

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

REF GXBCRABLP190-CE-10

Navodila za uporabo

IVD

Blagovna znamka, patenti in izjave o avtorskih pravicah

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[®], logotip Cepheid, GeneXpert[®] in Xpert[®] so blagovne znamke družbe Cepheid, registrirane v ZDA in drugih državah.

Vse druge blagovne znamke so v lasti njihovih lastnikov.

NAKUP TEGA IZDELKA NA KUPCA PRENESE NEPRENOSLJIVO PRAVICO DO NJEGOVE UPORABE V SKLADU S TEMI NAVODILI ZA UPORABO. NA KUPCA SE NE PRENESE IZRECNO, IMPLICITNO ALI S PREKLJUŽIJO NOBENIH DRUGIH PRAVIC. POLEG TEGA SE Z NAKUPOM TEGA IZDELKA NE PRIDOBI PRAVIC ZA PREPRODAJO.

© 2022–2023 Cepheid.

Za opis sprememb glejte Razdelek 26 Zgodovina revizij.

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

Za *in vitro* diagnostično uporabo.

1 Lastniško ime

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

2 Splošno ali običajno ime

Xpert BCR-ABL Ultra p190

3 Predviden namen

3.1 Namen uporabe

Test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 je *in vitro* diagnostični test za uporabo na GeneXpert[®] Dx System Cepheid za kvantificiranje prepisov BCR-ABL1 p190 in ABL1 mRNA v vzorcih periferne krvi bolnikov z diagnozo kronična mieloična levkemija (KML), pozitivnih na kromosom Philadelphia (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)], in z akutno limfoblastno levkemijo (ALL), ki izražajo fuzijski prepis BCR-ABL1 tipa e1a2. Test uporablja avtomatizirano, kvantitativno reverzno transkripcijo in verižno reakcijo s polimerazo v realnem času (RT-qPCR) in je namenjen za merjenje odstotnega razmerja mRNA BCR-ABL1 p190 proti mRNA ABL1 pri t(9;22) pozitivnih bolnikih s KML ali ALL med spremljanjem zdravljenja.

Test ne spremlja drugih fuzijskih prepisov, ki izhajajo iz t(9;22), in ni namenjen za diagnozo KML ali ALL.

3.2 Predvideni uporabnik/okolje

Za test Xpert BCR-ABL Ultra p190 je predvideno, da ga izvajajo usposobljeni uporabniki v laboratorijskem okolju.

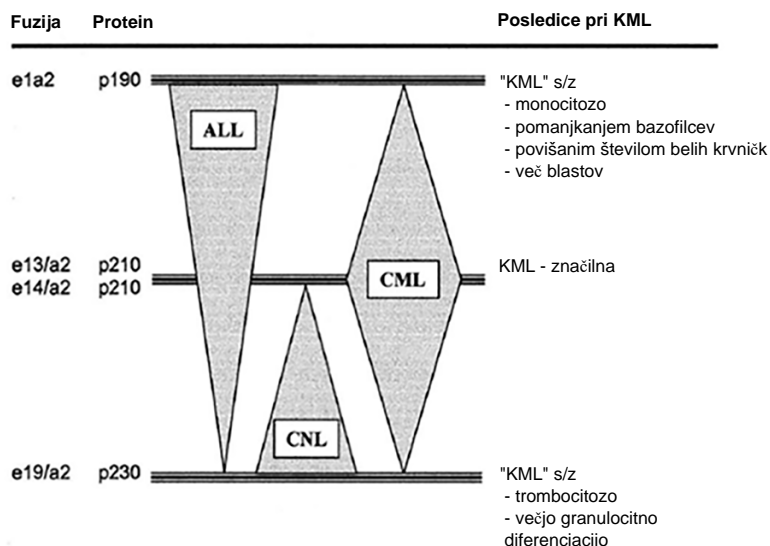
4 Povzetek in razlaga

Kromosom Philadelphia (Ph) je skrajšan kromosom, rezultat translokacije 3' dela gena ABL na kromosomu 9 na 5' del gena BCR na kromosomu 22. Mesto preloma na genu ABL je precej konstantno na 5' koncu eksona a2, medtem ko so prelomna mesta gena BCR spremenljiva, v glavnem pa zbrana v 3 različnih regijah (regije skupkov prelomnih mest – breakpoint cluster regions oz. bcr). Odvisno od mesta preloma na kromosomu 22 se različno veliki segmenti združijo s 3' zaporedji gena ABL. Obstajajo velika (major – M-bcr), mala (minor – m-bcr) in mikro prelomna mesta, vsako od njih ima za posledico različno velike fuzijske prepise mRNA.¹

Kromosom Ph je opažen pri več kot 95 % bolnikov s kronično mieloično levkemijo (KML) in do 20–30 % odraslih z akutno limfoblastno levkemijo (ALL), 5 % otrok z ALL in pri 1–2 % bolnikov z akutno mieloično levkemijo (AML).¹

Pri KML je BCR-ABL p210 prisoten pri več kot 95 % bolnikov, najdemo pa ga tudi pri približno 30 % bolnikov z ALL, pozitivnih na Ph (Ph+). Pri ostalih bolnikih s Ph+ ALL in pri redkih primerih KML (1–3 %) je prisoten BCR-ABL p190. Pri KML sta lahko hkrati prisotna BCR-ABL p210 in p190. Oba fuzijska proteina, p210 in p190, kažeta povečano aktivnost tirozin fosfokinaze v primerjavi z normalnim proteinom p145 c-abl.^{1,2}

Pri Ph+ ALL bolnikih se oblika p190 zazna pri približno 80 % Ph+ otroških ALL in 20–40 % Ph+ odraslih ALL.¹ Še več, pogostnost kromosoma Ph narašča s starostjo, prisoten je pri 10 % v starosti 15–30, 25 % v starosti 40–49 in 20–40 % pri ALL bolnikih, starejših od 50 let.³⁻⁵



Akutna limfoblastna levkemija (ALL) je hematološka maligna bolezen, pri kateri gre za kopičenje nezrelih, slabo diferenciranih belih krvničk (WBC), limfoblastov, v kostnem mozgu, krvi in drugih tkivih. ALL je razvrščen kot redek rak (številka bolezni sirote ORPHA:513; GARD 522) s prevalenco 1,7/100.000. V Združenih državah je ALL najpogostejši rak pri otrocih od rojstva do starosti 15 let in predstavlja 75 % vseh primerov levkemije v otroštvu.^{6, 7}

Prisotnost kromosoma Ph pri bolnikih z ALL po konsolidaciji je pomemben napovednik relapsa in se priporoča spremljanje. Vendar trenutno ni uveljavljenih smernic, ki bi določale pogostost spremljanja bolnikov z ALL z uporabo meritev prepisa BCR-ABL p190 za zaznavanje minimalne rezidualne bolezni (MRD). Smernice NVVN imajo določene časovne točke za spremljanje BCR-ABL p210 pri bolnikih z ALL, tako da se meritve BCR-ABL p190 za spremljanje ALL izvaja s podobno frekvenco.⁵

Kronično mieloično levkemijo (KML) označuje prisotnost kromosoma Ph, od tega je > 95 % primerov povezanih z BCR-ABL p210 in samo 1–3 % primerov je povezanih z BCR-ABL p190.^{2,3}

Za razliko od mednarodnega standarda Svetovne zdravstvene organizacije za BCR-ABL (*IS SZO*), za prepis p210 trenutno ni mednarodno priznane reference, ki bi bila uporabna za standardiziranje fuzijskega prepisa p190. Zato trenutni molekularni testi za p190 običajno zaznavajo fuzijski prepis in ga poročajo kot odstotek glede na izražanje internega kontrolnega gena (npr. ABL).

5 Načelo postopka

Xpert BCR-ABL Ultra p190 je avtomatiziran test za kvantifikacijo količine prepisa BCR-ABL1 p190 kot razmerje BCR-ABL p190/ABL1. Test se izvaja na instrumentu CepheidGeneXpert Dx System, ki avtomatizira in integrira prečiščevanje vzorca, amplifikacijo nukleinske kisline in zaznavanje ciljnega zaporedja v enostavnih ali kompleksnih vzorcih s pomočjo testov RT-PCR in ugnezdenih PCR v realnem času. Sistem sestavljajo instrument, računalnik in vnaprej naložena programska oprema za izvajanje testov in ogledovanje rezultatov. Sistem uporablja vložke GeneXpert za enkratno uporabo, ki vsebujejo reagente za RT-PCR in ugnezdenu PCR in v katerih potekajo procesi RT-PCR in ugnezdene PCR. Za celoten opis sistema glejte ustrezni *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Vložek Xpert BCR-ABL Ultra p190 vključuje reagente za zaznavanje fuzijskih genov BCR-ABL1 p190, ki so posledica manjših mest preloma, translokacije e1a2, in prepis ABL1 kot endogeno kontrolo v vzorcih periferne krvi. Količina prepisa BCR-ABL1 p190 se določi kot odstotno razmerje BCR-ABL1 p190/ABL1. V testu Xpert BCR-ABL Ultra p190 sta vključeni dve kontroli – endogena kontrola (ABL1) in kontrola za preverjanje sonde (PCC). Endogena kontrola ABL1 normalizira tarčo BCR-ABL1 p190 in zagotavlja, da se v testu uporabi zadostna količina vzorca. PCC preverja rehidracijo reagenta, polnjenje epruvete za PCR in da so v vložku prisotne vse komponente, vključno s sondami in barvili, in da delujejo.

6 Reagenti in instrumenti

6.1 Materiali na voljo

Komplet testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 (GXBCRABLP190-CE-10) vsebuje dovolj reagentov za obdelavo 10 testnih vzorcev ali vzorcev kontrole kakovosti. Komplet vsebuje naslednje:

reagente Xpert BCR-ABL Ultra

V kompletu vsakih 10

Proteinaza K (PK)	10 × 130 µl na vialo
Sestavina	Sestavina reagenta
Proteinaza K	< 5 %

Reagent za lizo (LY) (gvanidinijev klorid)	10 × 5,3 ml na vialo
Sestavina	Sestavina reagenta
Gvanidinijev klorid	25–50 %
Urea	25–50 %
Natrijev dodecil sulfat	< 2 %

Reagent za izpiranje	10 × 2,9 ml na ampulo
Sestavina	Sestavina reagenta
Etanol	< 50 %
Gvanidinij tiocianat	< 50 %

Xpert BCR-ABL Ultra p190 Vložki z vgrajenimi reakcijskimi epruветami		10 na komplet
Sestavina	Sestavina reagenta	Količina
Zrno 1 (liofilizirano)	Encim: Taq DNK polimeraza < 50 e./zrno	1 na vložek
	dNTPs < 0,05 %	
Zrno 2 (liofilizirano)	Začetni oligonukleotidi in sonde < 0,005 %	1 na vložek
Zrno 3 (liofilizirano)	Začetni oligonukleotidi in sonde < 0,005 %	1 na vložek
Zrno 4 (liofilizirano)	Encim: Taq DNK polimeraza < 50 e./zrno	1 na vložek
	dNTPs < 0,05 %	
Reagent za izpiranje	Kalijev klorid < 4%	2 ml na vložek
	Natrijev azid < 0,1%	
	Polietilen glikol < 15 %	
	Tween 20 < 0,2 %	
Elucijski reagent	Trizma baza < 0,3 %	2,5 ml na vložek
	Trizma hidroklorid < 0,1 %	
	Natrijev azid < 0,05 %	

CD**1 na komplet**

- Datoteka z opredelitvijo testa (Assay Definition File – ADF)
- Navodila za uvoz ADF v programsko opremo GeneXpert Dx
- Navodila za uporabo (priložena pakiranju)

Opomba Goveji serumski albumin (BSA) v zrcnih v tem izdelku je bil izdelan in proizveden izključno iz goveje plazme, pridobljene v Združenih državah. Živali niso bile hranjene z beljakovinami prežvekovalcev ali drugih živali. Živali so bile testirane pred zakolom in po njem. Med obdelovanjem se material ni mešal z drugimi živalskimi materiali.

Opomba Certifikati analize in Podatkovni listi s specifikacijami serije so na voljo pri tehnični podpori družbe Cepheid.

6.2 Materiali, ki so potrebni, a niso dostavljeni

- GeneXpert Dx System (kataloška številka se razlikuje glede na konfiguracijo): Instrument GeneXpert, računalnik, čitalnik črtnih kod in uporabniški priročnik.
- Za GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx različica programske opreme 6.2 ali novejša
- Tiskalnik: Če potrebujete tiskalnik, stopite v stik z oddelkom za tehnično podporo družbe Cepheid, da se dogovorite za nakup priporočenega tiskalnika.
- Vibracijski mešalnik
- Mikrocentrifuga (najmanj 1,000 × g)
- Pipete in nastavki pipet s filtrom za aerosol
- 50-mililitrske konične epruvete
- Absolutni etanol kakovosti reagenta

7 Shranjevanje in uporaba

- Vsebinsko kompleta Xpert BCR-ABL Ultra p190 hranite pri temperaturi 2–8 °C do datuma izteka roka uporabnosti, navedenega na oznaki.
- Pokrovčka vložka ne odpirajte, dokler niste pripravljeni na izvajanje testa.
- Ne uporabljajte vložkov, ki jim je potekel rok uporabnosti.
- Reagent za izpiranje je bistra brezbarvna tekočina. Ne uporabljajte reagenta za izpiranje, ki je postal moten ali je spremenil barvo.
- Dvajset (20) minut pred začetkom postopka vzemite vzorec krvi, vložek in reagente za pripravo vzorca iz shrambe, da se ogrejejo na sobno temperaturo (20–30 °C).

