

Xpert[®] BCR-ABL Ultra

REF GXBCRABL-10

Gebrauchsanweisung

IVD CE

Marken, Patente und Urheberschutzangaben

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

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

© 2019–2022 Cepheid.

Cepheid[®], das Cepheid-Logo, GeneXpert[®] und Xpert[®] sind Marken von Cepheid, die in den USA und anderen Ländern eingetragen sind.

Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

MIT DEM ERWERB DIESES PRODUKTS WIRD DEM KÄUFER DAS NICHT ÜBERTRAGBARE RECHT ZU SEINER VERWENDUNG ENTSPRECHEND DER VORLIEGENDEN GEBRAUCHSANWEISUNG GEWÄHRT. ES WERDEN KEINE ANDEREN RECHTE ÜBERTRAGEN, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH STILLSCHWEIGEND ODER DULDEND. DARÜBER HINAUS GEHT AUS DEM ERWERB DIESES PRODUKTS KEIN RECHT DES WEITERVERKAUFS HERVOR.

© 2019–2022 Cepheid.

Beschreibung der Änderungen siehe Abschnitt 27 Revisionsverlauf.

Xpert[®] BCR-ABL Ultra

In-vitro-Diagnostikum

1 Markenname

Xpert[®] BCR-ABL Ultra

2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert BCR-ABL Ultra

3 Verwendungszweck

Der Xpert BCR-ABL Ultra-Test ist ein *In-vitro*-Diagnostiktest zur Quantifizierung von BCR-ABL1- und ABL1-mRNA-Transkripten in peripheren Blutproben von Patient/innen, bei denen bereits eine t(9;22)-positive chronische myeloische Leukämie (CML) mit Expression der BCR-ABL1-Fusionstranskripte Typ e13a2 und/oder e14a2 diagnostiziert wurde. Der Test verwendet das Prinzip der automatisierten, quantitativen Echtzeit-Reverse-Transkription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR). Der Xpert BCR-ABL Ultra-Test ist für die Ermittlung der prozentualen Verhältnisse von BCR-ABL1 zu ABL1 auf der Internationalen Skala (IS), die auch als molekulare Log-Reduktion (MR-Wert) gegenüber einer Baseline von 100 % (IS) ausgedrückt werden, bei t(9;22)-positiven CML-Patient/innen während des Monitorings der Behandlung mit Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs) bestimmt.

Der Test kann nicht zwischen den Fusionstranskripten e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2 unterscheiden und dient auch nicht der Überwachung anderer seltener Fusionstranskripte von t(9;22). Dieser Test ist nicht zur Diagnose einer CML bestimmt.

Der Xpert BCR-ABL Ultra-Test ist nur zur Verwendung auf dem Cepheid GeneXpert[®] Dx-System und dem GeneXpert Infinity-System bestimmt.

4 Zusammenfassung und Erklärung

Chronische myeloische Leukämie (CML) ist eine der häufigsten bösartigen Bluterkrankungen und macht 15–20 % aller Leukämieerkrankungen aus.¹ Die Inzidenz von CML beträgt etwa 1,8/100.000, was bedeutet, dass bei 1 von 55.555 Männern und Frauen im Laufe ihres Lebens die Diagnose der CML gestellt wird.² Über 95 % der Patienten mit CML besitzen das charakteristische Philadelphia-Chromosom (Ph1), das aus einer reziproken Translokation zwischen den langen Armen der Chromosomen 9 und 22 stammt.² Im Verlauf dieser Translokation wird das Abelson- bzw. ABL1-Gen (nachfolgend „ABL-Gen“) von Chromosom 9 auf den BCR-Bereich (Breakpoint Cluster Region) von Chromosom 22 transferiert, was zur Entstehung des Fusionsgens BCR-ABL1 (nachfolgend „BCR-ABL“) führt. Dieses Fusionsgen produziert BCR-ABL, eine Tyrosinkinase mit deregulierter Aktivität, die eine Schlüsselrolle in der Entstehung von CML spielt.³ Der Xpert BCR-ABL Ultra dient zum Nachweis der mRNA-Transkripte der Chromosomen-Translokation für die p210-Form von zwei Major-Breakpoint-Regionen, die Translokationen e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2.

Der klinische Nutzen des Monitorings der BCR-ABL-mRNA-Konzentration mittels RT-PCR wurde anhand der Studie „International Randomized Study of Interferon and STI571“ (IRIS) untersucht, in der Patienten eine Interferontherapie und/oder eine Behandlung mit einem Tyrosinkinase-Inhibitor (TKI) erhielten. Die BCR-ABL-Ergebnisse normalisierten sich auf einen Wert unterhalb einer standardisierten Baseline, die allen drei an der Studie teilnehmenden Laboren gemeinsam war.⁴ Infolgedessen wurde vorgeschlagen, dass sich Assays zum Monitoring von BCR-ABL an eine internationale Skala (IS) anpassen, die sich nach zwei in der IRIS-Studie definierten Werten richten soll. So können die Ergebnisse anhand einer allgemeingültigen Skala zum Ausdruck gebracht werden.⁵ Der erste dieser Werte ist die standardisierte Baseline, die als 100 % (IS) definiert ist. Der zweite Wert ist die gute molekulare Remission (Major Molecular Response, MMR), die als 3-

Log-Reduktion im Vergleich zur standardisierten Baseline mit 0,10 % (*IS*)/MR3 definiert ist. Eine 3-Log-Reduktion steht in Zusammenhang mit einer günstigen Überlebensprognose.⁶ So ist ein *IS*-standardisiertes molekulares Testverfahren für Kliniker eine wichtige Hilfe bei der Behandlung ihrer CML-Patienten.⁶

Der Xpert BCR-ABL Ultra Test quantifiziert die BCR-ABL-mRNA-Konzentration in % (*IS*) mittels Kalibrierung des Assays auf das erste internationale genetische Referenzpanel der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für die Quantifizierung von BCR-ABL-mRNA. Entsprechend dem empfohlenen Protokoll⁷ entwickelte und validierte Cepheid sekundäre quantitative Standards, die an das primäre Referenzpanel der WHO angepasst sind. So kann ein chargenspezifischer Umrechnungsfaktor ermittelt werden, der auch Assay-Effizienz (*E*) und Skalierungsfaktor (*SF*) für jede Charge Xpert BCR-ABL Ultra-Kits umfasst. Die Wirksamkeit der Kalibrierung relativ zu den Sekundärstandards wird laufend überwacht.

5 Verfahrensprinzip

Der Xpert BCR-ABL Ultra ist ein automatisierter Test zur Quantifizierung der BCR-ABL-Transkripte als Verhältnis von BCR-ABL/ABL. Der Test verwendet das Prinzip der automatisierten, quantitativen Echtzeit-Reverse-Transkription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR).

Der Test wird auf dem Cepheid GeneXpert Dx-System und GeneXpert Infinity-System durchgeführt. Die GeneXpert-Systeme automatisieren und integrieren Probenreinigung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenz in einfachen oder komplexen Proben mithilfe von RT-PCR- und PCR-Assays. Die Systeme bestehen aus einem Instrument, einem Computer und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests und zum Anzeigen der Ergebnisse. Das System arbeitet mit GeneXpert-Kartuschen (Einwegartikel), die die RT-PCR- und PCR-Reagenzien enthalten und in denen die Reaktionen ablaufen. Eine vollständige Beschreibung des jeweiligen Systems ist im *GeneXpert Dx System Operator Manual* bzw. im *GeneXpert Infinity System Operator Manual* zu finden.

Der Xpert BCR-ABL Ultra beinhaltet Reagenzien zum Nachweis der aus zwei Major-Breakpoints von p210, den Translokationen e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2, entstandenen BCR-ABL-Fusionsgene und des ABL-Transkripts als endogene Kontrolle in peripheren Blutproben.^{7,8,9,10,11} Die Menge an BCR-ABL-Transkript in der Patientenprobe wird mithilfe der GeneXpert-Software als Verhältnis BCR-ABL/ABL sowie in Form einer molekularen Log-Reduktion (MR-Wert) gegenüber einer Baseline von 100 % auf der Internationalen Skala (*IS*) ausgegeben.

Jeder Xpert BCR-ABL Ultra Test enthält zwei Kontrollen, die endogene ABL-Kontrolle und die Sondenprüfungskontrolle (PCC). Die endogene ABL-Kontrolle normalisiert die BCR-ABL-Zielsequenz und sorgt dafür, dass im Test ausreichend Probe verwendet wird. Mit der PCC werden die Rehydrierung der Reagenzien und die Befüllung des PCR-Röhrchens überprüft. Außerdem werden Vorhandensein und Funktionsfähigkeit aller Reaktionskomponenten in der Kartusche, einschließlich Sonden und Farbstoffen, bestätigt.

6 Reagenzien und Instrumente

6.1 Im Lieferumfang enthaltenes Material

Das Xpert BCR-ABL Ultra-Kit (GXBCRABL-10) enthält ausreichend Reagenzien zur Bearbeitung von 10 Patienten- oder Qualitätskontroll-Proben. Das Kit enthält die folgenden Materialien:

Xpert BCR-ABL Ultra-Reagenzien	Je 10 pro Kit
• Proteinase K (PK)	10 x 130 µl pro Fläschchen
• Lysereagenz (LY) (Guanidiniumchlorid)	10 x 5,3 ml pro Fläschchen
• Waschreagenz (1)	10 x 2,9 ml pro Ampulle
• Ethanol	
• Guanidiniumthiocyanat	
Xpert BCR-ABL Ultra-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern	10 pro Kit
• Kügelchen 1, 2, 3 und 4 (gefriergetrocknet)	Je 1 pro Kartusche
• Spülreagenz	2,0 ml pro Kartusche

- Elutionsreagenz 2,5 ml pro Kartusche

CD 1 pro Kit

- Assay-Definitionsdatei (ADF)
- Anweisungen zum Importieren der ADF in die GeneXpert-Software
- Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)

Analysezertifikat 1 pro Kit

Anmerkung

Sicherheitsdatenblätter (SDB) sind auf den Webseiten www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com unter der Registerkarte **SUPPORT** erhältlich.

Anmerkung

Das bovine Serumalbumin (BSA) in den Kügelchen dieses Produkts wurde ausschließlich aus bovinem Plasma gewonnen und hergestellt, das aus den USA stammt. Die Tiere erhielten keinerlei Wiederkäufer- oder anderes Tierprotein mit dem Futter und wurden ante- und post-mortem Tests unterzogen. Bei der Verarbeitung wurde das Material nicht mit anderen Tiermaterialien vermischt.

6.2 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- GeneXpert Dx Instrument oder eines der GeneXpert Infinity Systeme (Bestellnummer variiert abhängig von der Konfiguration): GeneXpert Instrument, Computer, Barcodescanner und Benutzerhandbuch.
- Für das GeneXpert Dx-System: GeneXpert Dx-Software ab Version 5.1
- Für die Systeme GeneXpert Infinity-80 und Infinity-48s: Xpertise-Software ab Version 6.6
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- Vortex-Mixer
- Mikrozentrifuge (mindestens 1000 X g)
- Pipetten und Aerosolfilter-Pipettenspitzen
- Konische 50-ml-Röhrchen
- Reines Ethanol in Reagenzqualität

6.3 Empfohlene, jedoch nicht mitgelieferte Materialien

Das Xpert BCR-ABL-IS-Panel C130, Bestellnummer C130, beinhaltet Qualitätskontrollen von Maine Molecular Quality Controls, Inc.

7 Aufbewahrung und Handhabung

- Den Inhalt des Xpert BCR-ABL Ultra Kits bei 2–8 °C bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum aufbewahren.
- Den Kartuschendeckel erst kurz vor der Durchführung des Assays öffnen.
- Keine Kartuschen mit abgelaufenem Verfallsdatum verwenden.
- Das Waschreagenz ist eine klare, farblose Flüssigkeit. Wenn das Waschreagenz trübe oder verfärbt ist, darf es nicht verwendet werden.
- Zwanzig (20) Minuten vor Testbeginn Blutprobe, Kartusche und die Reagenzien zur Probenvorbereitung aus dem Lagerort entnehmen und auf Zimmertemperatur (20 °C–30 °C) kommen lassen.

8 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

8.1 Allgemeines

Zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.

Alle biologischen Proben und auch die gebrauchten Kartuschen und Reagenzien sind als potenziell infektiös zu behandeln. Da es oft unmöglich ist, potenziell infektiöse Proben zu erkennen, sind alle biologischen Proben gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln. Richtlinien für den Umgang mit Patientenproben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention¹² und vom Clinical and Laboratory Standards Institute¹³ erhältlich.

Die in der jeweiligen Einrichtung geltenden Sicherheitsvorkehrungen für den Umgang mit Chemikalien und biologischen Proben sind zu befolgen.

Die Leistungsmerkmale dieses Tests wurden ausschließlich mit in EDTA-Röhrchen entnommenem Blut ermittelt. Die Leistung dieses Tests bei Verwendung anderer Probentypen oder Proben wurde nicht untersucht.

Verlässliche Ergebnisse hängen vom sachgemäßen Vorgehen bei Entnahme, Transport, Aufbewahrung und Bearbeitung der Patientenprobe ab. Falsche Testergebnisse können bei unsachgemäßer Entnahme, Handhabung oder Lagerung der Patientenprobe, technischen Fehlern oder Probenverwechslung ausgegeben werden, oder weil das Zieltranskript in der Probe unter der Nachweisgrenze des Tests liegt. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist die sorgfältige Einhaltung der Anweisungen in der Packungsbeilage sowie im *GeneXpert Dx System Operator Manual* und im *GeneXpert Infinity System Operator Manual* erforderlich.

Wenn der Test mit Kits oder Proben durchgeführt wird, die außerhalb des für die Aufbewahrung empfohlenen Temperaturbereichs und Zeitraums gelagert wurden, kann er falsche oder ungültige Ergebnisse ausgeben.

Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben. Bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien sind die Umweltschutzvorschriften der jeweiligen Einrichtung einzuhalten. Diese Materialien können chemischen Sondermüll darstellen, der gemäß bestimmten nationalen oder regionalen Vorgehensweisen entsorgt werden muss. Falls die Vorschriften des jeweiligen Landes bzw. der jeweiligen Region keine klaren Anweisungen zur ordnungsgemäßen Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen der WHO (Weltgesundheitsorganisation) entsorgt werden.¹⁴

8.2 Probe

Während des Transports der Proben sind die vorgeschriebenen Lagerbedingungen einzuhalten, um die Unversehrtheit der Probe zu gewährleisten (siehe Abschnitt 10). Die Probenstabilität unter anderen als den empfohlenen Transportbedingungen wurde nicht untersucht.

Vollblutproben nicht einfrieren.

Ein sachgemäßes Vorgehen bei Entnahme, Aufbewahrung und Transport der Proben ist für korrekte Ergebnisse unabdingbar.

8.3 Test/Reagenz

Keine Xpert BCR-ABL Ultra-Reagenzien durch andere Reagenzien ersetzen.

Der Deckel der Xpert BCR-ABL Ultra-Kartusche darf nur für die Zugabe von Probe und Waschreagenz geöffnet werden.

Keine Kartuschen verwenden, die nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.

Die Kartusche nicht schütteln. Wenn die Kartusche nach dem Öffnen des Kartuschendeckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig.

Das Etikett mit der Proben-ID nicht auf den Kartuschendeckel oder über das Barcode-Etikett der Kartusche kleben.

Kartuschen mit beschädigtem Barcode-Etikett dürfen nicht verwendet werden.

Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.

Es wird empfohlen, dass die Xpert BCR-ABL Ultra-Kartuschen zum Testen Zimmertemperatur (20 °C–30 °C) haben.

Jede Einweg-Xpert BCR-ABL Ultra-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests. Verbrauchte Kartuschen nicht wiederverwenden.

Pipettenspitzen nicht wiederverwenden.

Kartuschen, die nass aussehen oder deren Deckelversiegelung aufgebrochen zu sein scheint, dürfen nicht verwendet werden.

Xpert BCR-ABL Ultra-Kartuschen nicht verwenden, wenn ein Reagenz in die falsche Öffnung gegeben wurde.

Xpert BCR-ABL Ultra-Kartuschen nach Abschluss des Tests nicht öffnen.

Zu hohe Konzentrationen weißer Blutkörperchen können zur Druckbildung in der Kartusche und somit zu einem Abbruch des Testlaufs führen.

Bestimmen Sie einen Pipetten- und Reagenziensatz, der ausschließlich für die Probenvorbereitung verwendet wird.


Saubere Laborkittel und Handschuhe verwenden. Die Handschuhe nach jeder Probe wechseln.

Falls Proben oder Kontrollen verschüttet wurden, die verschüttete Flüssigkeit mit Papiertüchern aufsaugen; dabei Handschuhe tragen. Anschließend den betroffenen Bereich gründlich mit einer frisch angesetzten, 1:10 verdünnten haushaltsüblichen Chlorbleiche reinigen. Die Endkonzentration von aktivem Chlor sollte unabhängig von der im jeweiligen Land üblichen Chlorbleiche 0,5 % betragen. Die Chlorbleiche mindestens zwei Minuten lang einwirken lassen. Die Arbeitsfläche vollständig trocknen lassen und dann Bleichmittelrückstände mit 70%igem denaturiertem Ethanol entfernen. Anschließend zunächst die Oberfläche vollständig trocknen lassen. Oder im Falle von Kontamination oder verschütteten Flüssigkeiten die Standardverfahren der jeweiligen Einrichtung befolgen. Im Falle von kontaminierten Geräten die Herstellerempfehlungen zur Dekontamination des jeweiligen Geräts befolgen.

9 Chemische Gefahren^{15,16}

Anmerkung

Die nachstehenden Informationen gelten für das gesamte Produkt mit Proteinase K, Lyse-, Wasch- und Spülreagenzien.

- UN-GHS-Gefahrenpiktogramm: 
- Signalwort: GEFÄHR
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise**
 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
 - Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
 - Verursacht Hautreizungen.
 - Verursacht schwere Augenreizung.
 - Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
 - Kann vermutlich genetische Defekte verursachen.
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise**
 - **Prävention**
 - Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
 - Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
 - Von Hitze, Funken, offenen Flammen und/oder heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen.
 - Behälter dicht verschlossen halten.
 - Einatmen von Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
 - Nach Gebrauch gründlich waschen.
 - Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.
 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
 - Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.
 - **Reaktion**
 - Bei Brand: Geeignete Mittel zum Löschen verwenden.
 - BEI EINATMEN: Die betroffene Person an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
 - Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
 - BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.
 - Besondere Behandlung: Siehe zusätzliche Erste-Hilfe-Informationen.
 - Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
 - Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
 - Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - **Lagerung/Entsorgung**

- Kühl halten.
- An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Behälter dicht verschlossen halten.
- Unter Verschluss aufbewahren.
- Entsorgen von Inhalten und/oder Behälter in Übereinstimmung mit den örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften.

10 Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Patientenproben

- Vollblutproben sollten unter Befolgung der Richtlinien Ihrer Einrichtung in EDTA-Röhrchen entnommen werden. Bei der Probenstabilitätstestung erwiesen sich Blutproben bis zu 72 Stunden stabil, wenn sie unter gekühlten Bedingungen ($5 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$) aufbewahrt werden. Plasma und Zellen sollten nicht separiert werden.
- Ein sachgemäßes Vorgehen bei Entnahme, Aufbewahrung und Transport der Proben ist für eine gute Leistung dieses Tests unabdingbar. Die Stabilität von Proben unter anderen als den unten empfohlenen Transport- und Aufbewahrungsbedingungen wurde für den Xpert BCR-ABL Ultra Test nicht ermittelt.

11 Verfahren

11.1 Bevor Sie beginnen

Zwanzig (20) Minuten vor Testbeginn die Blutprobe und die Reagenzien zur Probenvorbereitung (mit den Kartuschen) aus dem Kühlschrank entnehmen und auf Zimmertemperatur kommen lassen. Dann Proteinase K (PK) kurz in einer Mikrozentrifuge zentrifugieren.

Wichtig Bei Verwendung eines GeneXpert Dx Systems muss der Test innerhalb von 1 Stunde nach Zugabe der mit Probenreagenz behandelten Probe zur Kartusche gestartet werden. Bei Verwendung eines GeneXpert Infinity Systems muss der Test innerhalb von 15 Minuten nach der Zugabe der mit Probenreagenz behandelten Probe zur Kartusche gestartet und die Kartusche auf das Förderband gestellt werden. Das System verfolgt die verbleibende Haltbarkeit im System über die Xpertise-Software, damit Tests vor Ablauf der einen Stunde im System durchgeführt werden.

Wichtig Die Kartusche vor Vorbereitung der Probe aus der Kartonverpackung nehmen. (Siehe Abschnitt 11.3.)

11.2 Vorbereitung der Probe

1. Auf den Boden eines konischen 50-ml-Röhrchens 100 µl PK (Proteinase K) hinzufügen.
2. Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem das Blutsammelröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8 Mal invertiert wird. Siehe Hinweise des Herstellers des EDTA-Blutsammelröhrchens.
3. Der Probe, die bereits Proteinase K enthält, 4 ml Blutprobe hinzugeben.
4. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen.
5. 1 Minute lang bei Zimmertemperatur inkubieren.
6. In dasselbe Röhrchen 2,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben.

Anmerkung Das verbleibende Lysereagenz für die spätere Verwendung in Schritt 13 aufbewahren.

7. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
8. 5 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubieren.
9. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
10. 5 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubieren.
11. Die Probe vermischen, indem 10-mal an den Boden des Röhrchens geklopft wird.
12. 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen.

Anmerkung Das verbleibende Lysat kann bei 2–8 °C für bis zu 4 Stunden oder bei -20 °C oder kühler für bis zu 24 Wochen aufbewahrt werden.

13. Dem neuen konischen Röhrchen mit Lysat 1,5 ml des verbleibenden Lysereagenzes (LY) aus Schritt 6 hinzugeben.
14. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
15. 10 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubieren.
16. In das gleiche konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität (vom Benutzer bereitzustellen) geben.
17. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Zur Seite stellen.
18. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz verwerfen.

11.3 Vorbereitung der Kartusche

Zugabe der Probe in die Xpert BCR-ABL Ultra-Kartusche:

1. Die Kartusche aus der Kartonverpackung nehmen.
2. Die Kartusche auf Beschädigungen überprüfen. Falls die Kartusche beschädigt ist, darf sie nicht verwendet werden.
3. Die Kartusche durch Anheben des Kartuschendeckels öffnen und die Ampulle mit Waschreagenz (1) vollständig in die Waschreagenzkammer (mit der kleinen Öffnung) transferieren. Siehe Abbildung 1.
4. Die vorbereitete Probe vollständig in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren. Siehe Abbildung 1.

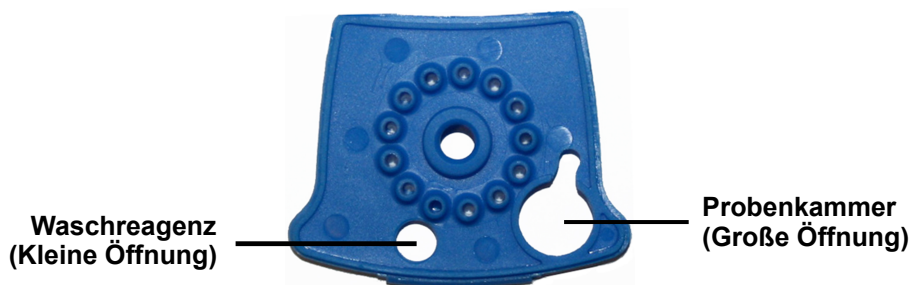


Abbildung 1. Xpert BCR-ABL Ultra-Kartusche (Draufsicht)

5. Den Kartuschendeckel schließen. Sicherstellen, dass der Deckel fest eingerastet ist. Den Test einleiten (siehe Testbeginn).

11.4 Testbeginn

Wichtig Das Xpertise-Software-System verfolgt die verbleibende Haltbarkeit im System, damit Tests vor Ablauf der einen Stunde im System durchgeführt werden.

Wichtig Stellen Sie bei Verwendung eines *GeneXpert Dx Systems* vor Beginn des Tests sicher, dass auf dem System die GeneXpert Dx-Softwareversion 5.1 oder höher läuft und dass die richtige Assay-Definitionsdatei in die Software importiert wurde. Der Test muss innerhalb von 1 Stunde nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.

Wichtig Stellen Sie bei Verwendung eines *GeneXpert Infinity Systems* vor Beginn des Tests sicher, dass auf dem System die Xpertise-Softwareversion 6.6 oder höher läuft und dass die richtige Assay-Definitionsdatei in die Software importiert wurde. Die Kartusche innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Probe in die Kartusche auf das Transportband stellen.

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte der Testdurchführung beschrieben. Detaillierte Anweisungen finden Sie, abhängig vom benutzten Modell, im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*.

Anmerkung Die zu befolgenden Schritte können sich von der hier enthaltenen Beschreibung unterscheiden, falls der Standard-Arbeitsfluss des Systems vom Systemverwalter geändert wurde.

1. Schalten Sie das GeneXpert-Instrument ein:

- Schalten Sie bei Verwendung des *GeneXpert Dx-Instruments* zuerst das GeneXpert Dx-Instrument und dann den Computer ein. Die GeneXpert Software startet automatisch. Falls nicht, doppelklicken Sie auf das Verknüpfungssymbol für die GeneXpert Dx-Software auf dem Windows®-Desktop.
 - oder
 - Bei Verwendung des *GeneXpert Infinity-Instruments* das Instrument hochfahren. Die Xpertise-Software startet automatisch. Falls nicht, doppelklicken Sie auf das Verknüpfungssymbol für die Xpertise-Software auf dem Windows®-Desktop.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der Software des GeneXpert-Instrumentensystems an.
 3. Klicken Sie im GeneXpert-System-Fenster auf **Test erstellen (Create Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Anforderungen (Orders)** und **Test anfordern (Order Test)** (Infinity). Das Fenster **Test erstellen (Create Test)** erscheint. Das Dialogfeld **Patienten-ID-Barcode scannen (Scan Patient ID Barcode)** öffnet sich.
 4. Scannen Sie die Patienten-ID (Patient ID) oder geben Sie sie manuell ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID (Patient ID). Die Patienten-ID (Patient ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft. Sie wird im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)** angezeigt und ist in allen Berichten enthalten. Das Dialogfeld **Proben-ID-Barcode scannen (Scan Sample ID Barcode)** öffnet sich.
 5. Scannen oder tippen Sie die Proben-ID (Sample ID) ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Proben-ID (Sample ID). Die Proben-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)** sowie in allen Berichten. Das Dialogfeld **Kartuschen-Barcode scannen (Scan Cartridge Barcode)** öffnet sich.
 6. Den Barcode der Kartusche einscannen. Anhand der über den Barcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: „Assay auswählen (Select Assay)“, „Chargen-ID (Reagent Lot ID)“, „Kartuschen-Serienr. (Cartridge SN)“ und „Verfallsdatum (Expiration Date)“.

Anmerkung

Falls der Strichcode auf der Kartusche sich nicht einscannen lässt, wiederholen Sie den Test mit einer neuen Kartusche. Falls Sie den Kartuschen-Barcode in der Software gescannt haben und die Assay-Definitionsdatei nicht verfügbar ist, erscheint ein Bildschirm mit der Meldung, dass die Assay-Definitionsdatei nicht im System geladen ist. Wenn dieser Bildschirm erscheint, wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Cepheid.

7. Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Einreichen (Submit)** (Infinity). Geben Sie im Dialogfeld, das sich daraufhin öffnet, falls erforderlich Ihr Kennwort ein.
 8. Bei Verwendung des *GeneXpert Infinity Systems* stellen Sie die Kartusche auf das Förderband. Die Kartusche wird automatisch geladen, der Test wird ausgeführt, und die benutzte Kartusche wird in den Abfallbehälter gelegt.
- oder
- Bei Verwendung des GeneXpert Dx-Instruments:*
- a) Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Leuchte und laden Sie die Kartusche.
 - b) Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Leuchte hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, erlischt die Leuchte.
 - c) Warten Sie, bis das System die Klappenverriegelung freigegeben hat, und öffnen Sie anschließend die Modulklappe. Entfernen Sie dann die Kartusche.
 - d) Verbrauchte Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken der jeweiligen Einrichtung in einem geeigneten Proben-Abfallbehälter entsorgt werden.

Anmerkung

Der Test dauert bis zur Ausgabe des Ergebnisses weniger als 2,5 Stunden (etwa 30 Minuten separate Probenvorbereitung und 1 Stunde 45 Minuten Laufzeit des Assays).

12 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

In diesem Abschnitt sind die grundsätzlichen Schritte für Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse aufgelistet. