pakeitimų aprašymas: 302-6673, nuo B red. iki C red.

Tikslas: naudojimo instrukcijos atnaujinimai

Skyrius	Pakeitimo aprašymas
8.3	Pridėtas įspėjimas, kad negalima atidaryti ar modifikuoti kasečių jas šalinant.
11.2.1	Atnaujinta pastaba dėl likusio lizato.
17	Atnaujinti pakartotinio tyrimo nurodymai ir ištaisytos skyriaus nuorodos.
19	Atnaujinti diagramos užrašai 10 paveiksle.
21	Atnaujintas atkuriamumo ir tikslumo turinys.
25	Pridėti CH REP ir importuotojo simboliai bei aprašai simbolių lentelėje. Pridėta CH REP ir importuotojo informacija su adresu Šveicarijoje.
26	Atnaujinta lentelė „Pakeitimų istorija“.