

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

REF GXBCRABLP190-CE-10

Pokyny na používanie

IVD

Vyhľadania o ochranných známkach, patentoch a autorských právach

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

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

© 2022–2023 Cepheid.

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

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] a Xpert[®] sú obchodné známky spoločnosti Cepheid registrované v USA a iných krajinách.

Všetky ostatné obchodné známky sú majetkom ich príslušných vlastníkov.

KÚPOU TOHTO PRODUKTU SA NA KUPUJÚCEHO PRENÁŠA NEPRENOSNÉ PRÁVO NA POUŽITIE V SÚLADE S TÝMTO NÁVODOM NA POUŽÍVANIE. ŽIADNE ĎALŠIE PRÁVA SA NEPRENÁŠAJÚ VÝSLOVNE, DOMNENE ANI FORMOU ESTOPPELU. KÚPOU TOHTO PRODUKTU SA TAKISTO NEPRENÁŠAJÚ ŽIADNE PRÁVA NA ĎALŠÍ PREDAJ TOHTO PRODUKTU.

© 2022–2023 Cepheid.

Popis zmien uvádza časť Časť 26 História revízií.

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

Na *in vitro* diagnostiku.

1 Obchodný názov

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

2 Bežne používaný názov

Xpert BCR-ABL Ultra p190

3 Zamýšľaný účel

3.1 Určené použitie

Test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 je diagnostický test *in vitro* na použitie na prístroji GeneXpert[®] Dx System od spoločnosti Cepheid na kvantifikáciu transkriptov mRNA BCR-ABL1 p190 a ABL1 vo vzorkách periférnej krvi diagnostikovanej Philadelphia pozitívnej (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] chronickej myeloidnej leukémie (CML) a akútnej lymfoblastickej leukémie (ALL) pacientov exprimujúcich fúzny transkript BCR-ABL1 typu e1a2. Test využíva automatizovanú kvantitatívnu reverznú transkripčnú polymerázovú reťazovú reakciu v reálnom čase (RT-qPCR) a je určený na meranie percentuálneho pomeru mRNA BCR-ABL1 p190 oproti mRNA ABL1 u t(9;22) pozitívnych pacientov s CML alebo ALL počas monitorovania liečby.

Test nesleduje iné fúzne transkripty vyplývajúce z t(9;22) a nie je určený na diagnostiku CML alebo ALL.

3.2 Zamýšľaný používateľ/Životné prostredie

Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 majú vykonávať vyškolení používatelia v laboratórnych podmienkach.

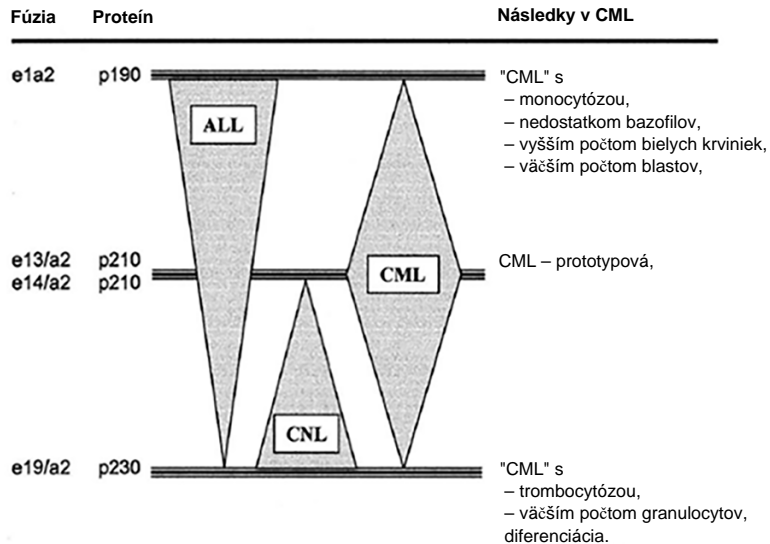
4 Súhrn a vysvetlenie

Chromozóm Philadelphia (Ph) je skráteneý chromozóm, ktorý vzniká transláciou 3' časti génu ABL na chromozóme 9 do 5' časti génu BCR na chromozóme 22. Zlomový bod v géne ABL je pomerne konštantný a vyskytuje sa na konci 5' exónu a2, zatiaľ čo zlomové body v géne BCR sú premenlivé, ale sú sústredené najmä v 3 rôznych oblastiach (oblasti klastra bodov zlomu alebo bcr). V závislosti od zlomového bodu na chromozóme 22 sa spájajú rôzne veľké segmenty s 3' sekvenciami génu ABL. Existujú hlavné (M-bcr), vedľajšie (m-bcr) a mikro zlomové body, z ktorých každý vedie k rôznej veľkosti fúznych transkriptov mRNA.¹

Ph chromozóm sa vyskytuje u viac ako 95 % pacientov s chronickou myeloidnou leukémiou (CML) a až u 20 – 30 % dospelých s akútnou lymfoblastickou leukémiou (ALL), 5 % detí s ALL a u 1 – 2 % pacientov s akútnou myeloidnou leukémiou (AML).¹

V CML je BCR-ABL p210 prítomná u viac ako 95 % pacientov a nachádza sa aj u približne 30 % Ph-pozitívnych (Ph+) pacientov s ALL. U ostatných pacientov s Ph+ ALL a v zriedkavých prípadoch CML (1 – 3 %) je prítomný BCR-ABL p190. V CML môžu BCR-ABL p210 a p190 existovať súčasne. Fúzne proteíny p210 aj p190 vykazujú zvýšenú aktivitu tyrozínfosfokinázy v porovnaní s normálnym proteínom c-abl p145.^{1,2}

U pacientov s Ph⁺ ALL sa forma p190 zistí približne u 80 % Ph⁺ detských ALL a u 20 – 40 % Ph⁺ ALL dospelých.¹ Okrem toho sa frekvencia Ph chromozómu zvyšuje s vekom, pričom vo veku 15 – 30 rokov je prítomný v 10 %, vo veku 40 – 49 rokov v 25 % a u pacientov s ALL starších ako 50 rokov v 20 – 40 %.³⁻⁵



Akútna lymfoblastická leukémia (ALL) je hematologické zhubné ochorenie, pri ktorom sa v kostnej dreni, krvi a iných tkanivách hromadia nezrelé slabo diferencované biele krvinky (WBC), lymfoblasty. ALL je klasifikovaná ako zriedkavé nádorové ochorenie (číslo ojedinelej choroby ORPHA:513; GARD 522) s výskytom 1,7/100 000. V Spojených štátoch amerických je ALL najčastejším nádorovým ochorením u detí od narodenia do 15 rokov a predstavuje 75 % všetkých prípadov detskej leukémie.^{6, 7}

Prítomnosť Ph chromozómu u pacientov s ALL po konsolidácii je významným prediktorom relapsu a odporúča sa jeho monitorovanie. V súčasnosti však neexistujú stanovené usmernenia, ktoré by definovali frekvenciu monitorovania pacientov s ALL pomocou merania transkriptu BCR-ABL p190 na detekciu minimálnej reziduálnej choroby (MRD). Usmernenia NCCN majú definitívne časové body na monitorovanie BCR-ABL p210 u pacientov s CML, takže meranie BCR-ABL p190 na monitorovanie ALL sa vykonáva podobne často.⁵

Chronická myeloidná leukémia (CML) je charakterizovaná prítomnosťou Ph chromozómu, pričom > 95 % prípadov je spojených s BCR-ABL p210 a len 1 – 3 % prípadov je spojených s BCR-ABL p190.^{2,3}

Na rozdiel od medzinárodného štandardu BCR-ABL Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO IS) pre transkript p210 v súčasnosti neexistuje medzinárodné uznávaná referencia, ktorú by bolo možné použiť na štandardizáciu fúzneho transkriptu p190. Preto súčasné molekulárne testy pre p190 zvyčajne detekujú fúzny transkript a uvádzajú ho v percentách vo vzťahu k expresii vnútorného kontrolného génu (napr. ABL).

5 Princíp postupu

Xpert BCR-ABL Ultra p190 je automatizovaný test na kvantifikáciu množstva transkriptu BCR-ABL1 p190 ako pomeru BCR-ABL p190/ABL1. Test sa vykonáva na zariadení GeneXpert Dx System od spoločnosti Cepheid, ktoré automatizuje a integruje čistenie vzoriek, amplifikáciu nukleových kyselín a detekciu cieľovej sekvencie v jednoduchých alebo komplexných vzorkách pomocou testov RT-PCR v reálnom čase a vnorenej PCR. Systém sa skladá z prístroja, počítača a predinštalovaného softvéru na vykonávanie testov a prezeranie výsledkov. Systém si vyžaduje použitie jednorazových zásobníkov GeneXpert, ktoré obsahujú RT-PCR činidlá a činidlá vnorenej PCR a v ktorých prebieha proces RT-PCR a proces vnorenej PCR. Kompletný popis systému uvádza *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Zásobník Xpert BCR-ABL Ultra p190 obsahuje reagentie na detekciu fúzných génov BCR-ABL1 p190, ktoré sú výsledkom malého zlomu, translokácie e1a2 a transkriptu ABL1 ako endogénnej kontroly vo vzorkách periférnej krvi. Množstvo transkriptu BCR-ABL1 p190 sa kvantifikuje ako percentuálny pomer BCR-ABL1 p190/ABL1. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 obsahuje dve kontroly – endogénnu kontrolu (ABL1) a kontrolu skúšky sondy (PCC). Endogénna kontrola ABL1 normalizuje cieľ BCR-ABL1 p190 a zabezpečuje, že sa v teste použije dostatočné množstvo vzorky. PCC overuje rehydratáciu činidla, naplnenie skúmavky PCR a prítomnosť a funkčnosť všetkých reakčných zložiek vrátane sond a farbív v zásobníku.

6 Činidlá a nástroje

6.1 Poskytované materiály

Súprava testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 (GXBCRABLP190-CE-10) obsahuje dostatočné množstvo činidiel na spracovanie 10 testovaných vzoriek alebo kontrol kvality. Súprava obsahuje nasledujúce:

Činidlá Xpert BCR-ABL Ultra

po 10 na súpravu

| | |
|--------------------------|--------------------------------------|
| Proteináza K (PK) | 10 x 130 µl v každej liekovke |
| Komponent | Zložka činidla |
| Proteináza K | < 5 % |

| | |
|--|--------------------------------------|
| Činidlo na lýzu (LY) (guanidíniumtiokyanát) | 10 x 5,3 ml v každej liekovke |
| Komponent | Zložka činidla |
| Guanidíniumchlorid | 25 – 50 % |
| Močovina | 25 – 50 % |
| Dodecylsírán sodný | < 2 % |

| | |
|---------------------------|-------------------------------------|
| Premývacie činidlo | 10 x 2,9 ml v každej ampulke |
| Komponent | Zložka činidla |
| Etanol | < 50 % |
| Guanidíniumtiokyanát | < 50 % |

| | | |
|--|--|----------------------------|
| Xpert BCR-ABL Ultra p190 Zásobníky s integrovanými reakčnými skúmavkami | | 10 v každej súprave |
| Komponent | Zložka činidla | Množstvo |
| Guľôčka 1 (lyofilizovaná) | Enzým: Taq DNA polymeráza < 50 U/guľôčku | 1 z každého na zásobník |
| | dNTPs < 0,05 % | |
| Guľôčka 2 (lyofilizovaná) | Priméry a sondy < 0,005 % | 1 z každého na zásobník |
| Guľôčka 3 (lyofilizovaná) | Priméry a sondy < 0,005 % | 1 z každého na zásobník |
| Guľôčka 4 (lyofilizovaná) | Enzým: Taq DNA polymeráza < 50 U/guľôčku | 1 z každého na zásobník |
| | dNTPs < 0,05 % | |
| Činidlo na vymývanie | Chlorid sodný < 4 % | 2 ml na každý zásobník |
| | Azid sodný < 0,1 % | |
| | Polyetylén glykol < 15 % | |
| | Tween 20 < 0,2 % | |
| Elučné činidlo | Trizma zásada < 0,3 % | 2,5 ml na každý zásobník |
| | Trizma hydrochlorid < 0,1 % | |
| | Azid sodný < 0,05 % | |

CD**1 v každej súprave**

- Súbor s definíciou analýzy (ADF)
- Pokyny na importovanie ADF do softvéru GeneXpert Dx
- Pokyny na používanie (Príbalová informácia)

Poznámka

Hovädzí sérový albumín (BSA) v guľôčkach tohto produktu bol vyprodukovaný a vyrobený výhradne z hovädzej plazmy pochádzajúcej z USA. Zvieratám nebol podávaný žiadny proteín z prežúvavcov ani iné živočíšne bielkoviny; zvieratá prešli testovaním pred porážkou a po nej. Počas spracovania nedochádzalo k miešaniu materiálu s inými živočíšnymi materiálmi.

Poznámka

Osvedčenia o analýze a listy údajov so špecifikáciami šarží sú k dispozícii na oddelení technickej podpory spoločnosti Cepheid.

6.2 Požadované materiály, ktoré nie sú súčasťou balenia

- GeneXpert Dx System (katalógové číslo sa líši podľa konfigurácie): Prístroj GeneXpert, počítač, snímač čiarových kódov a príručka operátora.
- Pre GeneXpert Dx System: verzia softvéru GeneXpert Dx 6.2 alebo novšia
- Tlačiareň: Ak sa vyžaduje tlačiareň, vhodnú tlačiareň vám odporučí technická podpora spoločnosti Cepheid.
- Vortexový mixér
- Mikrocentrifúga (minimálne 1 000 x g)
- Pipety a pipetovacie špičky s aerosólovým filtrom
- 50 ml kónické skúmavky
- Absolútny etanol vhodný na použitie ako činidlo

7 Skladovanie a manipulácia

- Obsah súpravy Xpert BCR-ABL Ultra p190 skladujte pri teplote 2 – 8 °C až do dátumu expirácie uvedeného na štítku.
- Veko zásobníka otvárajte, až keď ste pripravení na vykonanie testu.
- Nepoužívajte zásobníky, ktoré sú po dátume expirácie.
- Premývacie činidlo je číra, bezfarebná kvapalina. Nepoužívajte premývacie činidlo, ak sa zakalilo alebo došlo k zmene jeho zafarbenia.
- Dvadsať (20) minút pred začatím postupu vyberte vzorku krvi, kazetu a reagentie na prípravu vzorky zo skladu a nechajte ich stuhnúť na izbovú teplotu (20 – 30 °C).

8 Varovania a bezpečnostné opatrenia

8.1 Všeobecné

- Na *in vitro* diagnostiku.
- So všetkými biologickými vzorkami vrátane použitých zásobníkov a reagentii zaobchádzajte, akoby boli schopné prenosu infekčných látok. Nakoľko často nie je možné zistiť, ktoré vzorky môžu byť infekčné, so všetkými biologickými vzorkami je potrebné zaobchádzať so štandardnými bezpečnostnými opatreniami. Usmernenia pre manipuláciu so vzorkami sú k dispozícii v Centrách na kontrolu a prevenciu ochorení v USA⁹ a v Inštitúte pre klinické a laboratórne normy (CLSI)¹⁰.
- Pri práci s chemikáliami a pri manipulácii s biologickými vzorkami dodržiavajte bezpečnostné postupy určené vašou inštitúciou.
- Výkonnostné charakteristiky tohto testu boli stanovené len pre krv odobratú do skúmaviek EDTA. Výkonnosť tejto analýzy s inými typmi vzoriek alebo vzorkami nebola stanovená.
- Spoľahlivé výsledky závisia od primeraného odberu, prepravy, uskladnenia a spracovania vzoriek. Nesprávne výsledky testu sa môžu vyskytnúť pri nesprávnom odbere, manipulácii alebo skladovaní vzoriek, technickej chybe, zámene

vzoriek alebo preto, že cieľový transkript vo vzorke je pod limitom detekcie (LoD) testu. Aby sa zabránilo chybným výsledkom, je potrebné dôsledne dodržiavať pokyny v príbalovom letáku a v *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Uskutočnenie testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 mimo odporúčaných teplotných rozsahov a času skladovania vzorky môže mať za následok chybné alebo neplatné výsledky.
- Biologické vzorky, prenosové zariadenia a použité zásobníky sa považujú za zdroj prenosu infekčných agens, čo si vyžaduje štandardné bezpečnostné opatrenia. Pri správnom zneškodňovaní použitých zásobníkov a nepoužitých činidiel sa riadte postupmi ochrany životného prostredia pri zneškodňovaní odpadov svojej inštitúcie. Tieto materiály môžu mať vlastností chemicky nebezpečného odpadu vyžadujúceho osobitné národné alebo regionálne postupy zneškodňovania. Ak národné alebo regionálne predpisy neposkytujú jasné pokyny na správne zneškodňovanie, biologické vzorky a použité zásobníky je potrebné likvidovať podľa pokynov WHO (Svetová zdravotnícka organizácia) pre nakladanie so zdravotníckym odpadom a jeho zneškodňovanie.¹¹

8.2 Vzorka

- Počas prepravy vzorky dodržiavajte správne podmienky skladovania, aby ste zaistili jej integritu (pozri Časť 10). Stabilita vzoriek v podmienkach prepravy iných ako odporúčaných nebola vyhodnotená.
- Nezmrazujte vzorky celej krvi.
- Pre správnosť výsledkov je nevyhnutný správny odber, uskladnenie a preprava vzoriek.

8.3 Test/čínidlo

- Činidlá testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 nezamieňajte za iné činidlá.
- Neotvárajte veko zásobníka Xpert BCR-ABL Ultra p190 s výnimkou pridávania vzorky a premývacieho činidla.
- Nepoužívajte zásobník, ktorý vám po vybalení spadol.
- Zásobníkom netraсте. Ak po otvorení veka zásobníka dôjde k traseniu zásobníkom alebo jeho pádu, výsledok testu môže byť neplatný. Štítk s ID vzorky neumiestňujte na veko zásobníka ani na štítk s čiarovým kódom zásobníka.
- Nepoužívajte zásobník s poškodeným štítkom s čiarovým kódom. Nepoužívajte zásobník, ktorý má poškodenú reakčnú skúmavku.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 Pri testovaní by mali mať zásobníky izbovú teplotu (20 °C – 30 °C).
- Každý jednorazový zásobník testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 sa používa na spracovanie jediného testu. Spracované zásobníky nepoužívajte opakovane.
- Jednorazové pipetové špičky nepoužívajte opakovane.
- Nepoužívajte zásobník, ak je vlhký alebo ak je poškodené tesnenie veka.
- Ak je čínidlo pridané do nesprávneho otvoru, zásobník Xpert BCR-ABL Ultra p190 nepoužívajte. Po skončení testu zásobník Xpert BCR-ABL Ultra p190 neotvárajte.
- Vyhraďte si súpravu pipiet a činidiel výlučne na prípravu vzoriek.
- Noste čistý laboratórny plášť a rukavice. Medzi manipuláciou s každou vzorkou si vymeňte rukavice.
- V prípade, ak dôjde k vyliatiu vzorky alebo kontrol, majte rukavice a uniknutú tekutinu utrite papierovými utierkami. Dôkladne vyčistite a vydezinfikujte všetky laboratórne pracovné povrchy čerstvo pripraveným roztokom 0,5 % chlórnanu sodného v destilovanej alebo deionizovanej vode (domáce bielidlo zriedené v pomere 1 : 10). Konečná koncentrácia aktívneho chlóru by mala byť 0,5 %. Po vysušení pracovnej plochy pokračujte utretím povrchu 70 % etanolom. V prípade zariadenia postupujte podľa odporúčaní výrobcu pre dekontamináciu zariadenia. Prípadne postupujte podľa štandardných postupov vašej inštitúcie pre prípady kontaminácie alebo úniku.
- Použité zásobníky môžu obsahovať potenciálne infekčné materiály, ako aj vysoko amplifikované ciele PCR. Neotvárajte ani sa nepokúšajte meniť žiadnu časť zásobníka na účely jeho likvidácie.


9 Chemické nebezpečenstvo^{12,13}

Poznámka

Karty bezpečnostných údajov (SDS) sú dostupné na adrese www.cepheid.com alebo www.cepheidinternational.com na karte **SUPPORT (PODPORA)**.

Poznámka

Nižšie uvedené informácie sa vzťahujú na proteinázu K, lyzačné, premývacie a oplachovacie činidlá.

- Piktogram nebezpečenstva GHS OSN: 
- Signalizačné heslo: NEBEZPEČENSTVO
- Výstražné upozornenia GHS OSN

- Škodlivý po požití – H302
- Vysoko horľavá kvapalina a para – H225
- Dráždi kožu – H315
- Spôsobuje vážne podráždenie očí – H319
- Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty – H336
- Podozrenie, že spôsobuje genetické poškodenie – H341
- **Bezpečnostné vyhlásenia GHS OSN**
 - **Prevenca**
 - Pred použitím si pozrite kartu bezpečnostných údajov, kde nájdete osobitné pokyny.
 - Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia.
 - Používajte osobné ochranné prostriedky: rukavice, okuliare, tvárový štít a odev.
 - Používajte len v dobre vetraných priestoroch.
 - Chráňte pred teplom, iskrami, otvoreným ohňom a/alebo horúcimi povrchmi.
 - Vyhnite sa vdychovaniu hmly, výparov alebo postreku.
 - Po manipulácii si dôkladne umyte ruky.
 - **Reakcia**
 - V prípade POŽIARU: Na hasenie použite vhodné hasiace médium.
 - PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte postihnutého na čerstvý vzduch a nechajte ho oddychovať v polohe, ktorá mu umožní pohodlné dýchanie.
 - Pri zdravotných problémoch volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára.
 - V prípade ÚNIKU: Okamžite odstráňte kontaminovaný odev. Pri kontakte s pokožkou alebo vlasmi, opláchnite ich vodou/sprchou.
 - Ak sa prejaví PODRÁŽDENIE POKOŽKY: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
 - PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Ak používate kontaktné šošovky, odstráňte ich. Oči niekoľko minút dôkladne vyplachujte vodou. Ak podráždenie očí pretrváva: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
 - Špecifické ošetrenie: pozri doplnkové opatrenia prvej pomoci v karte bezpečnostných údajov.
 - Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
 - **Skladovanie/Likvidácia**
 - Skladujte v chladničke.
 - Nádoby uchovávajte tesne uzavreté.
 - Obsah a/alebo nádobu zlikvidujte v súlade s miestnymi, regionálnymi, národnými a/alebo medzinárodnými predpismi.

10 Odber, preprava a uskladnenie vzoriek

- Test si vyžaduje vzorky plnej krvi odobraté do vákuových skúmaviek EDTA. Vzorky sa môžu pred použitím uchovávať až 72 hodín pri teplote 2 – 8 °C. Plazma by sa nemala oddeľovať od buniek.
- Pre funkciu tohto testu sú správny odber, uskladnenie a preprava vzoriek veľmi dôležité.

11 Postupy

11.1 Predtým, ako začnete

Dvadsať (20) minút pred začatím postupu vyberte vzorku krvi, činidlá na prípravu vzoriek a kazety z chladiaceho zariadenia, aby mali izbovú teplotu. Proteinázu K (PK) krátko odstredte v mikrocentrifúge.

Dôležité Pred prípravou vzorky vyberte kazetu z kartónového obalu. (Pozrite si časť Časť 11.2, Príprava vzorky.)

Dôležité Test spustíte na prístroji GeneXpert Dx do 1 hodiny od vloženia pripravenej vzorky do zásobníka.

11.2 Príprava vzorky

11.2.1 Príprava vzorky s neznámym počtom bielych krviniek (WBC) alebo vzorky s menej ako 30 miliónmi WBC/ml

1. Na dno novej 50 ml kónickej skúmavky pridajte 100 µl PK (proteínáza K).
2. Bezprostredne pred pipetovaním sa uistite, že je vzorka krvi dobre premiešaná 8-krát prevrátením skúmavky na odber krvi. Pozrite si návod na použitie skúmavky na odber krvi EDTA od výrobcu.
3. Do skúmavky, ktorá už obsahuje proteínázu K, pridajte 4 ml vzorky krvi.
4. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 3 sekúnd.
5. Inkubujte pri izbovej teplote 1 minútu.
6. Do tej istej skúmavky pridajte 2,5 ml činidla na lýzu (LY).

Poznámka Zvyšné činidlo na lýzu si ponechajte na ďalšie použitie v kroku 13.

7. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 10 sekúnd.
8. Inkubujte pri izbovej teplote 5 minút.
9. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 10 sekúnd.
10. Inkubujte pri izbovej teplote 5 minút.
11. Vzorku premiešajte 10-krát poklepaním na dno skúmavky.
12. Preneste 1 ml pripraveného lyzátu do novej 50 ml kónickej skúmavky.

Poznámka Zvyšný lyzát sa môže použiť na opakovanie testu. Zvyšný lyzát uchovávajte pri teplote 2 – 8 °C až 4 hodiny alebo pri teplote –20 °C alebo nižšej až 24 týždňov.

13. Do novej kónickej skúmavky obsahujúcej lyzát pridajte 1,5 ml zadržaného činidla na lýzu (LY) z kroku 6.
14. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 10 sekúnd.
15. Inkubujte pri izbovej teplote 10 minút.
16. Do tej istej kónickej skúmavky pridajte 2 ml absolútneho etanolu reagenčnej kvality (poskytne používateľ).
17. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 10 sekúnd. Odložte.
18. Zlikvidujte všetky zvyšné činidlá PK alebo LY.

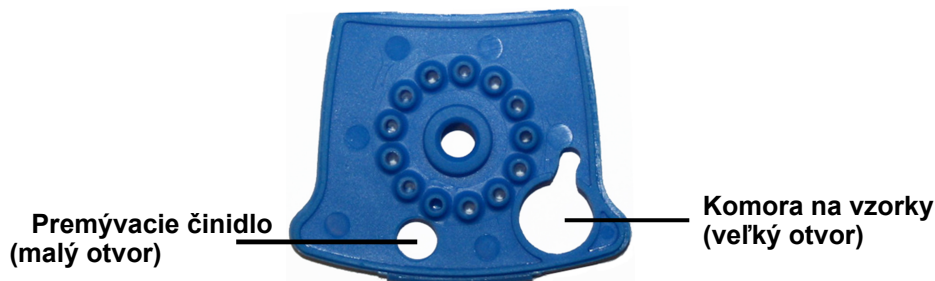
11.2.2 Príprava vzorky s počtom WBC vyšším ako 30 miliónov buniek/ml

1. Na dno novej 50 ml kónickej skúmavky pridajte 100 µl PK (proteínáza K).
2. Bezprostredne pred pipetovaním sa uistite, že je vzorka krvi dobre premiešaná 8-krát prevrátením skúmavky na odber krvi. Pozrite si návod na použitie skúmavky na odber krvi EDTA od výrobcu.
3. Do skúmavky, ktorá už obsahuje proteínázu K, pridajte 50 µl vzorky krvi.
4. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 3 sekúnd.
5. Inkubujte pri izbovej teplote 1 minútu.
6. Do tej istej skúmavky pridajte 2,5 ml činidla na lýzu (LY).
7. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 10 sekúnd.
8. Inkubujte pri izbovej teplote 5 minút.
9. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 10 sekúnd.
10. Inkubujte pri izbovej teplote 5 minút.
11. Do tej istej kónickej skúmavky pridajte 2 ml absolútneho etanolu reagenčnej kvality (poskytne používateľ).
12. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 10 sekúnd. Odložte.
13. Zlikvidujte všetky zvyšné činidlá PK alebo LY.

11.3 Príprava zásobníka

Pridanie vzorky do zásobníka Xpert BCR-ABL Ultra p190:

1. Vyberte zásobník z kartónového obalu.
2. Skontrolujte, či zásobník nie je poškodený. Ak je poškodený, nepoužívajte ho.
3. Zdvihnite veko zásobníka a preneste celý obsah ampulky s premývacím činidlom (1) do komory s premývacím činidlom (malý otvor). Pozrite Obrázok 1.
4. Pipetujte celý obsah pripravenej vzorky do komory na vzorky (veľký otvor). Pozrite Obrázok 1.



Obrázok 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Zásobník (pohľad zhora)

5. Zatvorte kryt zásobníka. Uistite sa, že veko pevne zacvaklo na miesto. Spustite test (pozrite si časť Časť 11.4, Spustenie testu).

11.4 Spustenie testu

Táto časť opisuje základné kroky na spustenie testu. Podrobné pokyny si pozrite v *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Dôležité Pred spustením testu sa uistite, že na prístroji je nainštalovaná verzia softvéru GeneXpert Dx 6.2 alebo vyššia a že je do softvéru importovaný správny súbor definície testu (ADF).

Poznámka Konkrétne kroky sa môžu líšiť, ak administrátor systému zmenil predvolený tok činností systému.

1. Zapnite prístroj GeneXpert:
ak sa používa prístroj GeneXpert Dx, najskôr zapnite prístroj GeneXpert Dx a potom počítač. Softvér GeneXpert sa zapne automaticky. Ak sa tak nestane, dvakrát kliknite na ikonu softvéru GeneXpert Dx na ploche systému Windows®.
2. Do softvéru prístroja GeneXpert sa prihláste pomocou svojho mena používateľa a hesla.
3. V okne **systému GeneXpert** kliknite na položku **Vytvoriť test (Create Test)** (GeneXpert Dx). Otvorí sa okno **Vytvoriť test (Create Test)**. Otvorí sa kontextové okno na skenovanie čiarového kódu **Skenovať ID pacienta (Scan Patient ID)**.
4. Naskenujte alebo zadajte ID pacienta. Ak ID pacienta zadávate pomocou klávesnice, uistite sa, že je správne. ID pacienta je spojené s výsledkami testu a zobrazuje sa v okne **Zobraziť výsledky (View Results)** a vo všetkých správach. Zobrazí sa kontextové okno na skenovanie čiarového kódu **Skenovať ID vzorky (Scan Sample ID)**.
5. Naskenujte alebo zadajte ID vzorky. Ak ID vzorky zadávate pomocou klávesnice, uistite sa, že je správne. ID vzorky je spojené s výsledkami testu a zobrazuje sa v okne **Zobraziť výsledky (View Results)** a vo všetkých správach. Otvorí sa kontextové okno **Skenovať čiarový kód zásobníka (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Naskenujte čiarový kód zásobníka. Softvér prostredníctvom informácií z čiarového kódu automaticky vyplní údaje do nasledujúcich polí: Výber analýzy (Select Assay), ID šarže činidla (Reagent Lot ID), Sériové č. zásobníka (Cartridge SN) a Dátum expirácie (Expiration Date).

Poznámka Ak nie je čiarový kód na zásobníku možné oskenovať, test zopakujte s novým zásobníkom. Ak ste v softvéri naskenovali čiarový kód a súbor s definíciou analýzy (ADF) nie je dostupný, zobrazí sa obrazovka, ktorá informuje, že v systéme nie je nahratý súbor s definíciou analýzy (ADF). Ak sa zobrazí táto obrazovka, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Cepheid.

7. Kliknite na položku **Spustiť test (Start Test)**. Do zobrazeného kontextového okna podľa potreby zadajte heslo.
8. Otvorte dvierka modulu prístroja s blikajúcim zeleným svetlom a vložte zásobník.
9. Zatvorte dvierka. Test sa spustí a zelené svetlo prestane blikáť. Po ukončení testu sa svetlo vypne.
10. Počkajte, kým systém neodomkne dvierka modulu, a otvorte ich. Potom vyberte zásobník.
11. Použitie zásobníky zlikvidujte v príslušnej nádobe na odpad zo vzoriek v súlade so štandardnými postupmi inštitúcie.

12 Zobrazenie a tlač výsledkov

Táto časť uvádza základné kroky na zobrazenie a tlač výsledkov. Podrobnejšie pokyny na prezeranie a tlač výsledkov uvádza *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Na zobrazenie výsledkov kliknite na ikonu **Zobrazit' výsledky (View Results)**.
2. Po dokončení testu kliknutím na tlačidlo **Správa (Report)** v okne **Zobrazenie výsledkov (View Results)** zobrazíte a/alebo vygenerujete PDF súbor so správou.

13 Kontrola kvality

Každý test obsahuje endogénnu kontrolu (Endogenous Control, ABL) a kontrolu skúšky sondy (Probe Check Control, PCC).

Endogénna kontrola ABL – endogénnou kontrolou ABL sa overuje, či sa pri teste používa dostatočné množstvo vzorky. Táto kontrola okrem toho deteguje inhibíciu testu PCR v reálnom čase súvisiaceho so vzorkou. Ak sú určené kritériá splnené, kontrola ABL je úspešná.

Kontrola skúšky sondy (Probe Check Control, PCC) – pred začiatkom reakcie PCR meria systém GeneXpert fluorescenčný signál zo sond na monitorovanie rehydratácie guľôčok, plnenia reakčných skúmaviek a či sú všetky reakčné komponenty v zásobníku funkčné. Ak sú určené kritériá splnené, kontrola PCC je úspešná.

14 Interpretácia výsledkov

Kvantitatívne výstupy testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 sú uvedené ako percentuálny pomer BCR-ABL1 p190/ABL1. Príklady možných výsledkov a interpretácií sú uvedené v Tabuľka 1.

Tabuľka 1. Možné výsledky testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 a interpretácia

| Kontrola sondy* | ABL Ct* | e1a2 Ct* | Výsledok testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 | Poznámky |
|------------------------|-----------------------------|--|--|---|
| PLATNÝ VÝSLEDOK (PASS) | PLATNÝ VÝSLEDOK (PASS) | POZ. | BCR-ABL p190 ZISTENÉ [#.## %] (BCR-ABL p190 DETECTED [#.##%]) | Uvádza sa vypočítaná hodnota % pomeru. Pozrite Obrázok 2. |
| | | | BCR-ABL p190 ZISTENÉ [pod LoD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%]) | Vypočítaný % pomer je pod hranicou detekcie a neuvádza sa. Pozrite Obrázok 3. |
| | | | BCR-ABL p190 ZISTENÝ [nad horným LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED) [Above upper LoQ] | Vypočítaná hodnota % je nad hranicou stanovenia a neuvádza sa. Pozrite Obrázok 4. |
| | | NEG. | BCR-ABL p190 NEZISTENÝ [dostatočný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) | e1a2 Ct je nulová alebo vyššia ako prah akceptovateľnosti. Pozrite Obrázok 5. |
| | NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) | NEPLATNÝ VÝSLEDOK [príliš vysoké transkripty BCR-ABL p190] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcripts]) | e1a2 Ct je nižšia ako prah akceptovateľnosti. | |

| Kontrola sondy* | ABL Ct* | e1a2 Ct* | Výsledok testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 | Poznámky |
|-----------------|--|---|--|---|
| | ZLYHANIE (FAIL) | POZ. (POS), NEG. (NEG) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) | NEPLATNÝ VÝSLEDOK [žadny transkript ABL] INVALID [No ABL transcript] | Hodnota ABL Ct je nula. Nezistilo sa žiadne ABL. Pozrite Obrázok 6. |
| | | | NEPLATNÝ VÝSLEDOK [neplatný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript]) | ABL Ct je vyššia ako prah akceptovateľnosti. Pozrite Obrázok 7. |
| | | | NEPLATNÝ VÝSLEDOK [príliš vysoký transkript ABL] (INVALID [Too high ABL transcripts]) | ABL Ct je nižší ako prah akceptovateľnosti. |
| | | NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) | NEPLATNÝ VÝSLEDOK [príliš vysoké transkripty BCR-ABL p190 a ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts]) | Hodnoty e1a2 aj ABL Ct sú pod prahovými hodnotami akceptovateľnosti. Pozrite Obrázok 8. |
| ZLYHANIE (FAIL) | PLATNÝ VÝSLEDOK (PASS) alebo ZLYHANIE (FAIL) | POZ. (POS), NEG. (NEG) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) | CHYBA (ERROR) | Kontrola preverenia sondy nespĺnila kritériá prijatia. Pozrite Obrázok 9. |

* Podrobnosti nájdete na karte Výsledky analýzy v softvéri systému GeneXpert Dx

Poznámka

Systémy GeneXpert automaticky vypočítajú výsledky na základe *prahových hodnôt cyklu* (Ct) vygenerovaných testom a parametrov špecifických pre danú šaržu priradených počas výroby. Softvér používa nasledujúci algoritmus, v ktorom sa hodnota ΔCt (Delta Ct) získa z ABL Ct mínus BCR-ABL p190 Ct a účinnosť (E) a škálovací faktor (SF) sú hodnoty špecifické pre jednotlivé šarže:

Percentuálny pomer = účinnosť (ΔCt) x škálovací faktor x 100

Poznámka

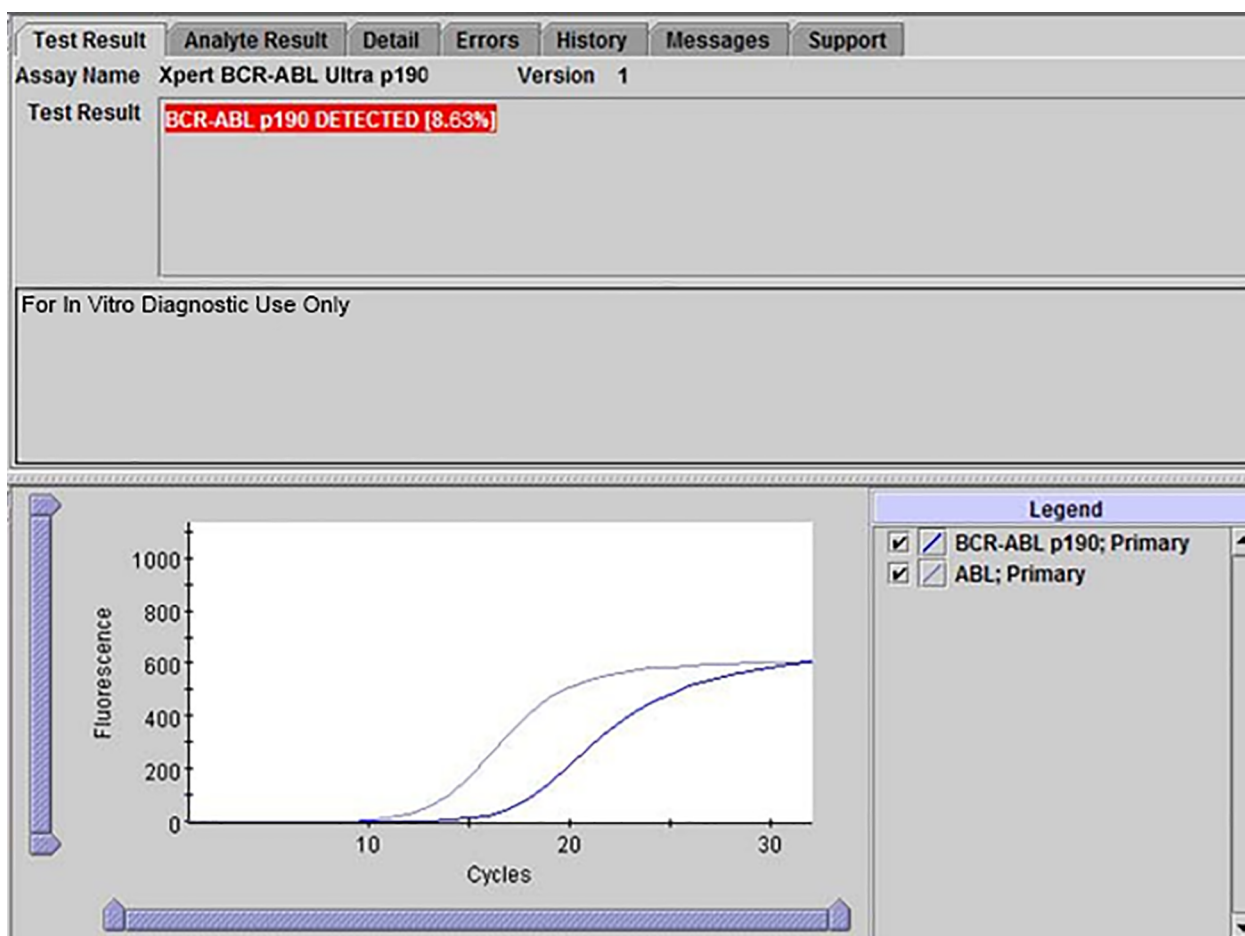
Hodnoty účinnosti a škálovacieho faktora kalibrujú kvantifikáciu transkriptov BCR-ABL1 p190 (e1a2) a ABL1 na počty kópií syntetických primárnych štandardov *in vitro* transkribovanej RNA BCR-ABL p190 a ABL1 (IVT-RNA). Hodnoty účinnosti a škálovacieho faktora sú vložené do každého čiarového kódu zásobníka. Listy údajov so špecifikáciami šarží sú k dispozícii na oddelení technickej podpory spoločnosti Cepheid.

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

V prípade výsledku „**BCR-ABL p190 ZISTENÝ [#,## %]**“ (BCR-ABL p190 DETECTED) [#.##%]) je BCR-ABL p190 detegovateľný s BCR-ABL p190 Ct väčším alebo rovným „8“ a menším alebo rovným hraničnej hodnote „32“ a ABL Ct väčším alebo rovným „8“ a menším alebo rovným „18“.

Príklad: ABL Ct = 11,4; BCR-ABL p190 Ct = 15,6; $\Delta Ct = -4,2$
 $E_{\Delta Ct}$ špecifické pre šaržu = 2,05; $SF = 1,76$
 % pomer = $2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63 \%$

Výsledok: **BCR-ABL p190 ZISTENÉ [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])**. Pozrite Obrázok 2.



Obrázok 2. GeneXpert Dx Zobrazenie okna s výsledkami: BCR-ABL p190 ZISTENÉ [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])

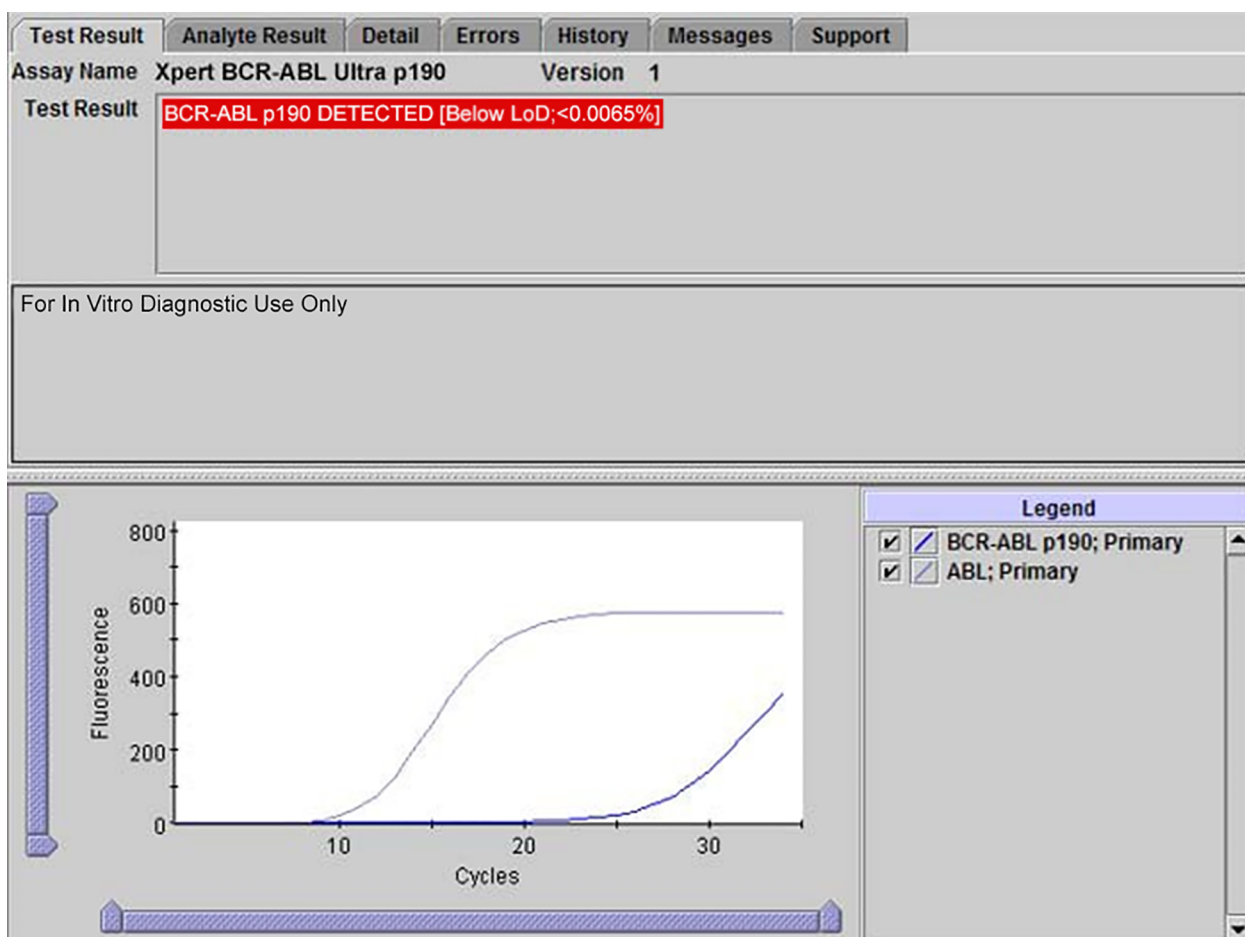
14.2 BCR-ABL p190 ZISTENÉ [pod LoD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

BCR-ABL p190 bol detegovaný na úrovni < 0,0065 %.

V prípade výsledku „**BCR-ABL p190 ZISTENÝ [pod LoQ; < 0,0065 %]**“ (BCR-ABL p190 DETECTED) [Below LoQ; <0.0065%]) je BCR-ABL p190 detegovateľný s BCR-ABL p190 Ct väčším alebo rovným „8“ a menším alebo rovným hraničnej hodnote „32“ a ABL Ct väčším alebo rovným „8“ a menším alebo rovným „18“.

Príklad: ABL Ct = 10,1; BCR-ABL p190 Ct = 24,8; $\Delta Ct = -14,8$
 $E_{\Delta Ct}$ špecifické pre šaržu = 2,05; SF = 1,76
 % pomer = $2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044$ % je menší ako definovaný LoD testu pri 0,0065 %

Výsledok: **BCR-ABL p190 ZISTENÉ [pod LoD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**. Pozrite Obrázok 3.



Obrázok 3. GeneXpert Dx Zobrazenie okna s výsledkami: **BCR-ABL p190 ZISTENÉ [pod LoD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**

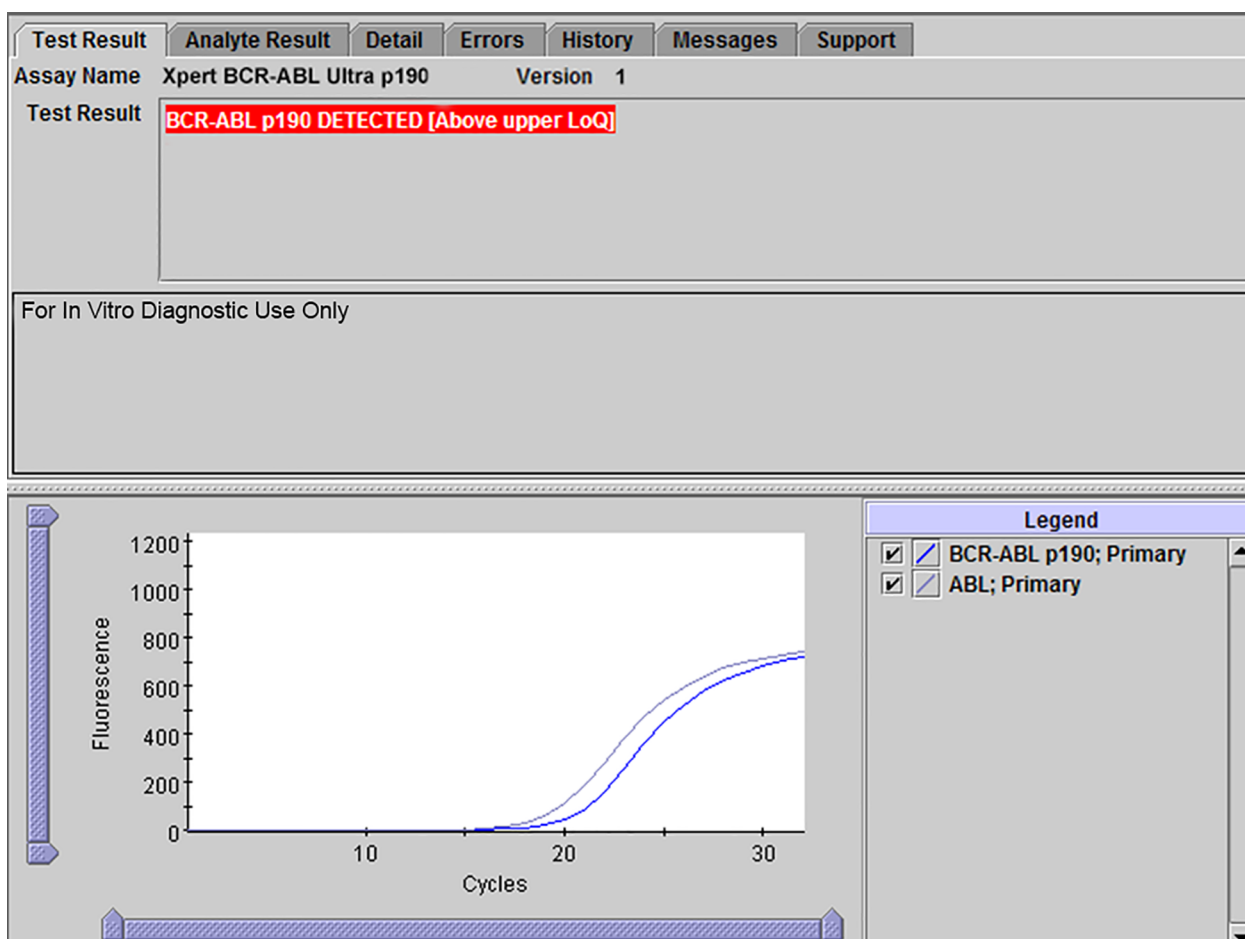
14.3 BCR-ABL p190 ZISTENÝ [nad horným LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED) [Above upper LoQ]

BCR-ABL p190 bol detegovaný na úrovni > 25 %.

V prípade výsledku „**BCR-ABL p190 ZISTENÝ [nad horným LoQ]**“ (BCR-ABL p190 DETECTED) [Above upper LoQ]) je BCR-ABL p190 detegovateľný s BCR-ABL p190 Ct väčším alebo rovným „8“ a menším alebo rovným hraničnej hodnote „32“ a ABL Ct väčším alebo rovným „8“ a menším alebo rovným „18“.

Príklad: ABL Ct = 17,2; BCR-ABL p190 Ct = 18,7; $\Delta Ct = -1,6$
 $E_{\Delta Ct}$ špecifické pre šaržu = 2,05; SF = 1,76
 % pomer = $2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6$ % je väčší ako definovaný horná medzná hodnota testu pri 25 %

Výsledok: **BCR-ABL p190 ZISTENÝ [nad horným LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED) [Above upper LoQ]**. Pozrite Obrázok 4.



Obrázok 4. GeneXpert Dx Zobrazenie okna s výsledkami: BCR-ABL p190 ZISTENÝ [nad horným LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED) [Above upper LoQ]

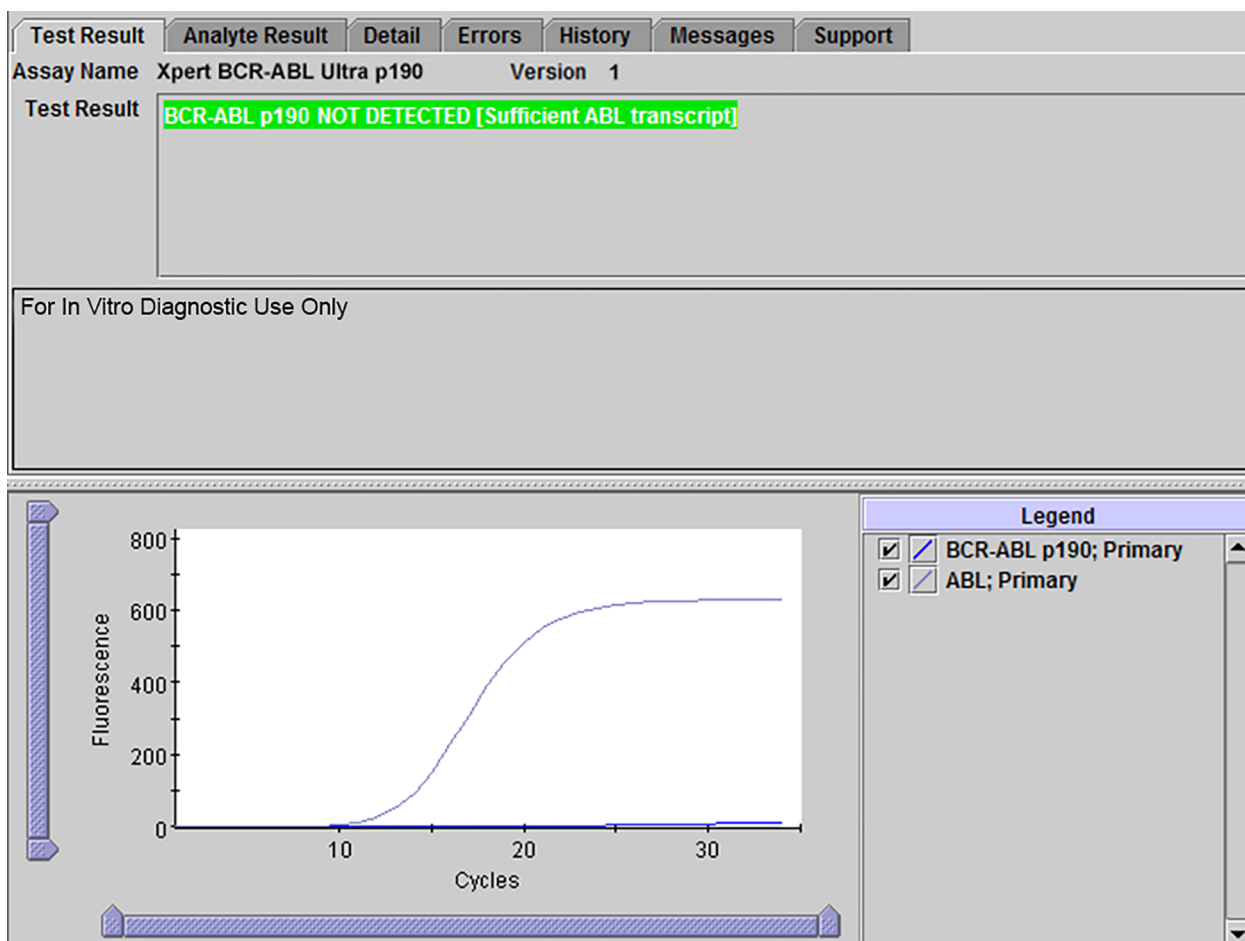
14.4 BCR-ABL p190 NEZISTENÝ [dostatočný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 sa nezistil pri BCR-ABL p190 Ct rovnajúcom sa „0“ alebo väčšom ako hraničná hodnota „32“ a ABL Ct väčšom ako „8“ a menšom alebo rovnom „18“.

Ak je BCR-ABL p190 nedetekovateľný s BCR-ABL p190 Ct rovným „0“ alebo väčším ako hraničná hodnota „32“, softvér GeneXpert najprv vyhľadá ABL Ct, aby potvrdil, či je ABL Ct väčší alebo rovný „8“ a menší alebo rovný „18“, aby sa zabezpečilo, že má „dostatočný transkript ABL“. Pozrite Tabuľka 2.

Príklad: BCR-ABL p190 Ct = 0; ABL Ct = 11,6 je väčší ako „18“.

Výsledok: **BCR-ABL p190 NEZISTENÝ [dostatočný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Pozrite Obrázok 5.



Obrázok 5. GeneXpert Dx Zobrazenie okna s výsledkami: BCR-ABL p190 NEZISTENÝ [dostatočný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

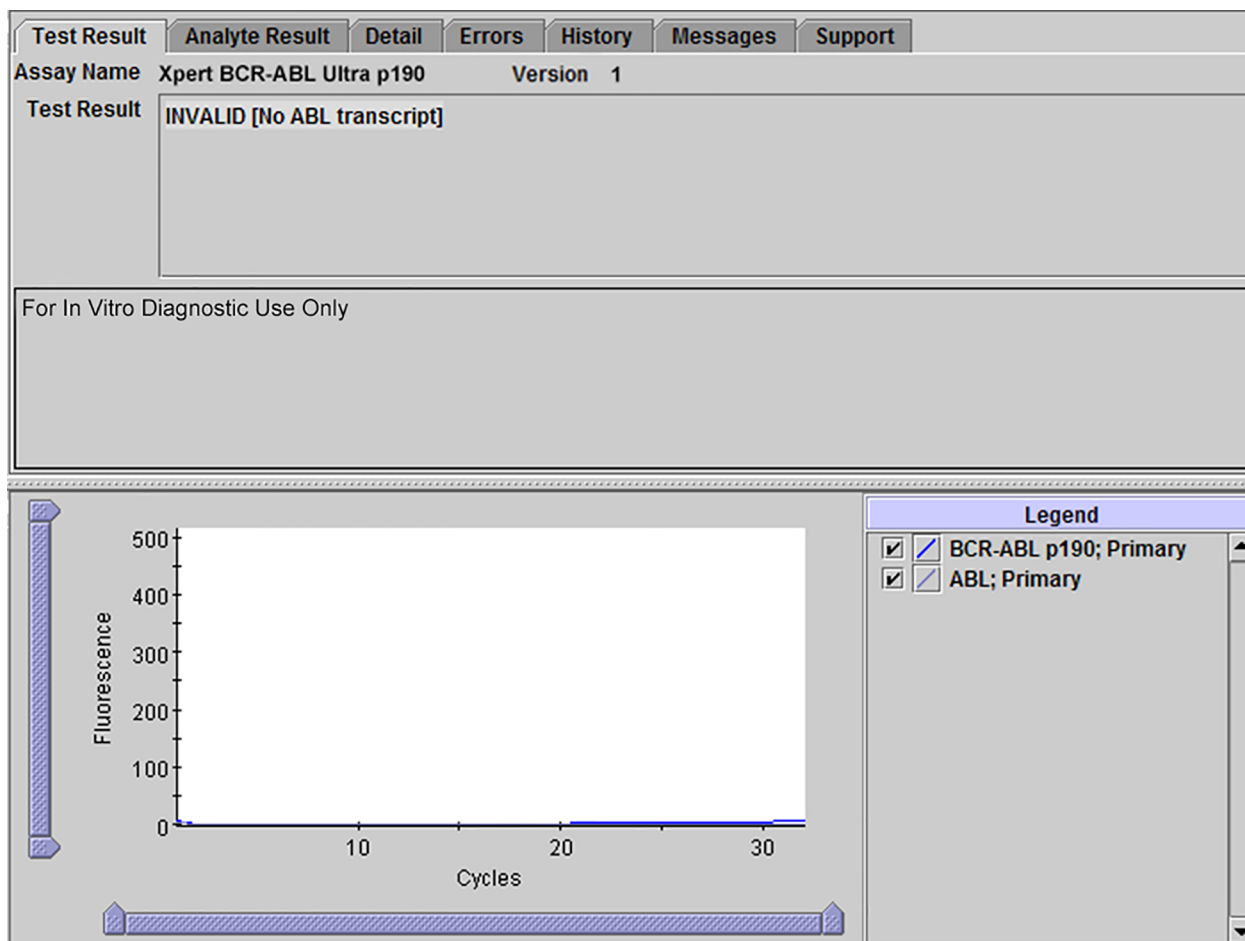
14.5 NEPLATNÝ VÝSLEDOK [žiadny transkript ABL] INVALID [No ABL transcript]

BCR-ABL p190 nebol zistený s ABL Ct rovným „0“.

Keď sa zistí alebo nezistí BCR-ABL p190, softvér GeneXpert najprv vyhľadá ABL Ct, aby sa potvrdilo, či je ABL Ct menší alebo rovný „18!“, aby sa zabezpečilo, že má dostatočný transkript ABL. Pozrite si časť Časť 16, Príručka na riešenie problémov.

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

Výsledok: **NEPLATNÝ VÝSLEDOK [žiadny transkript ABL] INVALID [No ABL transcript]**. Pozrite Obrázok 6.



Obrázok 6. GeneXpert Dx Zobrazenie okna s výsledkami: NEPLATNÝ VÝSLEDOK [žiadny transkript ABL] INVALID [No ABL transcript]

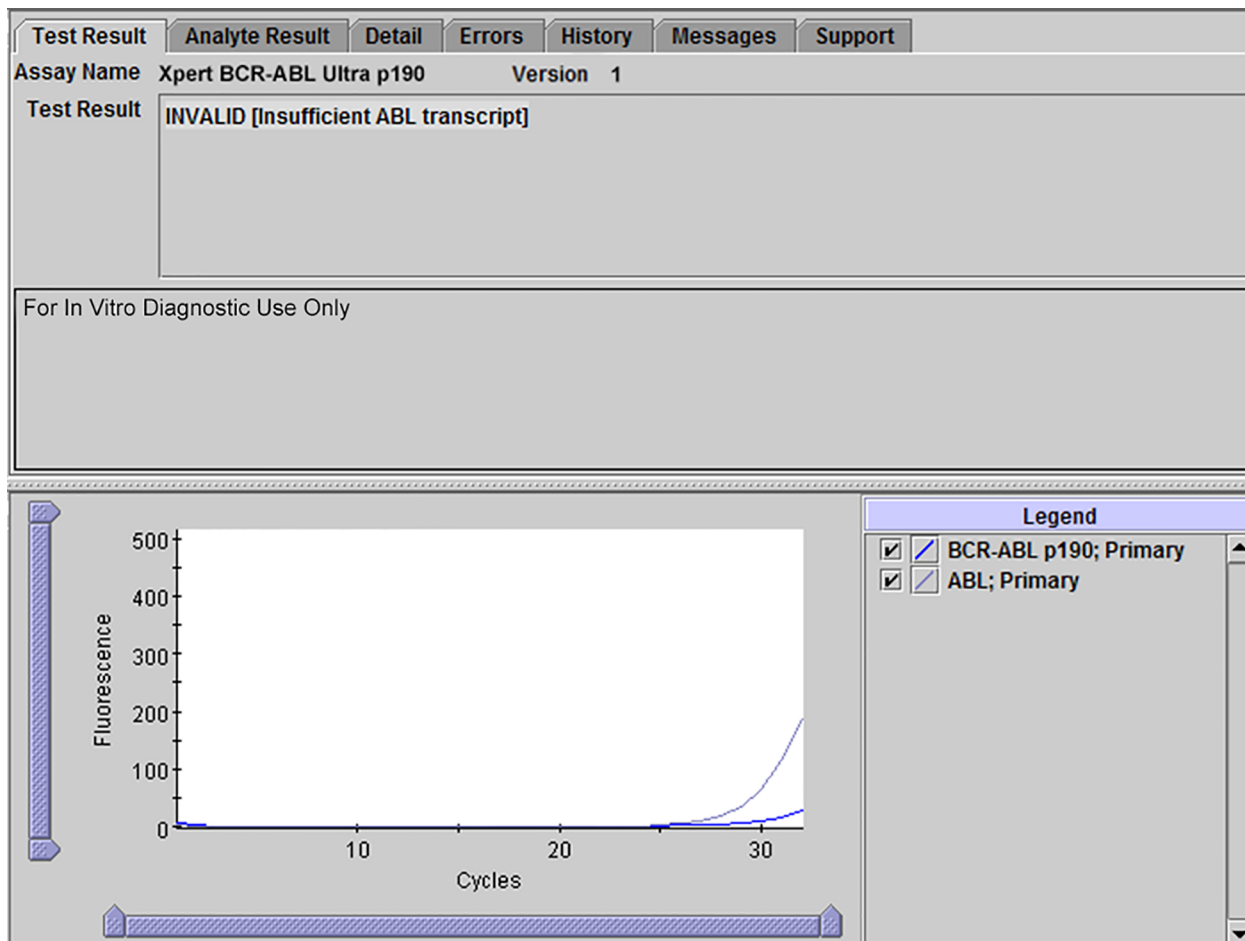
14.6 NEPLATNÝ VÝSLEDOK [neplatný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 nebol zistený s ABL Ct väčším ako „18“.

Keď sa zistí alebo nezistí BCR-ABL p190, softvér GeneXpert najprv vyhľadá ABL Ct, aby sa potvrdilo, či je ABL Ct menší alebo rovný „18!“, aby sa zabezpečilo, že má dostatočný transkript ABL. Pozrite si časť Časť 16, Príručka na riešenie problémov.

Príklad: BCR-ABL p190 Ct = 31,2; ABL Ct = 28 je väčší ako „18“.

Výsledok: **NEPLATNÝ VÝSLEDOK [neplatný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Pozrite Obrázok 7.



Obrázok 7. GeneXpert Dx Zobrazenie okna s výsledkami: NEPLATNÝ VÝSLEDOK [neplatný transkript ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

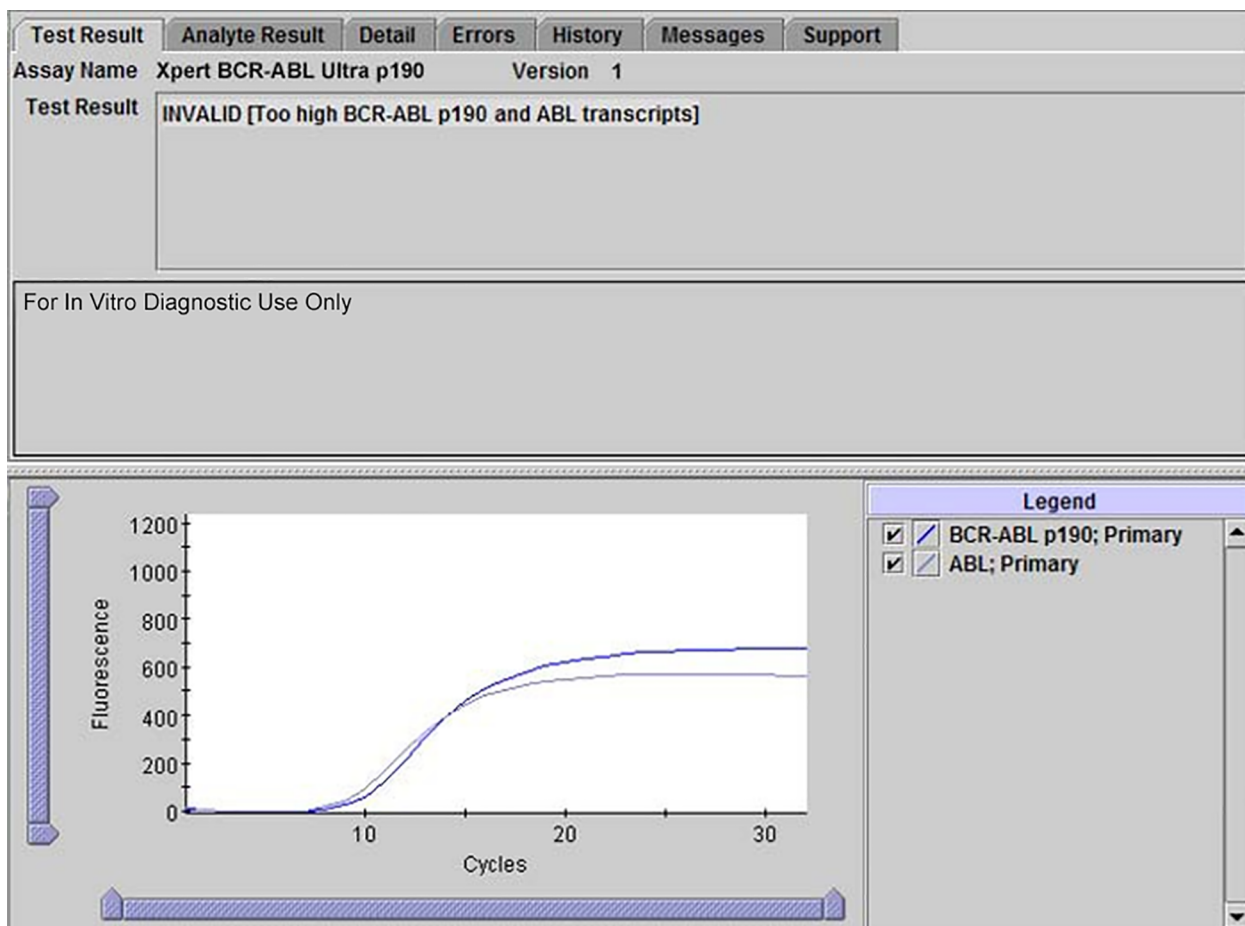
14.7 NEPLATNÝ VÝSLEDOK [príliš vysoké transkripty BCR-ABL p190 a ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

BCR-ABL p190 bol detegovaný s BCR-ABL p190 aj ABL Cts menšími ako „8“.

Keď sa zistí alebo nezistí BCR-ABL p190, softvér GeneXpert najprv vyhľadá ABL Ct, aby sa potvrdilo, či je ABL Ct menší alebo rovný „18!“, aby sa zabezpečilo, že má dostatočný transkript ABL. Pozrite si časť Časť 16, Príručka na riešenie problémov.

Príklad: BCR-ABL p190 Ct = 7,9; ABL Ct = 7,6 je menší ako „8“.

Výsledok: **NEPLATNÝ VÝSLEDOK [príliš vysoké transkripty BCR-ABL p190 a ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts]).** Pozrite Obrázok 8.



Obrázok 8. GeneXpert Dx Zobrazenie okna s výsledkami: NEPLATNÝ VÝSLEDOK [príliš vysoké transkripty BCR-ABL p190 a ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

14.8 CHYBA (ERROR)

The screenshot shows the GeneXpert Dx software interface. At the top, there are tabs for 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Errors', 'History', 'Messages', and 'Support'. The 'Test Result' tab is active. Below the tabs, the 'Assay Name' is 'Xpert BCR-ABL Ultra p190' and the 'Version' is '1'. The 'Test Result' field displays 'ERROR' in yellow text. Below this, there is a section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only'. At the bottom of the interface, there is a large grey area with the text '<No Data Available>'.

Obrázok 9. GeneXpert Dx Zobrazenie okna s výsledkami: CHYBA (ERROR)

15 Obmedzenia

- Výrobok je určený len na diagnostické použitie *in vitro*.
- Test nie je určený na použitie s externými kalibrátormi.
- Test nie je indikovaný na určenie ukončenia liečby TKI ani na monitorovanie po ukončení liečby.
- Výkonnosť testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 sa vyhodnotila iba použitím postupov uvedených v týchto pokynoch na používanie. Úprava týchto postupov môže mať za následok zmenu výkonnosti testu.
- Tento produkt bol validovaný pre krv odobratú do skúmaviek EDTA.
- Ako antikoagulant nepoužívajte heparín, pretože môže inhibovať reakciu PCR.
- Citrát sodný, buffy-coat a vzorky kostnej drene neboli validované.
- Chybné výsledky testu sa môžu vyskytnúť v dôsledku nesprávneho odberu, manipulácie, uskladnenia vzoriek, prípadne zámény vzoriek. Je potrebné prísne dodržiavať pokyny na používanie, aby sa zabránilo chybným výsledkom.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 je určený len na detekciu fúzneho transkriptu p190 BCR-ABL e1a2. Schopnosť detegovať iné fúzne transkripty nebola hodnotená nad rámec tých, ktoré sú opísané v týchto pokynoch na používanie. Testom sa nezisťujú hlavné ani mikro zlomové body, mikrodélácie ani mutácie.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 nie je určený na detekciu e13a2/b2a2 a e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) ani iných menších translokácií, ktoré môžu byť prítomné vo vzorke periférnej krvi pacienta s leukémiou.
- V prípade niektorých vzoriek s veľmi vysokým počtom bielych krviniek (viac ako 30 miliónov buniek/ml), test Xpert BCR-ABL Ultra p190 môže vykazovať **NEPLATNÉ VÝSLEDKY (INVALID)** (typ 2) z dôvodu nadmerných hladín BCR-ABL p190 alebo ABL vo vzorke. Ďalšie informácie si pozrite v časti Tabuľka 2.
- Niektoré vzorky s veľmi nízkymi hladinami transkriptu ABL alebo s počtom bielych krviniek nižším ako 150 000 buniek/ml môžu byť vykazované ako **NEPLATNÉ VÝSLEDKY (INVALID)** (typ 1). Neurčitý výsledok nevyklučuje prítomnosť veľmi nízkych hladín leukemických buniek u pacienta.
- CML p230 transkript s mikro zlomovým bodom e19a2 môže pri testovaní na vysokých cieľových hladinách (> 3,52 log nad LoD) vykazovať pozitívny výsledok BCR-ABL pod úrovňou LoD testu (0,0065 %).

- Mutácie alebo polymorfizmy vo väzbových oblastiach priméru alebo sondy môžu ovplyvniť detekciu nových alebo neznámych variantov a viesť k falošne negatívnemu výsledku.
- Niektorí pacienti s veľmi nízkymi hladinami transkriptu BCR-ABL1 (t. j. pod LoD 0,0065 %) môžu byť vykazovaní ako **BCR-ABL p190 NEZISTENÝ [dostatočný transkript ABL]** (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]). Nezistený výsledok nevylučuje prítomnosť nízkych hladín leukemických buniek u pacienta.
- Test je validovaný na použitie na GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

16 Príručka na riešenie problémov

Tabuľka 2. Príručka na riešenie problémov

| Výsledok testu | Možné príčiny | Návrhy |
|---|---|--|
| NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) | Typ 1: Zlyhanie endogénnej kontroly ABL: <ul style="list-style-type: none"> • Zlá kvalita vzorky • Inhibícia RT-PCR • Ak ABL Ct > 18 a/alebo koncový bod < 200 | <ul style="list-style-type: none"> • Skontrolujte kvalitu vzorky (napr. prekročenie požiadaviek na skladovanie vzorky vrátane času a teploty). • Zopakujte test s pôvodnou vzorkou (ak je k dispozícii) alebo zo zadržaného lyzátu a novej kazety podľa postupu opísaného v časti Časť 17.1, Postup opakovaného testu pre CHYBA (ERROR) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) (typ 1). |
| | Typ 2: Hladina transkriptu BCR-ABL sa nedá určiť, pretože vzorka obsahuje nadbytok transkriptov BCR-ABL p190 a/alebo ABL (Ct < 8) | Zopakujte test s pôvodnou vzorkou (ak je k dispozícii) alebo zo zadržaného lyzátu a novej kazety podľa postupu opísaného v časti Časť 17.2, Postup opakovaného testu pre CHYBA (ERROR) (kód 2008) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) (typ 2). |
| CHYBA (ERROR) (kód 2008) | Tlak prekračuje limit (chybové hlásenie 2008) | <ul style="list-style-type: none"> • Kontrola kvality vzorky • Kontrola výrazne zvýšeného počtu WBC • Zopakujte test s pôvodnou vzorkou (ak je k dispozícii) alebo zo zadržaného lyzátu a novej kazety podľa postupu opísaného v časti Časť 17.2, Postup opakovaného testu pre CHYBA (ERROR) (kód 2008) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) (typ 2). |
| CHYBA (ERROR) (kód 5006, 5007, 5008 a 5009) ^a | Zlyhanie kontroly sondy | Zopakujte test s pôvodnou vzorkou (ak je k dispozícii) alebo zo zadržaného lyzátu a s novým zásobníkom podľa postupu opísaného v časti Časť 17.1, Postup opakovaného testu pre CHYBA (ERROR) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) (typ 1). |
| ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT) | Zlyhanie zberu údajov. Operátor napríklad pozastavil test, ktorý prebiehal, alebo došlo k výpadku napájania. | Zopakujte test s pôvodnou vzorkou (ak je k dispozícii) alebo zo zadržaného lyzátu a s novým zásobníkom podľa postupu opísaného v časti Časť 17.1, Postup opakovaného testu pre CHYBA (ERROR) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) (typ 1). |

^a Toto nie je úplný zoznam kódov CHYBA (ERROR).

17 Opakovanie testov

17.1 Postup opakovaného testovania pre CHYBA (ERROR) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) (typ 1)

Opätovné testovanie vzoriek s výsledkami **CHYBA (ERROR)** alebo **NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID)** z dôvodu, že prah cyklu ABL (Ct) prekračuje maximálnu platnú hranicu Ct ($Ct > 18$) alebo koncový bod je nižší ako nastavený prah (< 200). Pozrite si tiež Tabuľka 2.

1. Zmerajte objem vzorky krvi:

- Ak je k dispozícii *dostatočný* objem vzorky krvi, vykonajte opakovaný test z pôvodnej skúmavky na odber vzorky krvi podľa postupu uvedeného v Časť 11.2.1.

–ALEBO–

- Ak je objem vzorky krvi *nedostatočný*, môže sa vykonať opakovaný test so zadržaným lyzátom z kroku 12 Časť 11.2.1.
 - a. Ak sa zadržaný lyzát z kroku 12 Časť 11.2.1 skladuje zmrazený, pred použitím ho rozmrazte na izbovú teplotu.
 - b. Uistite sa, že je lyzát dobre premiešaný miešaním vzorky vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení nepretržite počas 10 sekúnd a odložte ho na 3 minúty, aby sa usadili bubliny. Prejdite na krok 2.

2. Preneste 1 ml zadržaného lyzátu do novej 50 ml kónickej skúmavky.

3. Do novej kónickej skúmavky obsahujúcej lyzát pridajte 1,5 ml činidla na lýzu (LY).

4. Na vytvorenie konečného lyzátu postupujte podľa krokov 14 až 17 v Časť 11.2.1.

5. Otvorte zásobník zdvihnutím veka zásobníka a preneste celý obsah ampulky s premývacím činidlom (1) do komory s premývacím činidlom (s malým otvorom). Pozrite Obrázok 1.

6. Pipetujte celý obsah pripravenej vzorky do komory na vzorky (veľký otvor). Pozrite si Obrázok 1.

7. Zatvorte kryt zásobníka. Spustite test (pozrite si Časť 11.4).

17.2 Postup opakovaného testovania pre CHYBA (ERROR) (kód 2008) alebo NEPLATNÝ VÝSLEDOK (INVALID) (typ 2)

Opätovne testujte vzorky s hladinami transkriptu BCR-ABL a/alebo ABL pod platnou minimálnou hraničnou hodnotou Ct ($Ct < 8$) a/alebo pri prekročení limitu tlaku. Pozrite si tiež Tabuľka 2.

1. Na dno novej 50 ml kónickej skúmavky pridajte 100 μ l PK (proteínáza K).

2. Zmerajte objem vzorky krvi:

- Ak je k dispozícii *dostatočný* objem vzorky krvi, vykonajte opakovaný test z pôvodnej skúmavky na odber vzorky krvi. Bezprostredne pred pipetovaním sa uistite, že je vzorka krvi dobre premiešaná 8-krát prevrátením skúmavky na odber krvi. Prejdite na krok 3.

–ALEBO–

- Ak je objem vzorky krvi *nedostatočný*, môže sa vykonať opakovaný test so zadržaným lyzátom z kroku 12 Časť 11.2.1.
 - a. Ak sa zadržaný lyzát z kroku 12 Časť 11.2.1 skladuje zmrazený, pred použitím ho rozmrazte na izbovú teplotu. Ak sa používa chladený lyzát, pred použitím ho nechajte vyrovnat' na izbovú teplotu.
 - b. Uistite sa, že je lyzát dobre premiešaný miešaním vzorky vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení nepretržite počas 10 sekúnd a odložte ho na 3 minúty, aby sa usadili bubliny. Prejdite na krok 3.

3. Do skúmavky, ktorá už obsahuje proteínázu K, pridajte 50 μ l pôvodnej vzorky krvi, ak je k dispozícii, alebo 80 μ l zadržaného lyzátu z kroku 12 Časť 11.2.1.

4. Vzorku nepretržite miešajte vírivým miešadlom pri maximálnom nastavení počas 3 sekúnd.

5. Inkubujte pri izbovej teplote 1 minútu.

6. Na vytvorenie konečného lyzátu postupujte podľa krokov 6 až 13 v Časť 11.2.2.

7. Otvorte zásobník zdvihnutím veka zásobníka a preneste celý obsah ampulky s premývacím činidlom (1) do komory s premývacím činidlom (s malým otvorom). Pozrite Obrázok 1.

8. Pipetujte celý obsah pripravenej vzorky do komory na vzorky (veľký otvor). Pozrite Obrázok 1.

9. Zatvorte kryt zásobníka. Spustite test (pozrite si Časť 11.4).

18 Očakávané hodnoty

Rozsah Xpert BCR-ABL Ultra p190 zahŕňa kľúčové body klinického rozhodovania pri monitorovaní CML a ALL. Očakávané hodnoty sú vyjadrené ako percentuálny pomer mRNA BCR-ABL p190 (e1a2) k mRNA ABL a pohybujú sa od 0,0065 % do 25 %. Merania pod týmto rozsahom sa uvádzajú ako nezistené alebo pod hranicou detekcie (LoD). Merania nad týmto rozsahom sa uvádzajú ako merania nad hranicou stanovenia (LoQ). Podrobnosti nájdete v časti Časť 14.

19 Klinická výkonnosť

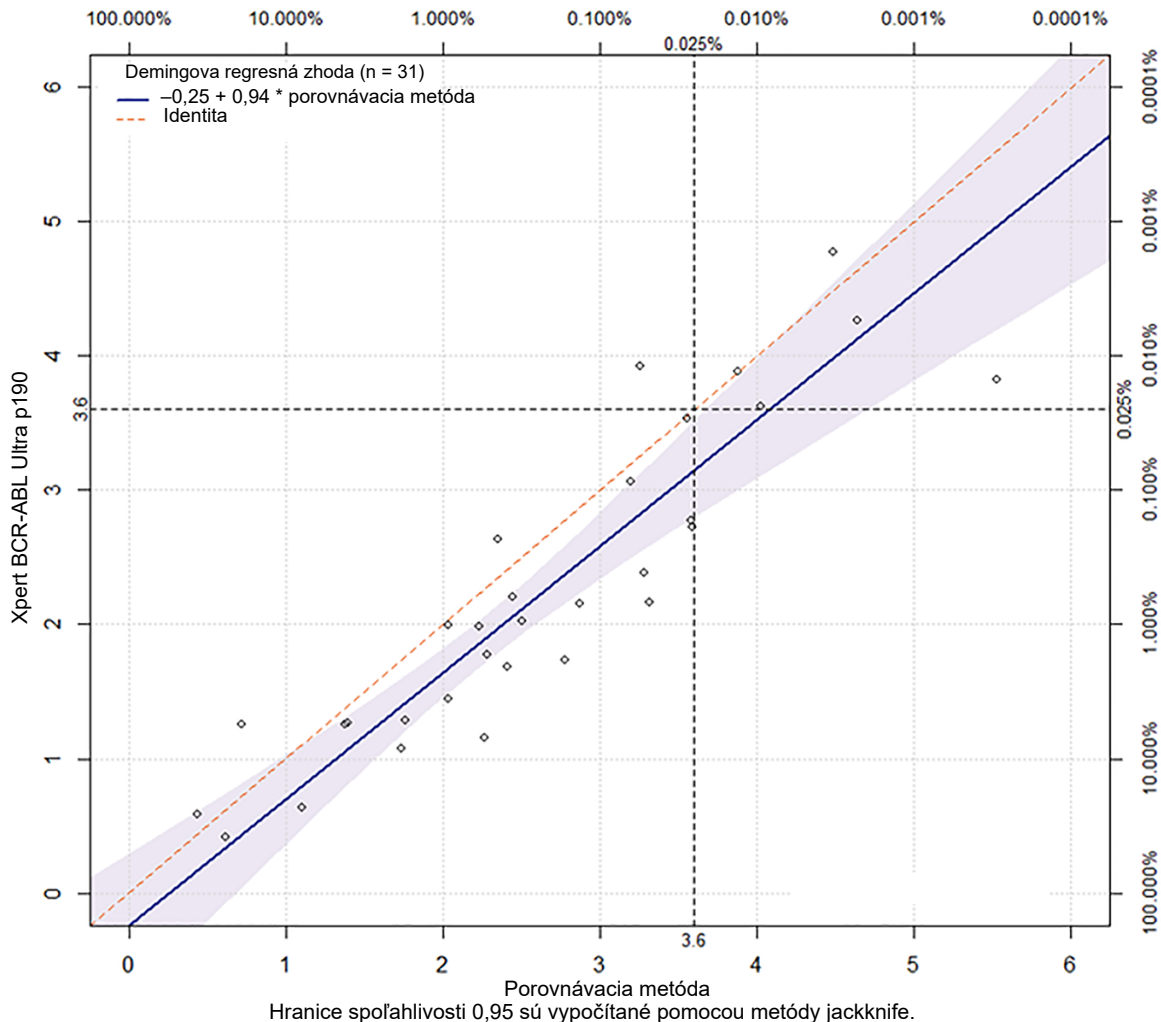
Klinický výkon testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 sa hodnotil v troch inštitúciách v USA v rámci klinickej štúdie na viacerých miestach. Štúdia sa uskutočnila na základe prospektívne odobratých vzoriek periférnej krvi (PB) EDTA od pacientov s akútnou lymfoblastickou leukémiou (ALL) a chronickou myeloidnou leukémiou (CML) počas monitorovania liečby. Okrem toho štúdia zahŕňala zvyšné vzorky uložené ako zmrazené klinické lyzáty, ktoré boli pripravené z EDTA PB od tej istej populácie pacientov. Výkonnosť testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 sa porovnávala s molekulárnym testom, ktorý deteguje a kvantifikuje transkripty mRNA pre p190 [t(9;22)(q34;q11)] pozitívnych pacientov s CML a ALL exprimujúcich fúzny transkript BCR-ABL1 typu e1a2 a používa ABL ako endogénny kontrolný transkript mRNA.

Do tejto štúdie bolo zaradených celkovo 47 vzoriek. Z týchto 47 vzoriek malo 9 vzoriek výťažnosť RNA < 100 ng/ml a boli vylúčené z analýz. Celkovo bolo vylúčených 9 vzoriek, takže do konečného súboru údajov bolo zaradených 38 vzoriek. Je dôležité poznamenať, že všetkých 9 vylúčených vzoriek poskytlo platné výsledky testu Xpert BCR-ABL Ultra p190.

Pri 38 vzorkách zaradených do tejto štúdie sa zisťoval vek a pohlavie. Vzorky boli odobraté 25 mužom (65,8 %) a 13 ženám (34,2 %). Všetky vzorky boli od pacientov vo veku od 20 do 88 rokov s priemerom 54,5 roka. Dvadsaťtri (61 %) vzoriek bolo odobratých od pacientov s diagnózou ALL a 15 (39 %) vzoriek bolo odobratých od pacientov s diagnózou CML.

Z 38 vhodných vzoriek bolo sedem (7) vzoriek vylúčených z Demingovej regresie, pretože boli negatívne aspoň pre jeden z testov. Do Demingovej regresnej analýzy bolo zahrnutých 31 vzoriek v rámci kvantitatívnych rozsahov oboch testov.

Demingova regresná analýza výsledkov percentuálneho pomeru (PR) ukazuje dobrú koreláciu medzi meraniami testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 a porovnávacíj metódy z hľadiska merania PR. Priesečník bol 0,01 a sklon 1,08; obidve hodnoty spĺňali kritériá prijateľnosti. Pearsonovo r bolo 0,814. Na normalizáciu rozdelenia údajov PR sa vykonala logaritmická redukcia (LR). Bola vykonaná Demingova regresná analýza s použitím LR meraní, ktorá je uvedená v Obrázok 10 nižšie.



Obrázok 10. Demingova regresia pre LR

Test Obrázok 10 vykazuje vysokú koreláciu medzi testami Xpert BCR-ABL Ultra p190 a porovnávacími metódami pre merania LR. Demingova regresia má sklon 0,94 a intercept $-0,25$. Výsledky Demingovej regresie pre hodnoty LR tiež spĺňali kritériá prijateľnosti pre priesečník a sklon. Celková korelácia (Pearsonova) $r = 0,904$ bola vysoká.

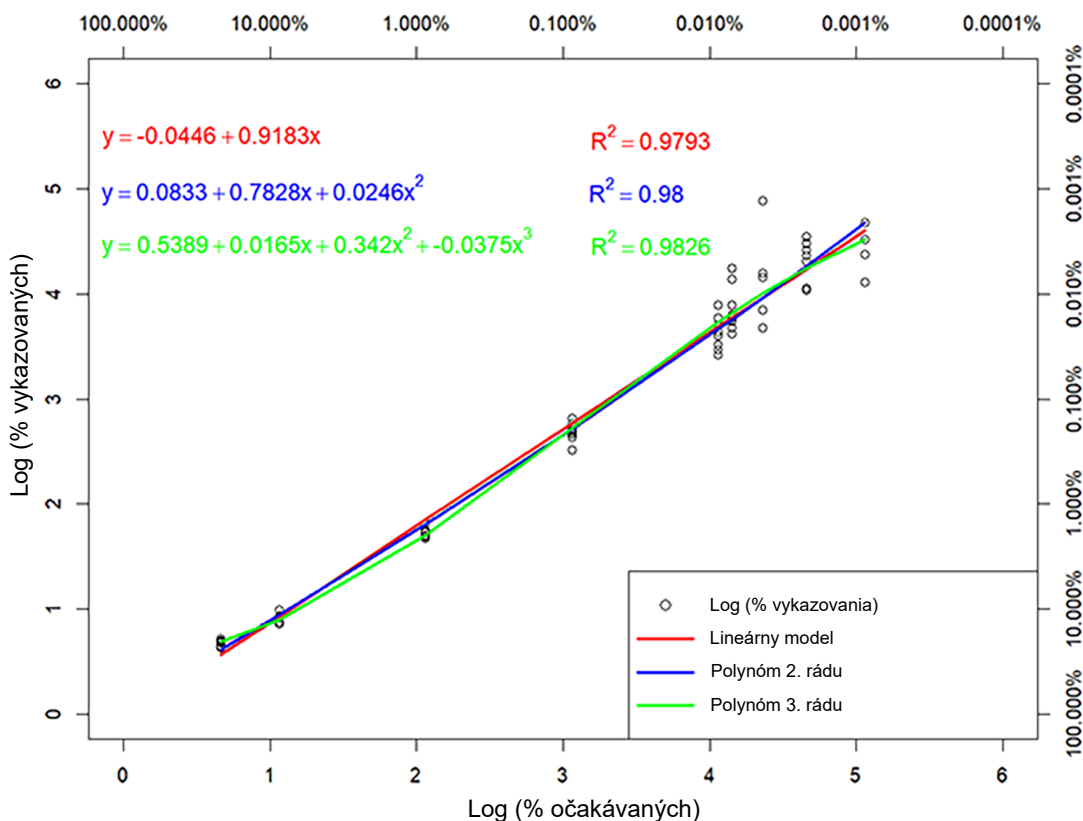
Pozitívna predpovedaná odchýlka 0,01 v percentuálnom hlásení (LR: $-0,39$), ako aj rozdelenie naznačujú, že pri väčšine vzoriek test Xpert meria vyššiu koncentráciu transkriptu p190 v porovnaní s komparátorom. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 preukázal vysokú koreláciu 0,904 s komparátorom a mal nízku odchýlku pri použití LR meraní. Miera neurčitosti zistená v tejto štúdii bola 0 % a boli splnené aj kritériá akceptovateľnosti neurčitosti ≤ 5 %. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 preukázal prijateľnú zhodu s komparátorom, čo dokazuje sklon a priesečník v Demingovej regresnej analýze.

20 Analytická výkonnosť

20.1 Linearita/dynamický rozsah

Linearita sa hodnotila pre menší bod zlomu e1a2 s použitím celkovej RNA z bunkovej línie ALL SUP-B15. Celková RNA z transkriptu BCR-ABL p190 bola zriedená v základnom lyzáte pripravenom z ALL-negatívnej klinickej vzorky na cieľové rozmedzie ~ 25 % až 0,001 % (LR [log zníženia] 0,60 až LR5). Členovia panelu, vrátane negatívnej úrovne, boli testovaní na dvoch šaržach testovacích súprav v replikátoch po 4 na šaržu súpravy.

Testovanie a štatistické analýzy sa vykonali v súlade s CLSI EP06-A. Lineárne regresné analýzy sa vykonali pre polynómy prvého, druhého a tretieho rádu. Výsledok pre zlomový bod e1a2 sa považoval za lineárny, ak polynomicke regresné koeficienty neboli významné (p-hodnoty > 0,05). Lineárna regresná krivka je znázornená nižšie v Obrázok 11.



Obrázok 11. Lineárne regresné krivky pre transkript zlomového bodu e1a2

Odhadnuté regresné intercepty, sklony a hodnoty R2 z lineárneho modelu sú uvedené v Tabuľka 3.

Tabuľka 3. Regresné koeficienty z lineárneho modelu

| Zlomový bod | Priešecník | Sklon | R ² |
|-------------|------------|--------|----------------|
| e1a2 | -0,0561 | 0,9248 | 0,9811 |

Súhrnne údaje potvrdzujú pozorovanie linearitu od ~ 25 %/LR 0,60 do 0,001 %/LR5 s maximálnou SD 0,26. Hlásený rozsah siaha od limitov linearitu 25 %/LR0,6 po LOQ 0,0065 %/LR4,19.

20.2 Analytická citlivosť (limit detekcie, limit kvantifikácie, limit slepého pokusu)

Limit detekcie (LoD) sa odhadol pre zlomový bod e1a2 testovaním sériových riedení ALL pozitívnych klinických vzoriek [> 10 %]. Údaje z rôznych riedení sa zhromaždili a LoD sa odhadla pomocou probitovej regresnej analýzy. Výsledná analýza poskytla odhadovanú LoD 0,0070 % pre zlomový bod e1a2.

LoD bola overená prispôbením neparametrickej metódy opisanej v dokumente usmernení CLSI, EP17-A2 (Tabuľka 4). Tri jedinečné ALL pozitívne vzorky reprezentujúce zlomový bod e1a2 boli zriedené na cieľovú úroveň 0,0065 %. Dvestopätásť replikátov testovali štyria operátori v troch sériách testovacích súprav počas troch dní.

Tabuľka 4. Overený limit detekcie v %

| Zlomový bod | Pozitívne/Replikáty | % pozitívnych | Priemerný % pomer |
|-------------|---------------------|---------------|-------------------|
| e1a2 | 206/215 | 96,0 % | 0,0065 % |

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

Limit kvantifikácie (LoQ) sa odhadol na základe údajov získaných zo štúdií LoD a linearity. Priemer a smerodajná odchýlka pre hodnoty % BCR-ABL p190/ABL boli vypočítané pre replikáty na úrovniach rovnajúcich sa LoD alebo vyšších s pozitívitou väčšou alebo rovnou 95 %. LoQ sa uvádza ako minimálne % hlásení BCR-ABL p190/ABL, ktoré možno spoľahlivo kvantifikovať a ktoré spĺňajú cieľ presnosti detekcie transkriptu e1a2 s pozitívitou väčšou alebo rovnou 95 %, so smerodajnou odchýlkou redukcie logaritmu (LR) $\leq 0,36$ LR. LoQ testu je obmedzená hodnotou LoD testu, preto bola stanovená hodnota LoQ rovná hodnote LoD, teda 0,0065 %. Výsledky sa vyhodnotili aj na základe kritérií prijateľnosti pre smerodajnú odchýlku (SD) $\leq 0,36$ LR a boli v rámci kritérií prijateľnosti.

Štúdia limitu prázdneho pokusu (LoB) sa vykonala s cieľom odhadnúť najvyšší % pomer BCR-ABL p190/ABL, ktorý sa pravdepodobne zistí v ≥ 95 % p190-negatívnych vzoriek celej krvi EDTA. Testovacia LoB bola určená z 387 platných dátových bodov v necenzurovanej neparametrickej analýze, ako je opísané v CLSI EP17-A2, na odhad LoB 0,00032 % BCR-ABL p190/ABL.

20.3 Analytická špecifickosť

Analytická špecifickosť testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 sa hodnotila z hľadiska exkluzivity testovaním vzoriek plnej krvi EDTA od dvadsiatich (20) zdravých darcov (iné ako CML a ALL). Každá vzorka sa testovala v štyroch opakovaniach.

Signál BCR-ABL p190 sa zistil v jednom z 80 opakovaní, čo dokazuje, že test Xpert BCR-ABL Ultra p190 má analytickú špecifickosť pre transkript BCR-ABL p190 98,8 %.

20.4 Prenesená kontaminácia

Vykonala sa štúdia s cieľom preukázať, že jednorazové autonómne zásobníky GeneXpert zabraňujú prenosu kontaminácie zo zásobníkov prevádzkovaných postupne v tom istom module. Aby sa to preukázalo, po veľmi pozitívnych vzorkách sa v tom istom module GeneXpert spustili negatívne vzorky. Táto štúdia pozostávala zo spracovania **NEGATÍVNEJ** normálnej vzorky EDTA (ALL-negatívna krv) v tom istom module GeneXpert bezprostredne po vysoko **POZITÍVNEJ** vzorke (simulovaná ALL-pozitívna krv) s bunkami SUP-B15 primiešanými do ALL-negatívnej krvi s cieľom získať ≥ 10 %. Testovacia schéma sa opakovala 10-krát pre každú vzorku, začínajúc a končiac negatívnym výsledkom, na dvoch moduloch GeneXpert, čo viedlo k 21 negatívnym a 20 pozitívnym výsledkom na modul. Všetkých dvadsať BCR- ABL p190 pozitívnych vzoriek bolo správne nahlásených ako **BCR-ABL p190 NEZISTENÉ [#,#%] BCR-ABL p190 DETECTED [#,##%]**, zatiaľ čo všetkých dvadsaťjeden BCR-ABL p190 negatívnych vzoriek bolo správne nahlásených ako **BCR-ABL p190 NEZISTENÉ [dostatočný transkript ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

20.5 Potenciálne interferujúce látky

V tejto štúdií sa hodnotilo päť látok, ktoré môžu byť prítomné vo vzorkách celej krvi EDTA a ktoré môžu interferovať s vykonávaním testu Xpert BCR-ABL Ultra p190. Testované zlúčeniny a hladiny (pozrite si Tabuľka 5) boli založené na pokynoch z dokumentu CLSI EP07-A2. Interferenty sa testovali na pozadí vzoriek plnej krvi ALL EDTA, vytvorených s bunkami ALL SUP-B15, ktoré predstavovali tri úrovne s piatimi vzorkami na každej úrovni: > 1 %, 0,1 – 0,02 % a negatívne. Testovacie kontroly pozostávali z buniek SUP-B15 v celej krvi EDTA na príslušnej úrovni transkriptu BCR-ABL p190 bez interferujúcej látky. Každá vzorka ALL sa testovala v neprítomnosti a prítomnosti piatich jednotlivých interferentov v 4 opakovaniach pre každú podmienku.

Látka sa považovala za neinterferujúcu, ak v jej prítomnosti bol priemerný pozorovaný % pomer v rámci 3-násobného rozdielu v porovnaní s kontrolou.

Pri žiadnej z interferujúcich látok hodnotených v tejto štúdií neboli pozorované klinicky významné inhibičné účinky na test Xpert BCR-ABL Ultra p190. Hoci sa v niektorých testovaných podmienkach pozorovala určitá variabilita a štatisticky významné rozdiely (p -hodnota < 0,05), uvádzané % pomery pre testované a kontrolné podmienky boli v prijateľnom 3-násobnom rozmedzí.

Tabuľka 5. Testované potenciálne interferujúce substancie s použitím Xpert BCR-ABL Ultra p190

| Interferujúce látky | Testovaná koncentrácia |
|--------------------------------|------------------------|
| Nekonjugovaný bilirubín | 20 mg/dl |
| Cholesterol, celkový | 500 mg/dl |
| Triglyceridy, celkové (lipidy) | 3 000 mg/dl |
| Heparín | 3 500 U/l |
| EDTA (krátky odber) | 900 mg/dl |

21 Presnosť a reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť a presnosť testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 sa hodnotila v štúdií na viacerých miestach v súlade s dokumentom CLSI EP05-A3, „Hodnotenie presnosti výkonu kvantitatívnych meracích metód; schválené usmernenie“ a dokumentom CLSI EP15- A3, „Overenie výkonu používateľom pre presnosť a správnosť, schválené usmernenie“.

Test Tabuľka 6 zobrazuje panel piatich vzoriek, ktoré boli pripravené a zahrnuté do tejto štúdie.

Tabuľka 6. Panel reprodukovateľnosti pre Xpert BCR-ABL Ultra p190

| Číslo vzorky | Opis panela | Detegovaná úroveň BCR-ABL p190/ABL (percentuálny pomer) |
|--------------|-------------|---|
| 1 | LR1: e1a2 | ~10 % |
| 2 | LR2: e1a2 | ~1 % |
| 3 | LR3: e1a2 | ~0,1 % |
| 4 | LR3.7: e1a2 | ~0,02 % |
| 5 | Negatívne | Nedetegované |

Každý z piatich členov panela bol testovaný duplicitne dvakrát denne počas šiestich rôznych dní dvoma rôznymi operátormi na troch rôznych miestach. Použili sa tri série súprav Xpert BCR-ABL Ultra p190 a každý operátor vykonal testovanie s jednou sériou (3 pracoviská x 2 operátori x 3 série x 2 dni (2 dni testovania na jednu sériu kaziet) x 2 série x 2 opakovania = 144 opakovaní/člen panela).

Tabuľka 7. Smerodajná odchýlka a variačný koeficient (Vk) s percentuálnym pomerom (pp)

| Členovia panelu | N | Priemer | Pracovisko | | Op | | Šarža | | Deň | | Cyklus | | V rámci testu | | Celkovo | |
|------------------------------|------------------|---------|------------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|---------------|--------|-----------|--------|
| | | | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) |
| LR1: e1a2 (~ 10 % pomer) | 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 % pomer) | 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 % pomer) | 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 % pomer) | 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 V prípade jednej vzorky bol výsledok testu aj opakovaného testu neurčitý.

Celkový variačný koeficient (Vk%) percentuálneho pomeru vykazujúceho kvantitatívne hodnoty sa pohyboval od 25,53 do 77,30 pre pozitívne vzorky. Zložka rozptylu pre hodnoty hlásenia pp nepresiahla 50 % celkového rozptylu testu pre tieto faktory: Medzi jednotlivými pracoviskami, medzi jednotlivými prevádzkovateľmi, medzi jednotlivými dňami a medzi jednotlivými cyklami. Analýza rozptylu nad kvantitatívnou hodnotou priemeru pp poskytla podobné výsledky.

Tabuľka 8. Smerodajná odchýlka a variačný koeficient (CV) logaritmickej redukcie (LR)

| Členovia panelu | N | Priemer | Pracovisko | | Op | | Šarža | | Deň | | Cyklus | | V rámci testu | | Celkovo | |
|-------------------------------|------------------|---------|------------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|---------------|--------|-----------|--------|
| | | | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) | Šm. odch. | Vk (%) |
| LR1: e1a2 (~ 10 % pomer) | 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 % pomer) | 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 % pomer) | 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 % pomer) | 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 V prípade jednej vzorky bol výsledok testu aj opakovaného testu neurčitý.

Celkový variačný koeficient (Vk) percentuálneho pomeru LR vykazujúceho kvantitatívne hodnoty sa pohyboval od 26,17 do 88,68 pre pozitívne vzorky.

22 Literatúra

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 (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
11. Health-care Waste. Svetová zdravotnícka organizácia (WHO). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) Č. 1272/2008 z 16. decembra 2008 o klasifikácii, označovaní a balení látok a zmesí, o zmene, doplnení a zrušení, Zoznam bezpečnostných upozornení, smerníc 67/548/EHS a 1999/45/ES (a o zmene a doplnení nariadenia (ES) č. 1907/2006).
13. Normy bezpečnosti a ochrany zdravia pri práci, komunikácia o nebezpečenstvách, toxických a nebezpečných látkach (26. marca 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

23 Umiestnenia ústredí spoločnosti Cepheid

Ústredia spoločnosti

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Európske ústredie

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

24 Technická podpora

Pred kontaktovaním technickej podpory spoločnosti Cepheid majte nasledovné:

- Názov produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo prístroja
- Chybové hlásenia (ak nejaké sú)
- Verziu softvéru a prípadne číslo servisnej značky počítača

Spojené štáty americké




















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

Francúzsko

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

Kontaktné údaje všetkých pobočiek technickej podpory spoločnosti Cepheid sú k dispozícii na našej webovej stránke:
www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

25 Tabuľka symbolov

| Symbol | Význam |
|---|--|
|  | Katalógové číslo |
|  | Označenie CE – značka Európskej zhody |
|  | <i>In vitro</i> diagnostické zdravotnícke zariadenie |
|  | Kód šarže |
|  | Nepoužívajte opakovane |
|  | Dátum expirácie |
|  | Varovanie |
|  | Pozrite si návod na použitie |
|  | Výrobca |
|  | Krajina výroby |
|  | Obsah postačuje na vykonanie n testov |
|  | Kontrola |
|  | Teplotné obmedzenie |
|  | Biologické riziká |
|  | Horľavé tekutiny |
|  | Reprodukčná a orgánová toxicita |
|  | Autorizovaný zástupca pre Európske spoločenstvo |
|  | Autorizovaný zástupca vo Švajčiarsku |
|  | Dovozca |



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefón: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefón: + 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 História revízií

Opis zmeny: 302-6673, Rev. B až Rev. C

Cieľ: Aktualizácie návodu na použitie

| Časť | Opis zmeny |
|--------|--|
| 8.3 | Pridané varovanie, aby sa kazety neotvárali ani neupravovali na účely likvidácie. |
| 11.2.1 | Aktualizovaná poznámka týkajúca sa zvyšného lyzátu. |
| 17 | Aktualizované pokyny k opakovanému testu a opravené odkazy na časti. |
| 19 | Aktualizované označenia diagramov na obrázku 10. |
| 21 | Aktualizovaný obsah Reprodukovateľnosť a presnosť. |
| 25 | Do tabuľky symbolov boli pridané symboly CH REP a Dovožca a ich definície. Pridané informácie o CH REP a dovozcovi s adresou vo Švajčiarsku. |
| 26 | Aktualizovaná tabuľka História revízií. |