8 Opozorila in previdnostni ukrepi

8.1 Splošno

- Za *in vitro* diagnostično uporabo.
- Z vsemi biološkimi vzorci, kar vključuje uporabljene vložke in reagente, ravnajte, kot če bi lahko prenašali kužne agense. Ker pogosto ni mogoče vedeti, kateri so lahko kužni, je treba vse biološke vzorce obravnavati s standardnimi previdnostnimi ukrepi. Smernice za ravnanje z vzorci so na voljo pri Centrih za nadzor in preprečevanje bolezni v ZDA⁹ in na Inštitutu za klinične in laboratorijske standarde.¹⁰
- Upoštevajte varnostne postopke svoje ustanove za delo s kemikalijami in ravnanje z biološkimi vzorci.
- Značilnosti učinkovitosti tega testa so bile potrjene samo s krvjo, odvzeto v epruvete z EDTA. Učinkovitost tega testa za druge vrste vzorcev ali vzorce ni bila ocenjena.
- Zanesljivi rezultati so odvisni od zbiranja zadostnih vzorcev, njihovega prenosa, shranjevanja in obdelave. Do napačnih rezultatov lahko pride zaradi nepravilnega odvzema, rokovanja ali shranjevanja vzorca, tehnične napake, zamenjave

vzorca ali zato, ker je tarčni prepis v vzorcu pod mejo zaznavnosti (LOD) testa. Da bi se izognili napačnim rezultatom, je treba natančno upoštevati navodila v tem dokumentu in *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Izvedba testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 izven priporočenih časovnih in temperaturnih razponov za shranjevanje kompleta ali vzorca lahko povzroči napačne ali neveljavne rezultate.
- Biološke vzorce, pripomočke za prenašanje in uporabljene vložke je treba obravnavati kot sposobne prenašanja kužnih agensov, ki zahtevajo standardne previdnostne ukrepe. Za pravilno odstranitev uporabljenih vložkov in neuporabljenih reagentov upoštevajte smernice svoje ustanove za ravnanje z okoljskimi odpadki. Ti materiali imajo lahko lastnosti kemičnih nevarnih odpadkov, ki jih je treba obravnavati po točno določenih nacionalnih ali regionalnih postopkih za odlaganje. Če nacionalni ali regijski predpisi ne vključujejo jasnih navodil za pravilno odstranjevanje, je treba biološke vzorce in uporabljene vložke odstraniti skladno s smernicami WHO (World Health Organization - Svetovna zdravstvena organizacija) za ravnanje z medicinskimi odpadki in njihovo odstranjevanje.¹¹

8.2 Vzorec

- Med transportom vzorca vzdržujte pogoje shranjevanja, da se ohrani celovitost vzorca (glejte Razdelek 10). Stabilnost vzorca pri pogojih pri pošiljanju, drugačnih od priporočenih, ni bila ocenjena.
- Vzorcev polne krvi ne zmrzujte.
- Ustrezen odvzem, shranjevanje in transport vzorca so bistveni za pravilne rezultate.


8.3 Test/reagent

- Reagentov Xpert BCR-ABL Ultra p190 ne nadomeščajte z drugimi reagenti.
- Pokrovčka vložka Xpert BCR-ABL Ultra p190 ne odpirajte, razen ko dodajate vzorec in reagent za izpiranje.
- Ne uporabljajte vložka, ki vam je padel, ko ste ga vzeli iz ovojnine.
- Vložka ne stresajte. Če vložek stresate oziroma vam ta pade po odprtju pokrovčka vložka, lahko pride do neveljavnih rezultatov. Oznake ID vzorca ne namestite na pokrovček vložka ali na oznako s črtno kodo vložka.
- Ne uporabljajte vložka s poškodovano oznako s črtno kodo. Ne uporabljajte vložka, ki ima poškodovano reakcijsko epruveto.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 vložki morajo imeti ob testiranju sobno temperaturo (20 °C–30 °C).
- Vsak vložek za enkratno uporabo v Xpert BCR-ABL Ultra p190 se uporabi za obdelavo enega testa. Obdelanih vložkov ne uporabite znova.
- Uporabljenih nastavkov pipete ne uporabite ponovno.
- Ne uporabite vložka, če je videti moker ali če tesnilo pokrovčka deluje nepopolno.
- Vložka Xpert BCR-ABL Ultra p190 ne uporabite, če ste dodali reagent v napačno odprtino. Po končanem testu ne odpirajte vložkov Xpert BCR-ABL Ultra p190.
- Komplet pipet in reagentov namenite izključno za pripravo vzorcev.
- Uporabljajte čiste laboratorijske halje in rokavice. Po rokoivanju z vsakim vzorcem zamenjajte rokavice.
- V primeru razlitja vzorca ali kontrole natakните rokavice in razlitje popivnjajte s papirnati brisačami. Temeljito očistite in razkužite vse laboratorijske delovne površine s sveže pripravljeno 0,5-odstotno raztopino natrijevega hipoklorita in destilirane ali deionizirane vode (razredčite belilo za gospodinjstvo v razmerju 1 : 10). Končna koncentracija aktivnega klora mora biti 0,5 %. Ko se delovno mesto posuši, obrišite površino s 70-odstotnim etanolom. Za opremo upoštevajte priporočila proizvajalca za dekontaminacijo opreme. Namesto tega lahko v primeru kontaminacije ali razlitja upoštevate standardne postopke vaše ustanove.
- Rabljeni vložki lahko vsebujejo potencialno kužne materiale, pa tudi visoko pomnožene PCR tarče. Ne odpirajte in ne poskušajte spreminjati nobenega dela odpadnih vložkov.

9 Kemične nevarnosti^{12,13}

Opomba Varnostni listi (SDS) so na voljo na spletnem naslovu www.cepheid.com ali www.cepheidinternational.com v zavihku **PODPORA (SUPPORT)**.

Opomba Spodnje informacije veljajo za proteinazo K, reagente za lizo, izpiranje in splakovanje.

- Piktogram za nevarnost UN GHS: 
- Opozorilna beseda: NEVARNOST
- Stavki o nevarnostih UN GHS

- Zdravju škodljivo pri zaužitju. H302
- Lahko vnetljiva tekočina in hlapi. H225
- Povzroča draženje kože. H315
- Povzroča hudo draženje oči. H319
- Lahko povzroči zaspanost ali omotico. H336
- Sum povzročitve genetskih okvar. H341
- **Previdnostni stavki UN GHS**
 - **Preprečevanje**
 - Za posebna navodila pred uporabo glejte Varnostni list.
 - Ne uporabljajte, dokler se ne seznanite z vsemi varnostnimi ukrepi.
 - Uporabljajte osebno zaščitno opremo: rokavice, očala, ščitnik za obraz in oblačila.
 - Uporabljajte samo v dobro prezračenih prostorih.
 - Hraniti ločeno od vročine, isker, odprtega ognja in/ali vročih površin.
 - Izogibajte se vdihavanju meglice, hlapov ali pršila.
 - Po uporabi si temeljito umijte roke.
 - **Odziv**
 - Ob POŽARU: Za gašenje se uporabi primerno sredstvo.
 - Pri VDIHAVANJU: Prenesti žrtev na svež zrak in jo pustiti počivati v položaju, ki olajša dihanje.
 - Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika.
 - Ob RAZLITJU: Takoj odstranite kontaminirana oblačila. Pri stiku s kožo ali lasmi izperite z vodo/s prho.
 - Če nastopi DRAŽENJE KOŽE: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
 - Pri STIKU Z OČMI: Odstranite kontaktne leče, če jih imate. Oči nekaj minut temeljito spirajte z vodo. Če draženje oči ne preneha: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
 - Posebna obravnava, glejte dodatne informacije o prvi pomoči v Varnostnem listu.
 - Pri izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
 - **Shranjevanje/odstranjevanje**
 - Shranjujte v ohlajenih pogojih.
 - Hraniti v tesno zaprti posodi.
 - Vsebinsko in/ali vsebnik odstranite v skladu z lokalnimi, regionalnimi, nacionalnimi in/ali mednarodnimi predpisi.

10 Odvzem vzorca, prenos in shranjevanje

- Za test so potrebni vzorci polne krvi, odvzete v vakuumске epruvete z EDTA. Vzorce lahko pred uporabo hranite do 72 ur pri 2–8 °C. Plazma ne sme biti ločena od celic.
- Pravilen odvzem, shranjevanje in transport vzorca so bistvenega pomena za delovanje tega testa.

11 Postopek

11.1 Pred začetkom

Dvajset (20) minut pred začetkom postopka vzemite vzorec krvi, reagente za pripravo vzorca in vložke iz hladilnika, da se ogrejejo na sobno temperaturo. Na kratko zavrtite proteinazo K (PK) v mikrocentrifugi.

Pomembno Pred pripravo vzorca vložek odstranite iz kartonske embalaže. (Glejte Razdelek 11.2, Priprava vzorca.)

Pomembno Začnite test na instrumentu GeneXpert Dx v 1 uri po dodajanju pripravljenega vzorca v vložek.

11.2 Priprava vzorca

11.2.1 Priprava vzorca z neznanim številom belih krvničk (WBC) ali vzorcev z manj kot 30 milijonov levkocitov/ml

1. Na dno nove 50-mililitrske konične epruvete dodajte 100 µl PK (proteinaze K).
2. Zagotovite, da je vzorec krvi dobro premešan tako, da epruveto za odvzem vzorca 8-krat obrnete neposredno pred pipetiranjem. Glejte navodila proizvajalca za epruvete za odvzem krvi z EDTA.
3. V epruveto, ki že vsebuje proteinazo K, dodajte 4 ml vzorca krvi.
4. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 3 sekunde.
5. Vzorec inkubirajte 1 minuto pri sobni temperaturi.
6. V isto epruveto dodajte 2,5 ml reagenta za lizo (LY).

Opomba Shranite preostali reagent za lizo, da ga boste ponovno uporabili v koraku 13.

7. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
8. Vzorec inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi.
9. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
10. Vzorec inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi.
11. Premešajte vzorec tako, da 10-krat potrepeljate dno epruvete.
12. Prenesite 1 ml pripravljenega lizata v novo 50-mililitrsko konično epruveto.

Opomba Preostali lizat lahko uporabite za ponovno testiranje. Preostali lizat hranite pri 2–8 °C do 4 ure, lahko pa ga hranite pri -20 °C ali manj do 24 tednov.

13. V novo konično epruveto z lizatom dodajte 1,5 ml preostalega reagenta za lizo (LY) iz koraka 6.
14. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
15. Vzorec 10 minut inkubirajte pri sobni temperaturi.
16. V isto konično epruveto dodajte 2 ml absolutnega etanola kakovosti reagenta (priskrbi uporabnik).
17. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund. Postavite na stran.
18. Zavržite morebitni preostali PK ali reagent za lizo.

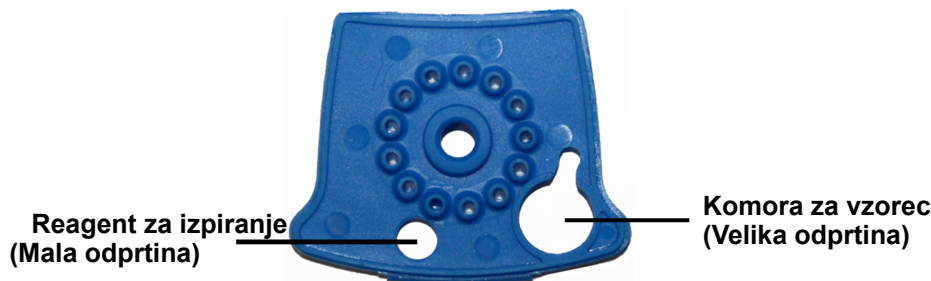
11.2.2 Priprava vzorca s številom levkocitov, večjim od 30 milijonov celic/ml

1. Na dno nove 50-mililitrske konične epruvete dodajte 100 µl PK (proteinaze K).
2. Zagotovite, da je vzorec krvi dobro premešan tako, da epruveto za odvzem vzorca 8-krat obrnete neposredno pred pipetiranjem. Glejte navodila proizvajalca za epruvete za odvzem krvi z EDTA.
3. V epruveto, ki že vsebuje proteinazo K, dodajte 50 µl ml vzorca krvi.
4. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 3 sekunde.
5. Vzorec inkubirajte 1 minuto pri sobni temperaturi.
6. V isto epruveto dodajte 2,5 ml reagenta za lizo (LY).
7. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
8. Vzorec inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi.
9. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
10. Vzorec inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi.
11. V isto konično epruveto dodajte 2 ml absolutnega etanola kakovosti reagenta (priskrbi uporabnik).
12. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund. Postavite na stran.
13. Zavržite morebitni preostali PK ali reagent za lizo.

11.3 Priprava vložka

Za dodajanje vzorca v vložek Xpert BCR-ABL Ultra p190:

1. Vložek odstranite iz kartonske embalaže.
2. Preverite, ali je vložek poškodovan. Če je poškodovan, ga ne uporabite.
3. Dvignete pokrovček vložka in prenesite celotno vsebino ampule reagenta za izpiranje (1) v komoro reagenta za izpiranje (mala odprtina). Glejte Slika 1.
4. Odpipetirajte vso vsebino pripravljenega vzorca v komoro za vzorec (velika odprtina). Glejte Slika 1.



Slika 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Vložek (pogled od zgoraj)

5. Zaprite pokrovček vložka. Poskrbite, da se pokrovček dobro zapre. Začnite s testom (glejte Razdelek 11.4, Začetek testa).

11.4 Začetek testa

V tem razdelku so osnovni koraki za izvajanje testa. Za podrobna navodila glejte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Pomembno

Pred začetkom testa preverite, da sistem uporablja različico programske opreme GeneXpert Dx 6.2 ali novejšo in da je v programsko opremo uvožena pravilna datoteka za opredelitev testa (ADF).

Opomba

Koraki, ki sledijo, so lahko drugačni, če je skrbnik sistema spremenil privzeti potek dela sistema.

1. Vključite instrument GeneXpert:
 - Če uporabljate instrument GeneXpert Dx, najprej vklopite instrument GeneXpert Dx, nato pa vklopite še računalnik. Programska oprema GeneXpert se zažene samodejno. Če do tega ne pride, dvokliknite ikono bližnjice programske opreme GeneXpert Dx na namizju Windows®.
2. Prijavite se v programsko opremo sistema instrumenta GeneXpert s svojim uporabniškim imenom in geslom.
3. V oknu **sistema GeneXpert** kliknite na **Ustvari test (Create Test)** (GeneXpert Dx). Odpre se okno **Ustvari test (Create Test)**. Odpre se pogovorno okno **Skeniranje črtne kode ID bolnika (Scan Patient ID barcode)**.
4. Skenirajte ali vtipkajte ID bolnika (Patient ID). Če vtipkate ID bolnika (Patient ID), preverite, da ste jo vtipkali pravilno. ID bolnika (Patient ID) je povezana z rezultati testa in je prikazana v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in v vseh poročilih. Odpre se pogovorno okno **Skeniranje črtne kode ID vzorca (Scan Sample ID barcode)**.
5. Skenirajte ali vtipkajte ID vzorca (Sample ID). Če vtipkate ID vzorca (Sample ID), preverite, ali ste jo vtipkali pravilno. ID vzorca (Sample ID) je povezana z rezultati testa in je prikazana v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in v vseh poročilih. Odpre se pogovorno okno **Skeniranje črtne kode vložka (Scan Cartridge barcode)**.
6. Skenirajte črtno kodo na vložku. Programska oprema z informacijami črtne kode samodejno izpolni naslednja polja: Izberi test (Select Assay), ID Loti reagentov (Reagent Lot ID), Serijska št. vložka (Cartridge SN) in Rok uporabe (Expiration Date).

Opomba

Če črtne kode na vložku ni mogoče skenirati, ponovite test z drugim vložkom. Če ste s programsko opremo optično prebrali črtno kodo vložka in datoteka z opredelitvijo testa (ADF) ni na voljo, se prikaže zaslon, ki kaže, da datoteka z opredelitvijo testa (ADF) ni naložena v sistem. Če se pojavi ta zaslon, se obrnite na tehnično podporo družbe Cepheid.

7. Kliknite **Začni test (Start Test)**. Če je potrebno, vtipkajte svoje geslo v pogovorno okno, ki se pojavi.
8. Odprite vrata modula instrumenta z utripajočo zeleno lučjo in naložite vložek.
9. Zaprite vrata. Test se začne izvajati, zelena luč pa preneha utripati. Ko je test končan, se luč izklopi.
10. Preden odprete vrata modula, počakajte, da sistem sprostí zaklepni mehanizem vrat. Potem odstranite vložek.

11. Uporabljene vložke odvrzite v ustrezne vsebnike za odpadne vzorce skladno s standardnimi praksami vaše ustanove.

12 Pregledovanje in tiskanje rezultatov

V tem razdelku so navedeni osnovni koraki za ogled in tiskanje rezultatov. Za podrobnejša navodila o tem, kako pregledati in natisniti rezultate, glejte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Za ogled rezultatov kliknite ikono **Ogled rezultatov (View Results)**.
2. Ko se test konča, kliknite gumb **Poročilo (Report)** v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in si oglejte in/ali ustvarite datoteko s poročilom v obliki PDF.

13 Kontrola kakovosti

Vsak test vključuje endogeno kontrolo (ABL) in kontrolo za preverjanje sonde (PCC).

ABL endogena kontrola – ABL endogena kontrola preveri, da se v testu uporabi zadostna količina vzorca. Poleg tega ta kontrola zazna inhibicijo testa PCR v realnem času, ki je povezana z vzorcem. ABL je uspešen, če ustreza dodeljenim merilom sprejemljivosti.

Kontrola za preverjanje sonde (PCC) – Pred začetkom reakcije PCR sistem GeneXpert izmeri signal fluorescence sond, da nadzira rehidracijo zrn, polnjenje reakcijske epruvete in ali delujejo vse v vložku prisotne komponente za reakcijo. PCC je uspešen, če vzorec ustreza dodeljenim merilom sprejemljivosti.

14 Tolmačenje rezultatov

Xpert BCR-ABL Ultra p190 kvantitativni rezultati so podani kot odstotno razmerje BCR-ABL1 p190/ABL1. Primeri možnih rezultatov in interpretacij so predstavljeni v Preglednica 1.

Preglednica 1. Rezultati testov Xpert BCR-ABL Ultra p190 in tolmačenje

Preverjanje sond*	ABL Ct*	e1a2 Ct*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 Rezultat testa	Opombe
USPEŠNO (PASS).	USPEŠNO (PASS).	POZ (POS)	BCR-ABL p190 ZAZNAN [#,## %] (BCR-ABL p190 DETECTED [#,##%])	Sporočena je izračunana vrednost odstotnega razmerja. Glejte Slika 2.
			BCR-ABL p190 ZAZNAN [Pod LOD;< 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])	Izračunano odstotno razmerje je pod mejo zaznavnosti in se ne poroča. Glejte Slika 3.
			BCR-ABL p190 ZAZNAN [Nad zgornjim LOQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])	Izračunano odstotno razmerje je nad mejo določljivosti in se ne poroča. Glejte Slika 4.
	NEUSPEH (FAIL)	NEG	BCR-ABL p190 NI ZAZNAN [Dovolj prepisa ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])	e1a2 Ct je nič ali nad pragom sprejemljivosti. Glejte Slika 5.
		NEVELJAVNO (INVALID)	NEVELJAVNO [Preveč prepisa BCR-ABL p190]	e1a2 Ct je pod pragom sprejemljivosti.
		POZ (POS), NEG ali NEVELJAVNO (INVALID)	NEVELJAVNO [Brez prepisa ABL] (INVALID [No ABL transcript])	Vrednost ABL Ct je nič. Ni zaznanega ABL. Glejte Slika 6.
NEUSPEH (FAIL)	NEVELJAVNO (INVALID)	NEVELJAVNO [Premalo prepisa ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	ABL Ct je nad pragom sprejemljivosti. Glejte Slika 7.	
		NEVELJAVNO [Preveč prepisa ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])	ABL Ct je pod pragom sprejemljivosti.	
		NEVELJAVNO [Preveč prepisov BCR-ABL p190 in ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])	Vrednosti e1a2 in ABL Ct sta pod sprejemljivima pragoma. Glejte Slika 8.	
NEUSPEH (FAIL)	USPEH (PASS) ali NEUSPEH (FAIL)	POZ (POS), NEG ali NEVELJAVNO (INVALID)	NAPAKA (ERROR)	Kontrola za preverjanje sonde ni izpolnjevala meril sprejemljivosti. Glejte Slika 9.

* Za podrobnosti glejte zavihek Analitični rezultati (Analyte Results) v programski opremi sistema GeneXpert Dx

Sistemi GeneXpert samodejno izračunajo rezultate na podlagi vrednosti *praga cikla* (Ct), ki jo ustvari test, in za serijo specifičnih parametrov, dodeljenih med proizvodnjo. Programska oprema uporablja logaritem, pri katerem je vrednost ΔCt (Delta Ct) pridobljena iz ABL Ct minus BCR-ABL p190 Ct, učinkovitost (*E*) in faktor lestvice (*SF*) pa sta vrednosti, specifični za serijo:

$$\text{Odstotno razmerje} = \text{učinkovitost}^{\Delta Ct} \times \text{faktor lestvice} \times 100$$

Opomba

Vrednosti učinkovitosti in faktorja lestvice umerita kvantifikacijo prepisov BCR-ABL1 p190 (e1a2) in ABL1 na primarne standarde, število kopij *in vitro* prepisane RNA (IVT-RNA) sintetičnih BCR-ABL p190 in ABL1. Učinkovitost in faktor lestvice sta vključena v črtno kodo vsakega vložka. Podatkovni listi s specifikacijami serije so na voljo pri tehnični podpori družbe Cepheid.

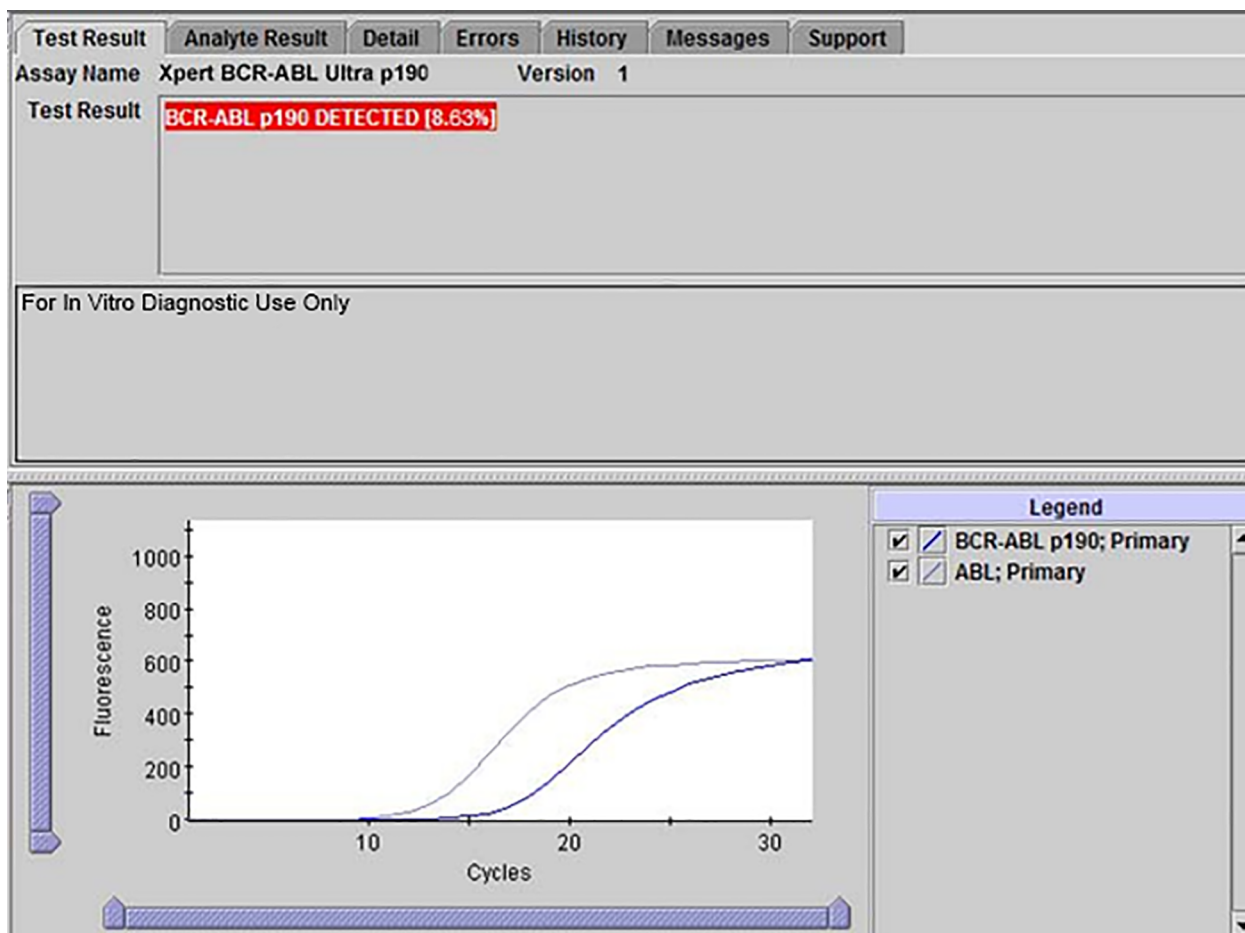
Opomba

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

Za rezultat »BCR-ABL p190 ZAZNAN [#,#] % (BCR-ABL p190 DETECTED [#.#]%)« je BCR-ABL p190 mogoče zaznati z BCR-ABL p190 Ct, večjim ali enakim »8« in manjšim ali enakim mejni vrednosti »32«, ABL Ct pa je večji ali enak »8« in manjši ali enak »18«.

Primer: ABL Ct = 11,4; BCR-ABL p190 Ct = 15,6; $\Delta Ct = -4,2$
 Za serijo specifičen $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 Odstotno razmerje = $2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63 \%$

Rezultat: BCR-ABL p190 ZAZNAN [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%]). Glejte Slika 2.



Slika 2. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: BCR-ABL p190 ZAZNAN [8,63 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])

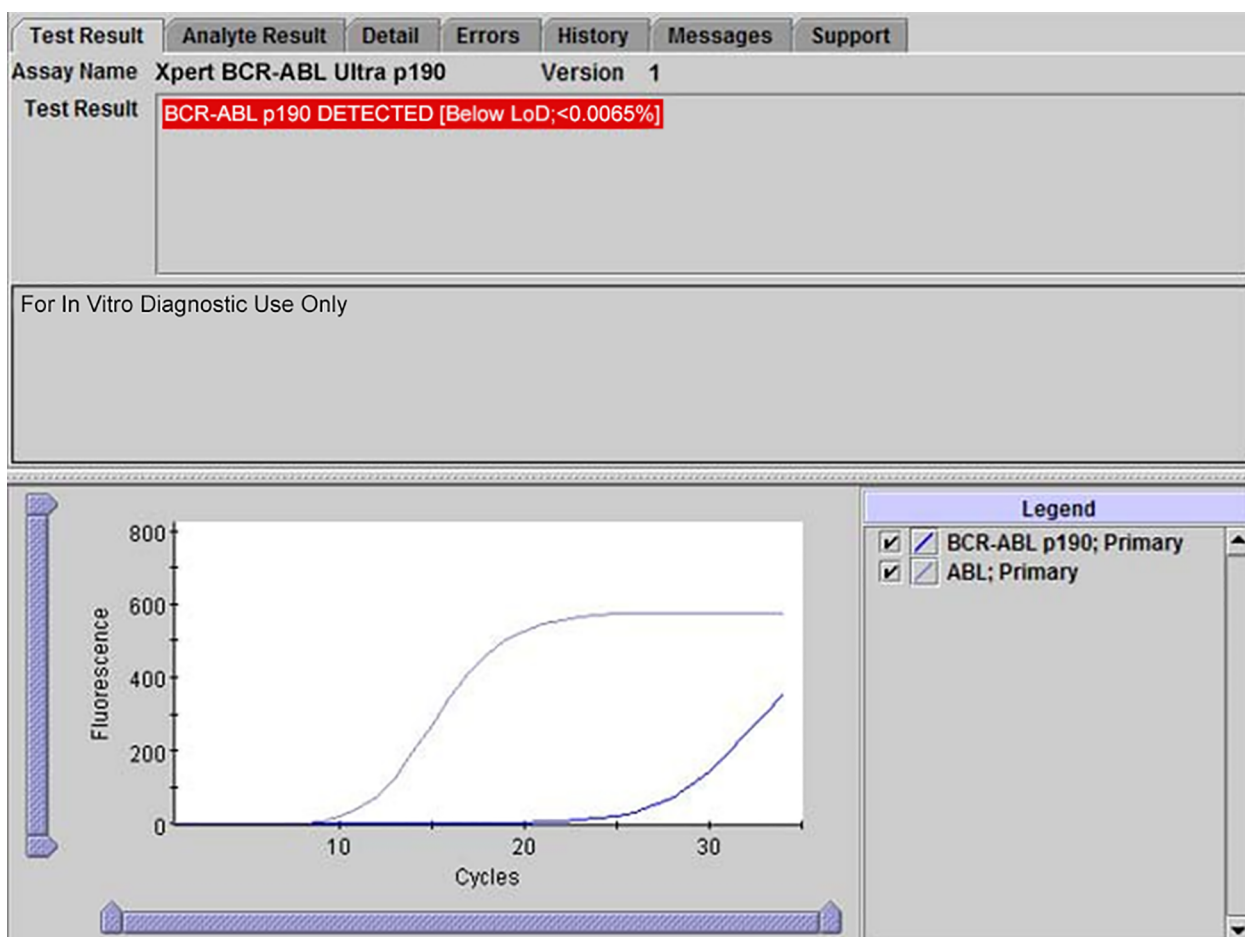
14.2 BCR-ABL p190 ZAZNAN [Pod LOD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

BCR-ABL p190 je bil zaznan na ravni < 0,0065 %.

Za rezultat »BCR-ABL p190 ZAZNAN [Pod LOD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])« je BCR-ABL p190 mogoče zaznati z BCR-ABL p190 Ct, večjim ali enakim »8« in manjšim ali enakim mejni vrednosti »32«, ABL Ct pa je večji ali enak »8« in manjši ali enak »18«.

Primer: ABL Ct = 10,1; BCR-ABL p190 Ct = 24,8; $\Delta Ct = -14,8$
 Za serijo specifičen $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 Odstotno razmerje = $2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044$ % manjše od definirane LOD testa pri 0,0065 %

Rezultat: **BCR-ABL p190 ZAZNAN [Pod LOD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**. Glejte Slika 3.



Slika 3. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: BCR-ABL p190 ZAZNAN [Pod LOD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

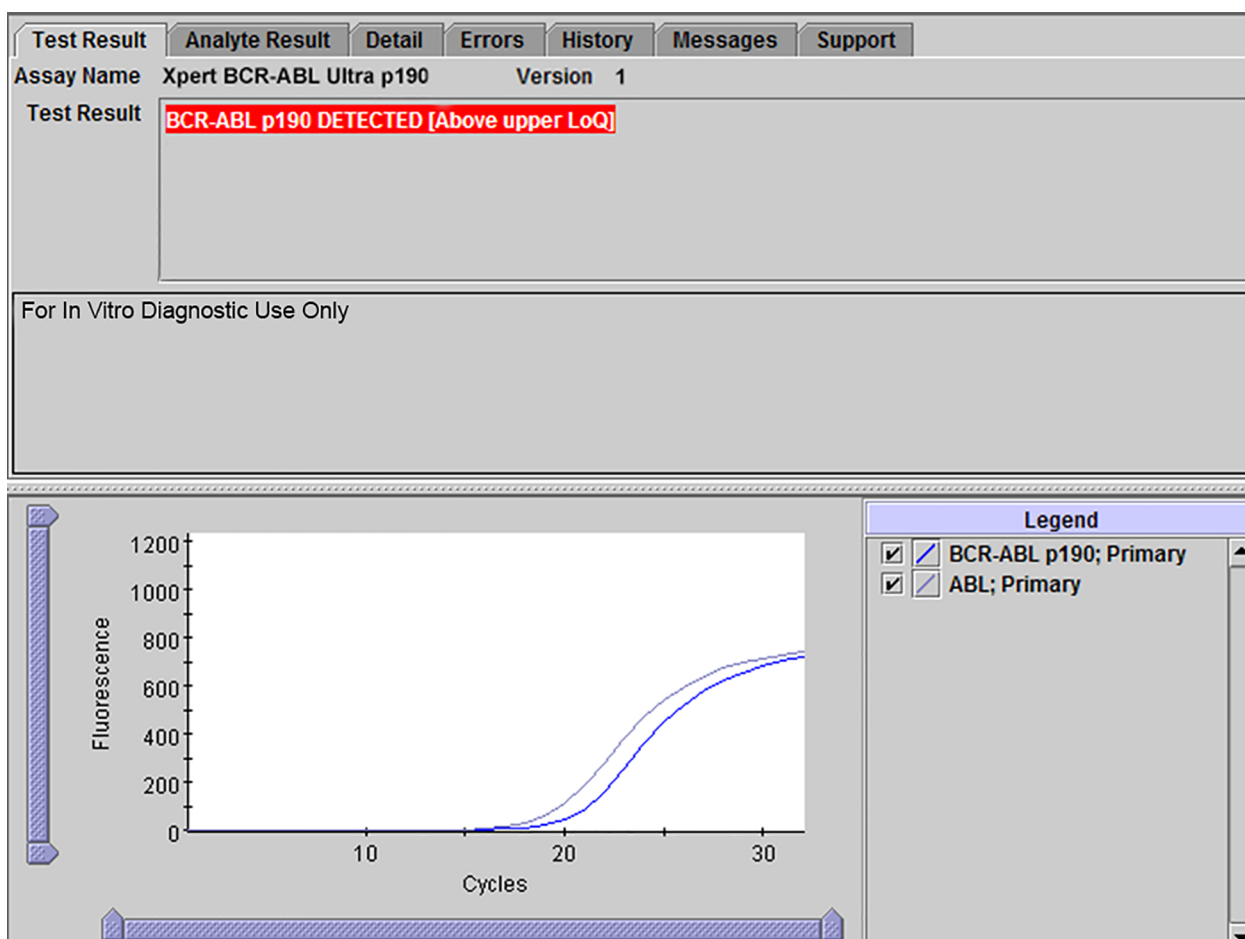
14.3 BCR-ABL p190 ZAZNAN [Nad zgornjim LOQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

BCR-ABL p190 je bil zaznan na ravni > 25 %.

Za rezultat »**BCR-ABL p190 ZAZNAN [Nad zgornjim LOQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**« je BCR-ABL p190 mogoče zaznati z BCR-ABL p190 Ct, večjim ali enakim »8« in manjšim ali enakim mejni vrednosti »32«, ABL Ct pa je večji ali enak »8« in manjši ali enak »18«.

Primer: ABL Ct = 17,2; BCR-ABL p190 Ct = 18,7; $\Delta Ct = -1,6$
 Za serijo specifičen $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 Odstotno razmerje = $2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6\%$ je večje od definiranega zgornjega LOQ testa pri 25 %

Rezultat: **BCR-ABL p190 ZAZNAN [Nad zgornjim LOQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])**. Glejte Slika 4.



Slika 4. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: BCR-ABL p190 ZAZNAN [Nad zgornjim LOQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

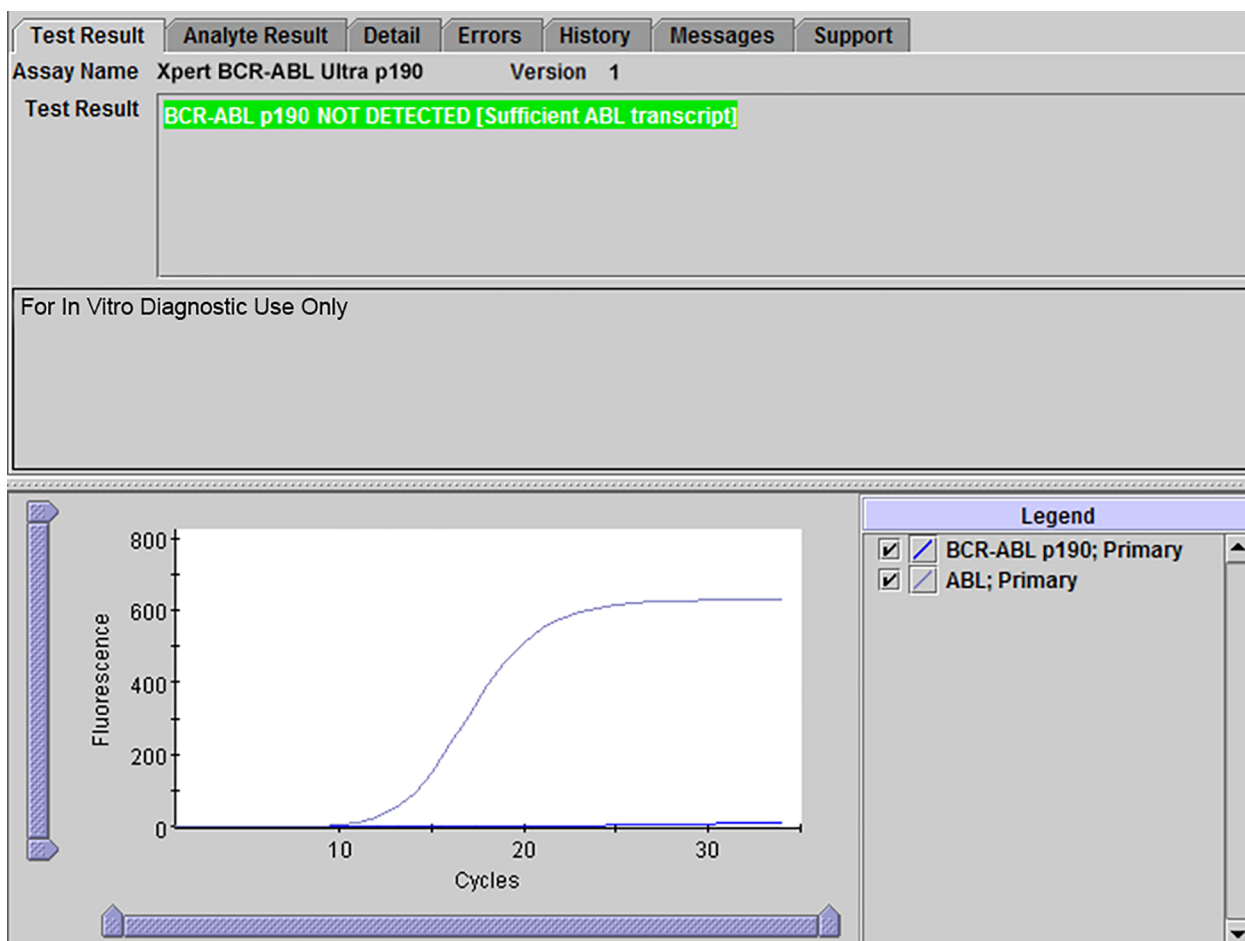
14.4 BCR-ABL p190 NI ZAZNAN [Dovolj prepisa ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 ni bil zaznan z BCR-ABL p190 Ct, enakim »0« ali večjim od mejne vrednosti »32« in ABL Ct, večjim od »8« in manjšim ali enakim »18«.

Ko BCR-ABL p190 ni mogoče zaznati z BCR-ABL p190 Ct enakim »0« ali večjim od mejne vrednosti »32«, programska oprema GeneXpert najprej poišče ABL Ct, da potrdi, ali je ABL Ct večji ali enak »8« in manj kot ali enak »18«, da zagotovi, da ima »Dovolj prepisa ABL (Sufficient ABL transcript)«. Glejte Preglednica 2.

Primer: BCR-ABL p190 Ct = 0; ABL Ct = 11,6 je manjši od »18«.

Rezultat: **BCR-ABL p190 NI ZAZNAN [Dovolj prepisa ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Glejte Slika 5.



Slika 5. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: BCR-ABL p190 NI ZAZNAN [Dovolj prepisa ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

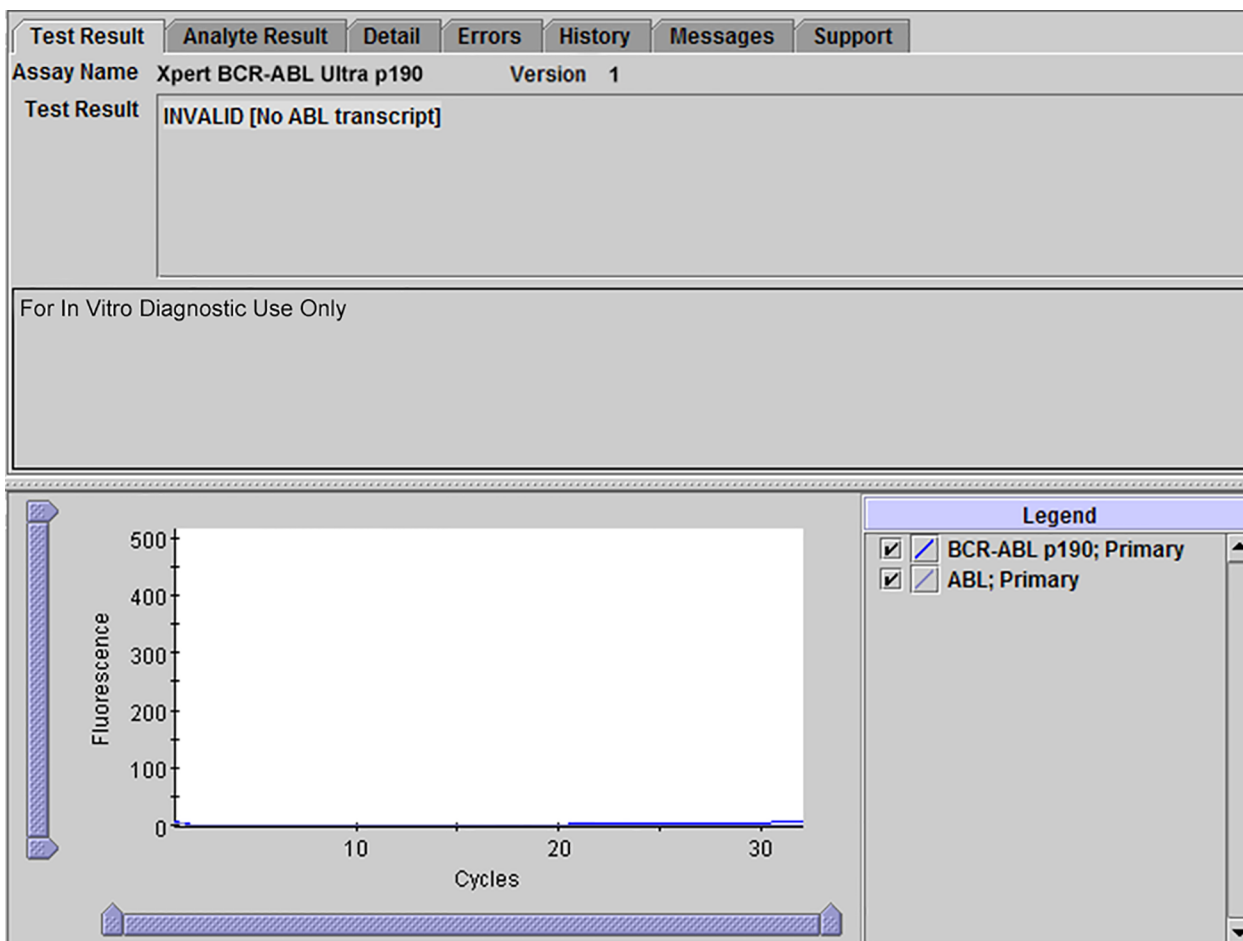
14.5 NEVELJAVNO [Brez prepisa ABL] (INVALID [No ABL transcript])

BCR-ABL p190 ni bil zaznan z ABL Ct enakim »0«.

Ko je BCR-ABL p190 ali zaznan ali ni zaznan, programska oprema GeneXpert najprej poišče ABL Ct, da potrdi, ali je ABL Ct manjši ali enak »18«, da zagotovi, da ima »Dovolj prepisa ABL (Sufficient ABL transcript)«. Glejte Razdelek 16, Vodnik za odpravljanje težav.

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

Rezultat: **NEVELJAVNO [Brez prepisa ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Glejte Slika 6.



Slika 6. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: **NEVELJAVNO [Brez prepisa ABL] (INVALID [No ABL transcript])**

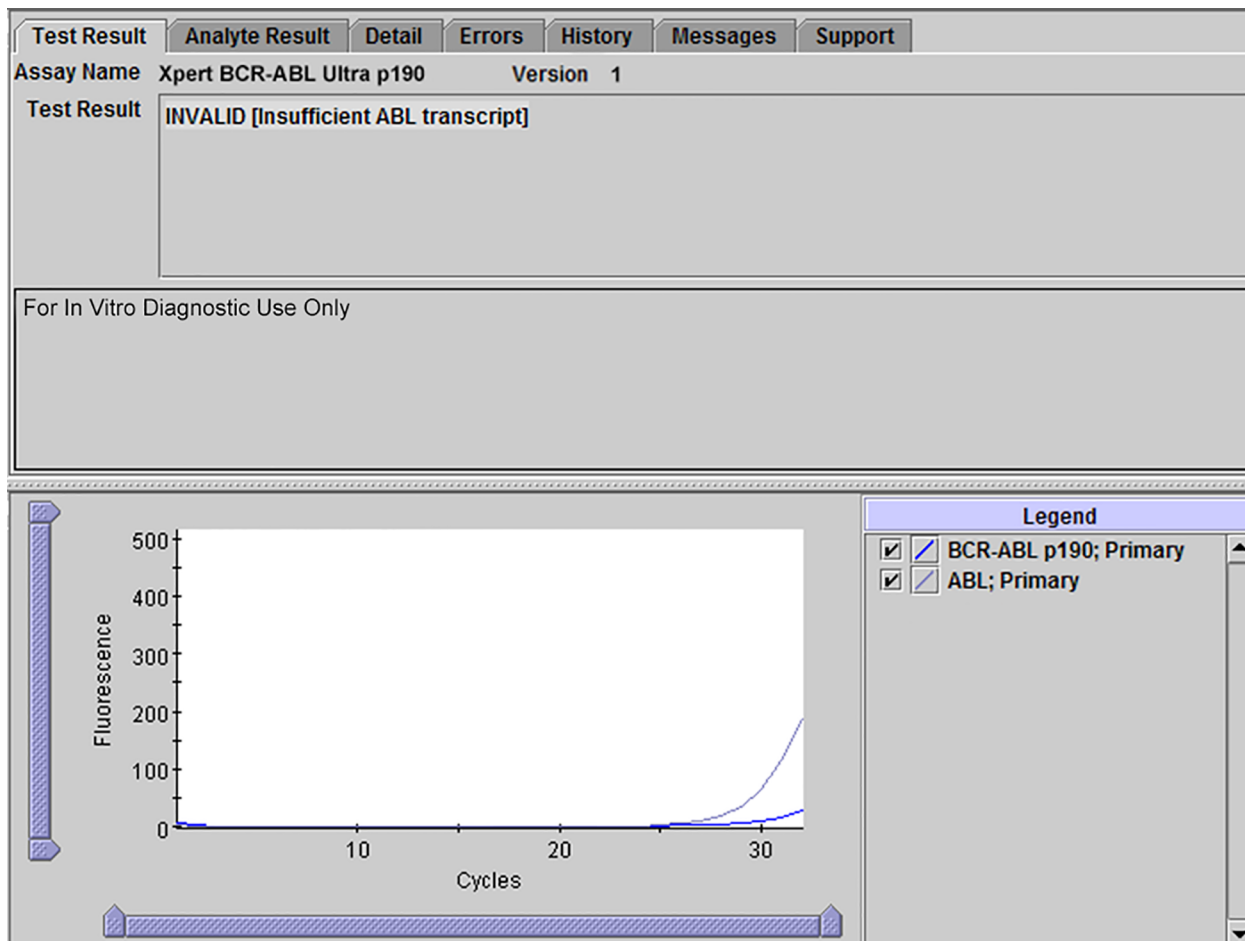
14.6 NEVELJAVNO [Premalo prepisa ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 ni bil zaznan z ABL Ct, večjim od »18«.

Ko je BCR-ABL p190 ali zaznan ali ni zaznan, programska oprema GeneXpert najprej poišče ABL Ct, da potrdi, ali je ABL Ct manjši ali enak »18«, da zagotovi, da ima »Dovolj prepisa ABL (Sufficient ABL transcript)«. Glejte Razdelek 16, Vodnik za odpravljanje težav.

Primer: BCR-ABL p190 Ct = 31,2; ABL Ct = 28 je večji od »18«.

Rezultat: **NEVELJAVNO [Premalo prepisa ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Glejte Slika 7.



Slika 7. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: NEVELJAVNO [Premalo prepisa ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

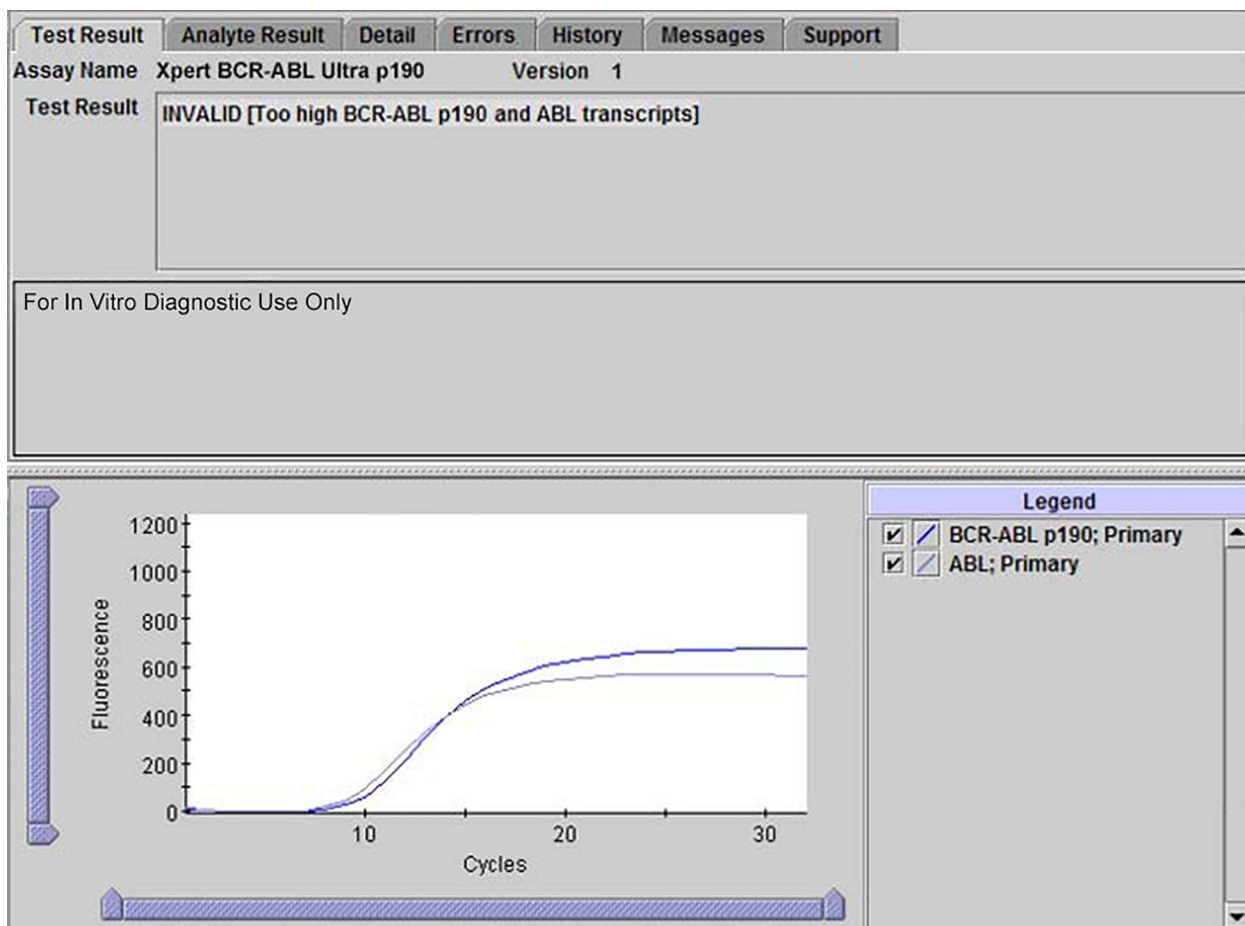
14.7 NEVELJAVNO [Preveč prepisov BCR-ABL p190 in ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

BCR-ABL p190 je bil zaznan tako z BCR-ABL p190 Ct kot z ABL Ct manj kot »8«.

Ko je BCR-ABL p190 ali zaznan ali ni zaznan, programska oprema GeneXpert najprej poišče ABL Ct, da potrdi, ali je ABL Ct manjši ali enak »18«, da zagotovi, da ima »Dovolj prepisa ABL (Sufficient ABL transcript)«. Glejte Razdelek 16, Vodnik za odpravljanje težav.

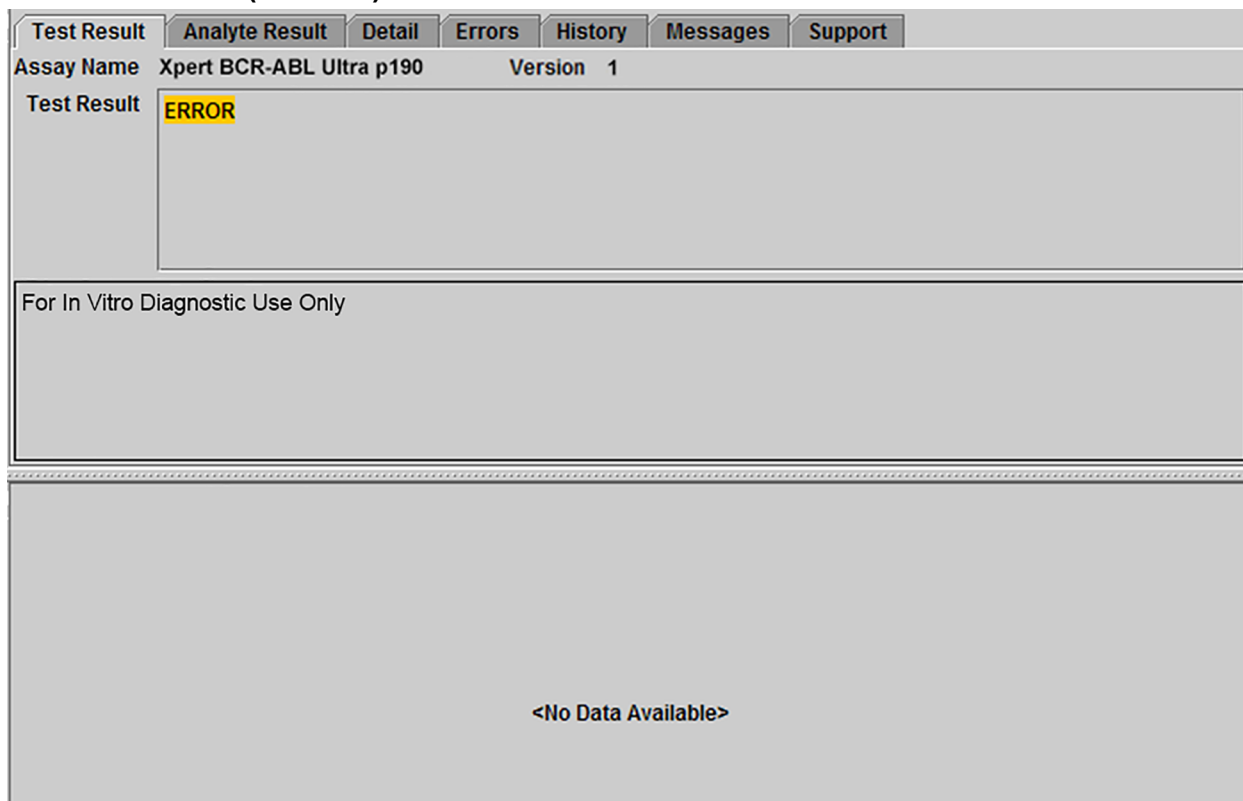
Primer: BCR-ABL p190 Ct = 7,9; ABL Ct = 7,6 je manjši od »8«.

Rezultat: **NEVELJAVNO [Preveč prepisov BCR-ABL p190 in ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts]).** Glejte Slika 8.



Slika 8. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: NEVELJAVNO [Preveč prepisov BCR-ABL p190 in ABL] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

14.8 NAPAKA (ERROR)



Slika 9. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: NAPAKA (ERROR)

15 Omejitve

- Izdelek je namenjen samo za *in vitro* diagnostično uporabo.
- Test ni namenjen za uporabo z zunanjimi kalibratorji.
- Test ni indiciran za odločanje o prekinitvi zdravljenja s TKI niti za spremljanje po prekinitvi.
- Učinkovitost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 je bila ocenjena samo s postopki, navedenimi v teh navodilih. Spreminjanje teh postopkov lahko spremeni učinkovitost testa.
- Ta izdelek je bil validiran za kri, odvzeto v epruvete z EDTA.
- Ne uporabljajte heparina kot antikoagulanta, saj lahko inhibira reakcijo PCR.
- Vrste vzorcev z natrijevim citratom (Na-citrat), zgoščene levkocitne plasti (buffy-coat) in kostnega mozga niso bile validirane.
- Napačni rezultati testa se lahko pojavijo zaradi neustreznega odvzema vzorcev, ravnanja z njimi, shranjevanja ali zamenjave vzorcev. Za preprečevanje napačnih rezultatov se je treba strogo držati navodil za uporabo.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 je zasnovan samo za zaznavanje fuzijskega prepisa BCR-ABL p190, e1a2. Sposobnost zaznavanja drugih fuzijskih prepisov ni bila ocenjena, razen tistih, ki so opisani v teh navodilih za uporabo. Test ne zazna velikih ali mikro mest preloma, mikrolecij ali mutacij.
- Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 ni namenjen za zaznavanje e13a2/b2a2 in e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) ali drugih manjših translokacij, ki so lahko prisotne v vzorcu periferne krvi bolnika z levkemijo.
- Za nekatere vzorce z zelo visokim številom belih krvničk (višjim od 30 milijonov celic/ml) lahko Xpert BCR-ABL Ultra p190 sporoči rezultat **NEVELJAVNO (INVALID)** (tip 2) zaradi prekomerne ravni BCR-ABL p190 ali ABL. Za dodatne informacije glejte Preglednica 2.
- Nekateri vzorci z zelo nizkimi ravnmi prepisa ABL ali z belimi krvničkami pod 150.000 celic/ml so lahko sporočeni kot **NEVELJAVNO (INVALID)** (tip 1). Nedoločen rezultat ne izključuje prisotnosti zelo nizkih ravni levkemičnih celic pri bolniku.
- Prepis KML p230 z mikro prelomnim mestom e19a2 lahko da BCR-ABL pozitiven rezultat pod LOD testa (0,0065 %), če je test izveden z visokimi ravnmi tarče (> 3,52 log nad LOD).

- Mutacije ali polimorfizem začetnega oligonukleotida ali vezavne regije sonde lahko vplivajo na zaznavanje novih ali neznanih različic, kar lahko privede do lažno negativnega rezultata.
- Nekateri bolniki z zelo nizkimi ravnmi prepisa BCR-ABL1 (t. j. pod LOD 0,0065 %) so lahko sporočeni kot **BCR-ABL p190 NI ZAZNAN [Dovolj prepisa ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Zato nezaznan rezultat ne izključuje prisotnosti nizkih ravni levkemičnih celic pri bolniku.
- Test je validiran za uporabo na GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

16 Vodnik za odpravljanje težav

Preglednica 2. Vodnik za odpravljanje težav

Rezultat testa	Možni vzroki	Predlogi
NEVELJAVNO (INVALID)	<p>Tip 1: Neuspešna endogena kontrola ABL:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Slaba kakovost vzorca • Inhibicija RT-PCR • Če je ABL Ct > 18 in/ali končna točka < 200 	<ul style="list-style-type: none"> • Preverite kakovost vzorca (npr., prekoračene zahteve glede shranjevanja vzorca, vključno s časom in temperaturo). • Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 17.1, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 1).
	<p>Tip 2: Ravni prepisa BCR-ABL ni mogoče določiti, ker vzorec vsebuje presežek prepisov BCR-ABL p190 in/ali ABL (Ct < 8)</p>	<p>Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 17.2, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) (koda 2008) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 2).</p>
NAPAKA (ERROR) (koda 2008)	Tlak presega omejitve (sporočilo o napaki 2008)	<ul style="list-style-type: none"> • Preverite kakovost vzorca • Preverite za skrajno povišano število levkocitov • Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 17.2, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) (koda 2008) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 2).
NAPAKA (ERROR) (koda 5006, 5007, 5008 in 5009) ^{a)}	Neuspešno preverjanje sonde	<p>Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in z novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 17.1, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 1).</p>
BREZ REZULTATA	Napaka zbiranja podatkov. Na primer, operater je zaustavil testiranje, ki se je izvajalo, ali pa je prišlo do izpada napajanja.	<p>Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in z novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 17.1, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 1).</p>

^a To ni izčrpen seznam kod NAPAK (ERROR).

17 Ponovna testiranja

17.1 Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 1)

Ponovite testiranje vzorcev z rezultatom **NAPAKA (ERROR)** ali **NEVELJAVNO (INVALID)** zaradi praga cikla (Ct) ABL, ki presega največjo veljavno mejno vrednost Ct ($Ct > 18$), ali če je končna točka pod prazno nastavitvijo (< 200). Glejte tudi Preglednica 2.

1. Izmerite količino vzorca krvi:

- Če je na voljo *zadostna* količina vzorca krvi, ponovite test iz prvotne epruvete za odvzem vzorca krvi in sledite postopku v Razdelek 11.2.1.
- OZIROMA
- Če je količina vzorca *nezadostna*, lahko ponovni test izvedete s preostalim lizatom iz Razdelek 11.2.1, korak 12.
 - a. Če je preostali lizat iz Razdelek 11.2.1, korak 12, shranjen zamrznjen, ga pred uporabo odmrznite in ogrejte na sobno temperaturo.
 - b. Poskrbite, da bo lizat dobro premešan z mešanjem vzorca z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund in ga postavite na stran za 3 minute, da se umirijo mehurčki. Nadaljujte s korakom 2.

2. Prenesite 1 ml shranjenega lizata v novo 50-mililitrsko konično epruveto.

3. V novo konično epruveto z lizatom dodajte 1,5 ml reagenta za lizo (LY).

4. Sledite korakom 14–17 v Razdelek 11.2.1 za pripravo končnega lizata.

5. Vložek odprite, tako da dvignete pokrovček vložka in prenesite celotno vsebino ampule reagenta za izpiranje (1) v komoro reagenta za izpiranje (z majhno odprtino). Glejte Slika 1.

6. Odpipetirajte vso vsebino pripravljenega vzorca v komoro za vzorec (velika odprtina). Glejte Slika 1.

7. Zaprite pokrovček vložka. Začnite test (glejte Razdelek 11.4).

17.2 Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) (koda 2008) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 2)

Ponovite testiranje vzorcev z ravnimi prepisov BCR-ABL in/ali ABL pod veljavno minimalno mejno vrednostjo Ct ($Ct < 8$) in/ali je presežena meja tlaka. Glejte tudi Preglednica 2.

1. Na dno nove 50-mililitrske konične epruvete dodajte 100 µl PK (proteinaze K).

2. Izmerite količino vzorca krvi:

- Če je na voljo *zadostna* količina vzorca krvi, ponovite test iz prvotne epruvete za odvzem vzorca krvi. Zagotovite, da je vzorec krvi dobro premešan tako, da epruveto za odvzem vzorca 8-krat obrnete neposredno pred pipetiranjem. Nadaljujte s korakom 3.

OZIROMA

- Če je količina vzorca *nezadostna*, lahko ponovni test izvedete iz preostalega lizata iz Razdelek 11.2.1, korak 12.
 - a. Če je preostali lizat iz Razdelek 11.2.1, korak 12, shranjen zamrznjen, ga pred uporabo odmrznite in ogrejte na sobno temperaturo. Če uporabljate lizat iz hladilnika, pred uporabo pustite, da se njegova temperatura izenači s sobno.
 - b. Poskrbite, da bo lizat dobro premešan z mešanjem vzorca z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund in ga postavite na stran za 3 minute, da se umirijo mehurčki. Nadaljujte s korakom 3.

3. V epruveto, ki že vsebuje proteinazo K, dodajte 50 µl izvornega vzorca krvi, če je na voljo, oziroma 80 µl shranjenega lizata iz Razdelek 11.2.1, korak 12.

4. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 3 sekunde.

5. Vzorec inkubirajte 1 minuto pri sobni temperaturi.

6. Sledite korakom 6–13 v Razdelek 11.2.2 za pripravo končnega lizata.

7. Vložek odprite, tako da dvignete pokrovček vložka in prenesite celotno vsebino ampule reagenta za izpiranje (1) v komoro reagenta za izpiranje (z majhno odprtino). Glejte Slika 1.

8. Odpipetirajte vso vsebino pripravljenega vzorca v komoro za vzorec (velika odprtina). Glejte Slika 1.

9. Zaprite pokrovček vložka. Začnite test (glejte Razdelek 11.4).

18 Pričakovane vrednosti

Razpon Xpert BCR-ABL Ultra p190 zajema ključne točke klinične odločitve za spremljanje KML in ALL. Pričakovane vrednosti so izražene kot odstotno razmerje med mRNA BCR-ABL p190 (e1a2) in mRNA ABL in so v razponu med 0,0065 % in 25 %. Meritve pod tem razponom se poročajo kot nezaznane ali pod mejo zaznavnosti (LOD). Meritve nad tem razponom se poročajo kot nad mejo določljivosti (LOQ). Za podrobnosti glejte Razdelek 14.

19 Klinična učinkovitost

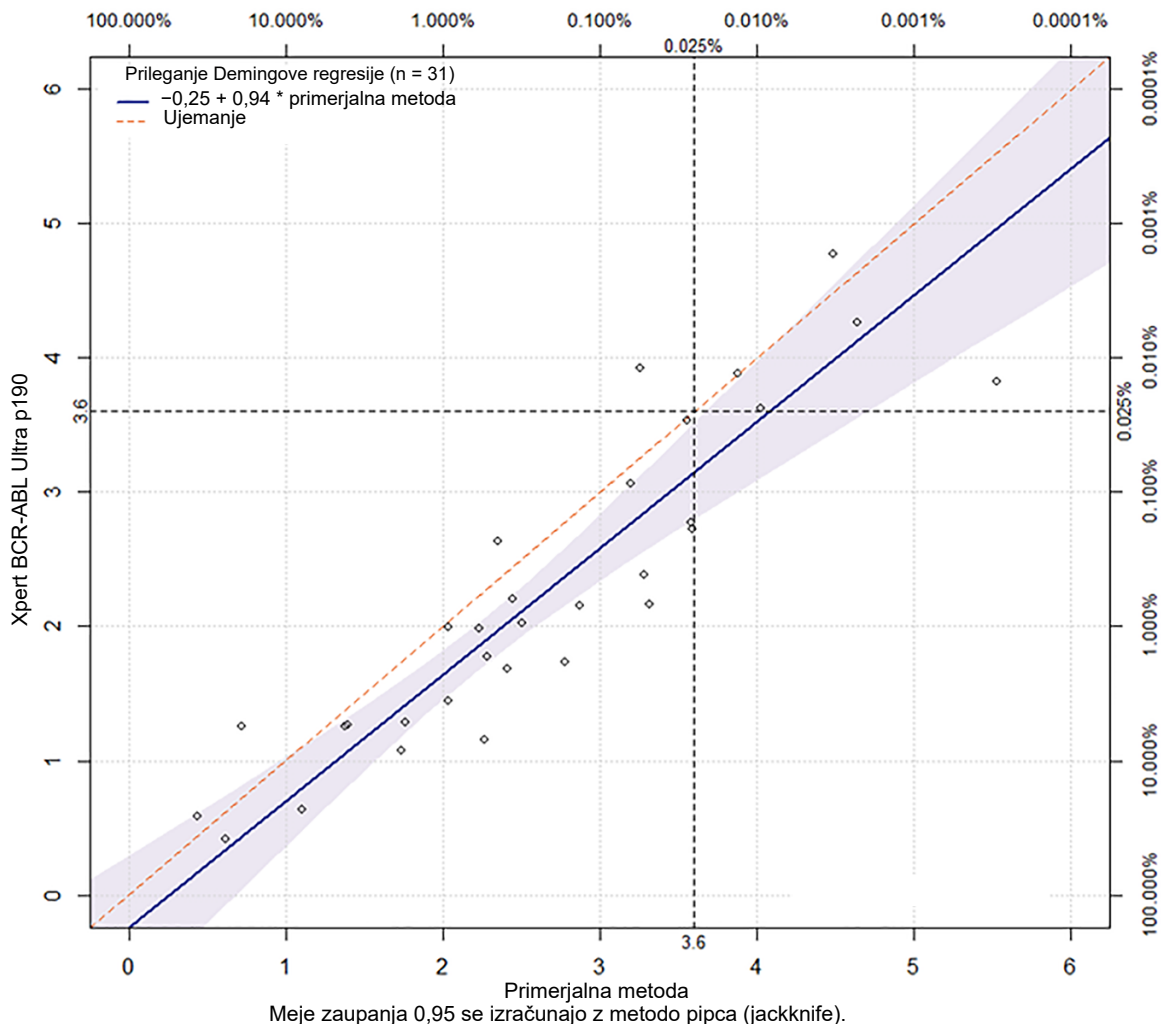
Klinična učinkovitost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 je bila ocenjena na treh ustanovah v ZDA kot del multicentrične klinične študije. Študija je bila izvedena z uporabo prospektivno zbranih vzorcev EDTA periferne krvi (PK) bolnikov z akutno limfoblastno levkemijo (ALL) in kronično mieloično levkemijo (KML) med spremljanjem zdravljenja. Dodatno je študija vključevala ostanke vzorcev, shranjene kot zamrznjene klinične lizate, ki so bili pripravljene iz EDTA PK iz iste populacije bolnikov. Učinkovitost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 so primerjali z molekularnim testom, ki zazna in kvantificira prepise mRNA za p190 [t(9;22)(q34;q11)] bolnikov, pozitivnih na KML in ALL, ki izražajo BCR-ABL1 fuzijski prepis tipa e1a2, in uporablja ABL kot endogeni kontrolni prepis mRNA.

V to študijo je bilo vključenih skupno 47 vzorcev. Od teh 47 vzorcev jih je imelo 9 izkoristek RNA < 100 ng/ml in so bili izključeni iz analiz. Skupno je bilo izključenih 9 vzorcev, tako da je v končni nabor podatkov vključenih 38 vzorcev. Pomembno je omeniti, da je vseh 9 izključenih vzorcev dalo veljavne rezultate testa Xpert BCR-ABL Ultra p190.

Za 38 vzorcev, vključenih v to študijo, so zbrali starost in spol. Vzorci so bili odvzeti 25 moškim (65,8 %) in 13 ženskam (34,2 %). Vsi vzorci so bili odvzeti bolnikom, starim med 20 in 88 let, s povprečno starostjo 54,5 let. Bolnikom z diagnozo ALL je bilo odvzetih triindvajset (61 %) vzorcev, bolnikom z diagnozo KML pa je bilo odvzetih 15 (39 %) vzorcev.

Od 38 primernih vzorcev je bilo sedem (7) vzorcev izključenih iz Demingove regresije, ker so bili negativni na vsaj enega od testov. Enaintrideset vzorcev znotraj kvantitativnih razponov obeh testov je bilo vključenih v Demingovo regresijsko analizo.

Demingova regresijska analiza za rezultate odstotnega razmerja (PR) kaže dobro korelacijo med meritvami s Xpert BCR-ABL Ultra p190 in primerjalno metodo v smislu merjenja PR. Presečišče je bilo 0,01, naklon pa 1,08. Oba sta izpolnjevala merila sprejemljivosti. Pearsonov koeficient korelacije (r) je znašal 0,814. Izvedena je bila logaritemska stopnja zmanjšanja (LR) za normalizacijo porazdelitve podatkov PR. Izvedena je bila Demingova regresijska analiza z uporabo LR meritev in je predstavljena v Slika 10 spodaj.



Slika 10. Demingova regresija za LR

Slika 10 kaže visoko korelacijo med Xpert BCR-ABL Ultra p190 in testov primerjalne metode za meritve LR. Demingova regresija ima naklon 0,94 in presečišče $-0,25$. Rezultati Demingove regresije za vrednosti LR so prav tako izpolnjevali merila sprejemljivosti za presečišče in naklon. Celotna korelacija (Pearson) $r = 0,904$ je bila visoka.

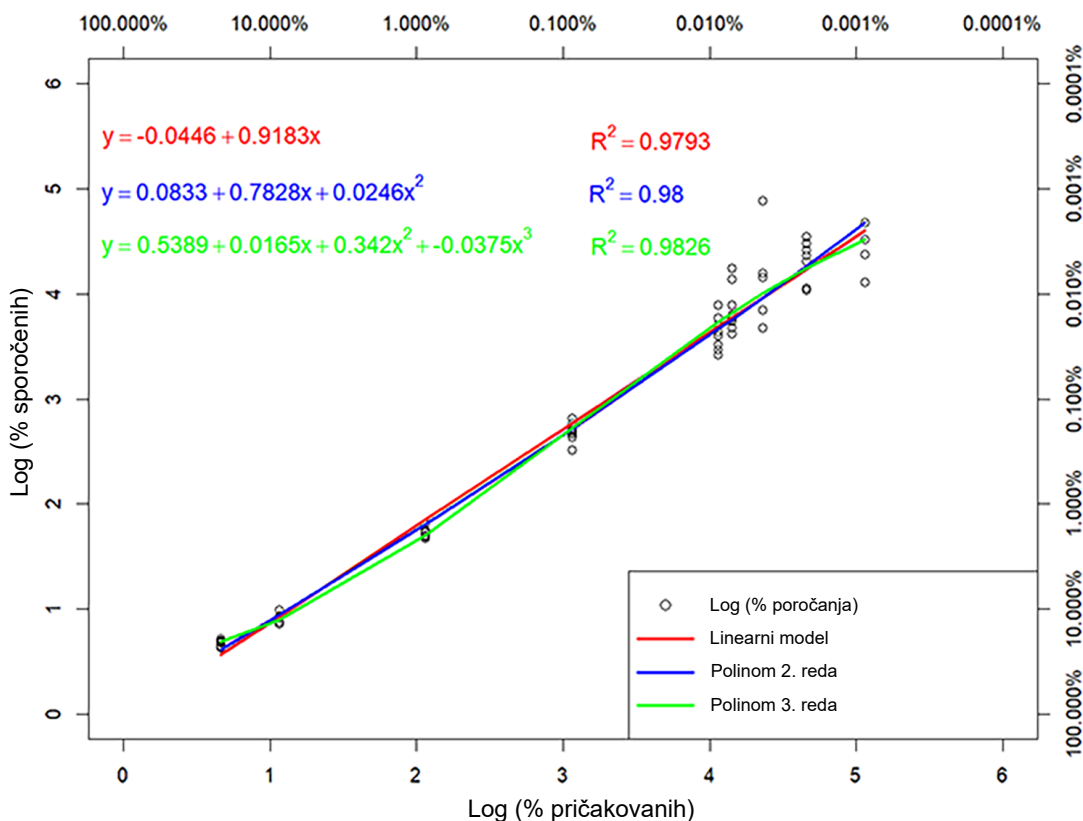
Pozitivna napovedana pristranskost 0,01 v odstotkih poročanja (LR: $-0,39$) in porazdelitev kaže, da za večino vzorcev test Xpert izmeri višjo koncentracijo prepisa p190 v primerjavi s primerjalno metodo. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 je pokazal visoko korelacijo 0,904 s primerjalno metodo in je imel nizko pristranskost z uporabo meritev LR. Delež nedoločenosti, opažen v tej študiji, je bil 0 %, izpolnjena pa so bila tudi merila sprejemljivosti nedoločenih ≤ 5 %. Test Xpert BCR-ABL Ultra p190 je pokazal sprejemljivo skladnost s primerjalno metodo, kar dokazujeta naklon in presečišče v Demingovi regresijski analizi.

20 Analizna učinkovitost

20.1 Linearnost/dinamično območje

Linearnost je bila ocenjena za manjše mesto preloma, e1a2, z uporabo celotne RNA celične linije ALL SUP-B15. Celotna RNA prepisa z BCR-ABL p190 je bila razredčena v lizatu ozadja (angl. background lysate), pripravljenem iz ALL negativnega kliničnega vzorca, do ciljnih razponov ~ 25 % do 0,001 % (LR [log stopnja zmanjšanja] 0,60 do LR5). Člani panela, vključno z negativno ravnilo, so bili testirani z dvema serijama kompletov v 4 replikatih na serijo kompletov.

Testiranje in statistična analiza sta bila izvedena v skladu s CLSI EP06-A. Izvedena je bila linearna regresijska analiza za polinome prvega, drugega in tretjega reda. Rezultat za prelomno mesto e1a2 je bil smatran kot linearen, če so bili koeficienti polinomne regresije neznačilni (p-vrednosti > 0,05). Linearna regresijska krivulja je prikazana v Slika 11 spodaj.



Slika 11. Linearne regresijske krivulje za prepis prelomnega mesta e1a2

Ocenjena presečišča regresije, nakloni in vrednosti R² linearnega modela so prikazani v Preglednica 3.

Preglednica 3. Koeficienti regresije linearnega modela

Mesto preloma	Presečišče	Naklon	R ²
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Podatki skupaj podpirajo opažanje linearosti od ~25 %/LR 0,60 do 0,001 %/LR5 z največjim SD 0,26. Razpon poročanja se razteza od meja linearosti pri 25 %/LR 0,6 do LOQ pri 0,0065 %/LR 4,19.

20.2 Analizna občutljivost (meja zaznavnosti, meja določljivosti, meja slepega testiranja)

Meja zaznavnosti (LOD) je bila ocenjena za mesto preloma e1a2 s testiranjem serijskih redčitev ALL-pozitivnih kliničnih vzorcev [> 10 %). Podatki o redčenjih so bili zbrani in LOD je bil ocenjen z uporabo regresijske analize probit. Nastala analiza je dala ocenjeni LOD 0,0070 % za mesto preloma e1a2.

LOD je bil potrjen s prilagoditvijo neparometrične metode, opisane v dokumentu EP17-A2 s smernicami CLSI (Preglednica 4). Trije edinstveni ALL-pozitivni vzorci, ki predstavljajo mesto preloma e1a2, so bili redčeni na ciljno raven 0,0065 %. 4 operaterji so testirali dvesto petnajst replikatov s 3 serijami kompletov testov v 3 dneh.

Preglednica 4. Potrjena meja zaznavnosti v %

Mesto preloma	Pozitivni/replikati	% pozitivnih	Povprečni odstotni delež
e1a2	206/215	96.0%	0.0065%

Xpert BCR-ABL Ultra p190 LOD za e1a2 je 0,0065 %.

Meja določljivosti (LOQ) je bila ocenjena s podatki, pridobljenimi iz študij LOD in linearnosti. Povprečje in standardni odklon za odstotne vrednosti (%) BCR-ABL p190/ABL sta bila izračunana za replikate pri ravneh, ki so enake LOD ali več, s pozitivnostjo večjo ali enako 95 %. LOQ je naveden kot minimalni % BCR-ABL p190/ABL, ki poroča, da ga je mogoče zanesljivo kvantificirati in dosegati cilj natančnosti zaznavanja prepisa e1a2 s pozitivnostjo večjo ali enako 95 % z logaritemsko stopnjo zmanjšanja (LR) standardnega odklona $\leq 0,36$ LR. LOQ testa je omejen z LOD testa, zato je bil LOQ določen kot enak LOD, 0,0065 %. Rezultati so bili ovrednoteni tudi glede na merila sprejemljivosti za standardni odklon (SD) $\leq 0,36$ LR in so bili znotraj meril sprejemljivosti.

Študija meje slepega vzorca (LOB) je bila izvedena, da bi ocenili najvišje razmerje % BCR-ABL p190/ABL, ki bo verjetno odkrito v ≥ 95 % p190-negativnih vzorcih EDTA polne krvi. Test LOB je bil določen iz 387 veljavnih podatkovnih točk v necenzurirani neparametrični analizi, kot je opisano v CLSI EP17-A2 za oceno LOB 0,00032 % BCR-ABL p190/ABL.

20.3 Analitična specifičnost

Analitična specifičnost testa Xpert® BCR-ABL Ultra p190 je bila ocenjena s testiranjem vzorcev EDTA polne krvi dvajsetih (20) zdravih donorjev (ne-CML in ne-ALL). Vsak vzorec je bil testiran v štirih replikatih.

Signal BCR-ABL p190 je bil zaznan pri enem od 80 replikatov, kar kaže, da ima test Xpert® BCR-ABL Ultra p190 analitično specifičnost za prepis BCR-ABL p190 98,8 %.

20.4 Navzkrižno onesnaženje

Opravljena je bila študija, ki je pokazala, da samostojni vložki GeneXpert za enkratno uporabo preprečujejo navzkrižno onesnaženje iz vložkov, ki so zaporedno v obdelavi v istem modulu. Da bi to dokazali, so bili negativni vzorci izvedeni po zelo visoko pozitivnih vzorcih v istem modulu GeneXpert. Ta študija je vključevala obdelavo **NEGATIVNEGA (NEGATIVE)** normalnega EDTA vzorca (ALL-negativna kri) v istem modulu GeneXpert takoj po visoko **POZITIVNEM (POSITIVE)** vzorcu (simulirana ALL-pozitivna kri) s celicami SUP-B15, ki so bile dodane v ALL-negativno kri, da so dobili ≥ 10 %. Shema testiranja se je ponovila 10-krat za vsak vzorec, začela in končala se je z negativnim, na dveh modulih GeneXpert, kar je dalo 21 negativnih in 20 pozitivnih na modul. Vseh dvajset BCR-ABL p190 pozitivnih vzorcev je bilo pravilno sporočenih kot **BCR-ABL p190 ZAZNAN [#,## %] (BCR-ABL p190 DETECTED [#,##%])**, medtem ko je bilo vseh enaindvajset BCR-ABL p190 negativnih vzorcev pravilno sporočenih kot **BCR-ABL p190 NI ZAZNAN [Dovolj prepisa ABL] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

20.5 Morebitne moteče snovi

Ta študija je ocenjevala pet snovi, ki bi lahko bile prisotne v vzorcih EDTA polne krvi in bi lahko motile učinkovitost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190. Testirane sestavine in ravni (glejte Preglednica 5) so temeljile na smernici iz dokumenta CLSI EP07-A2. Moteče snovi so bile testirane v ozadju vzorcev EDTA polne krvi z ALL, ki so jim dodali celice ALL SUP-B15, predstavljali pa so tri ravni s petimi vzorci na raven: > 1%, 0,1–0,02 % in negativno. Testne kontrole so sestavljale celice SUP-B15 v EDTA polni krvi s posameznimi ravnmi prepisa BCR-ABL p190 brez motečih snovi. Vsak vzorec ALL je bil testiran v odsotnosti in prisotnosti petih posameznih motečih snovi v 4 replikatih na stanje.

Snov je bila smatrana kot nemoteča, če je bilo v njeni prisotnosti opaženo povprečno odstotno razmerje znotraj 3-kratne razlike v primerjavi s kontrolo.

Z nobeno od motečih snovi, ocenjenih v tej študiji, s testom Xpert BCR-ABL Ultra p190 niso opazili klinično pomembnih inhibitornih učinkov. Čeprav so v nekaterih testnih pogojih opazili nekatere variabilnosti in statistično značilne razlike (p-vrednost < 0,05), so bila sporočena odstotna razmerja za pogoje testa in kontrol znotraj sprejemljivega 3-kratnega razpona.

Preglednica 5. Potencialno moteče snovi, testirane z Xpert BCR-ABL Ultra p190

Moteče snovi	Testirana koncentracija
Nekonjugiran bilirubin	20 mg/dl
Holesterol, skupni	500 mg/dl
Trigliceridi, skupni (lipidi)	3000 mg/dl
Heparin	3500 e./l
EDTA (premalo vzorca)	900 mg/dl

21 Ponovljivost in natančnost

Ponovljivost in natančnost testa Xpert BCR-ABL Ultra p190 sta bili ocenjeni v multicentrični študiji v skladu z dokumentom CLSI EP05-A3 "Vrednotenje natančnosti učinkovitosti kvantitativnih merilnih metod, odobrena smernica" in CLSI EP15-A3, »Uporabniško preverjanje učinkovitosti za natančnost in resničnost, odobrena smernica.«

Preglednica 6 prikazuje panel petih vzorcev, ki so bili pripravljeni in vključeni v tej študiji.

Preglednica 6. Panel ponovljivosti za Xpert BCR-ABL Ultra p190

Št. vzorca	Opis panela	Zaznana raven BCR-ABL p190/ABL (odstotno razmerje)
1	LR1: e1a2	~10 %
2	LR2: e1a2	~1 %
3	LR3: e1a2	~0,1 %
4	LR3.7: e1a2	~0,02 %
5	Negativno	Ni zaznan

Vsakega od petih članov panela sta dva različna operaterja v treh različnih centrih testirala v duplikatu dvakrat na dan v šestih različnih dnevih. Uporabili so tri serije kompletov Xpert BCR-ABL Ultra p190 in vsak operater je izvajal testiranje z eno serijo (3 centri × 2 operaterja × 3 serije × 2 dni (2 dni testiranja na serijo vložkov) × 2 izvedbi × 2 replikata = 144 replikatov/člana panela).

Preglednica 7. Standardni odklon in koeficient variacije (CV) z odstotnim razmerjem (PR)

Član nabora	N	Povprečje	Študijsko mesto		Op		Serija		Dan		Izvedba		Znotraj testa		Skupno	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (razmerje ~10 %)	144	14,04	0,20	1,44	0,00	0,00	3,14	22,35	0,55	3,94	0,00	0,00	1,63	11,60	3,58	25,53
LR2: e1a2 (razmerje ~1 %)	144	1,65	0,14	8,58	0,00	0,00	0,61	36,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	19,35	0,70	42,45
LR3: e1a2 (razmerje ~0,1 %)	144	0,16	0,01	6,15	0,00	0,00	0,08	50,18	0,01	5,26	0,00	0,00	0,04	24,42	0,09	56,39
LR3.7: e1a2 (razmerje ~0,02 %)	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 En vzorec je dal nedoločen rezultat tako pri testu kot tudi ponovljenem testu.

Skupni koeficient variacije (CV %) odstotnega razmerja, ki poroča o kvantitativnih vrednostih za pozitivne vzorce, je bil v razponu od 25,53 do 77,30. Komponenta variance za vrednosti poročanja PR ni preseгла 50 % skupne variance testa za naslednje dejavnike: med študijskimi mesti, med operaterji, med dnevi in med serijami. Analiza variance nad kvantitativno vrednostjo povprečnega PR je dala podobne rezultate.

Preglednica 8. Standardni odklon in koeficient variacije (CV) logaritemske stopnje zmanjšanja (LR)

Član nabora	N	Povprečje	Študijsko mesto		Op		Serija		Dan		Izvedba		Znotraj testa		Skupno	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1: e1a2 (razmerje ~10 %)	144	0,86	0,01	1,47	0,00	0,00	0,10	11,17	0,02	2,53	0,00	0,00	0,05	5,87	0,11	26,17
LR2: e1a2 (razmerje ~1 %)	144	1,81	0,03	1,93	0,00	0,00	0,15	8,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	3,64	0,17	40,75
LR 3: e1a2 (razmerje ~0,1 %)	144	2,84	0,03	1,06	0,00	0,00	0,22	7,60	0,01	0,51	0,00	0,00	0,09	3,34	0,24	59,16
LR3.7: e1a2 (razmerje ~0,02 %)	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 En vzorec je dal nedoločen rezultat tako pri testu kot tudi ponovljenem testu.

Skupni odstotek koeficienta variacije (CV), ki poroča o kvantitativnih vrednostih LR za pozitivne vzorce, je bil v razponu od 26,17 do 88,68.

22 Reference

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 (KML) 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 (glejte zadnjo izdajo). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (glejte zadnjo izdajo).
11. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. UREDBA (ES) št. 1272/2008 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju označevanja in pakiranju snovi in mešanic, ki spreminja in razveljavlja direktivi 67/548/EGS in 1999/45/ES (ki spreminja uredbo (ES) št. 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 Kraji sedeža družbe Cepheid

Sedež družbe

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sedež v Evropi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

24 Tehnična pomoč

Preden stopite v stik z oddelkom za tehnično podporo Cepheid, zberite naslednje informacije:

- Ime izdelka
- Številka lota
- Serijska številka instrumenta
- Sporočila o napakah (če so se prikazala)
- Različica programske opreme in, če je primerno, številko značke računalniškega servisa

Združene države Amerike




















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

Francija

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

Informacije za stik z vsemi oddelki za tehnično podporo Cepheid so na voljo na naši spletni strani: www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

25 Preglednica simbolov

Simbol	Pomen
	Kataloška številka
	Oznaka CE – skladnost z evropskimi predpisi
	In vitro diagnostični medicinski pripomoček
	Številka serije
	Ne uporabite ponovno
	Rok uporabnosti
	Pozor
	Glejte navodila za uporabo
	Izdelovalec
	Država izdelave
	Vsebina zadostuje za testov
	Kontrola
	Omejitev temperature
	Biološka tveganja
	Vnetljive tekočine
	Toksično za reprodukcijo in organe
	Pooblaščen predstavnik v Evropski skupnosti
	Pooblaščen zastopnik v Švici
	Uvoznik



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Faks: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300

Faks: + 33 563 825 301



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



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



26 Zgodovina revizij

Opis sprememb: 302-6673, Rev. B to Rev. C

Namen: Posodobitve navodil za uporabo

Razdelek	Opis spremembe
8.3	Dodano opozorilo s prepovedjo odpiranja ali spreminjanja odpadnih vložkov.
11.2.1	Posodobljena opomba o preostalem lizatu.
17	Posodobljena navodila za ponovno testiranje in popravljene reference razdelka.
19	Posodobljene oznake diagrama na sliki 10.
21	Posodobljena vsebina o ponovljivosti in natančnosti.
25	Dodan pooblaščen zastopnik za Švico (CH REP) in simboli uvoznika ter opredelitve v tabeli simbolov. Dodan pooblaščen zastopnik za Švico (CH REP) in informacije uvoznika z naslovom v Švici.
26	Posodobljena preglednica Zgodovina revizij.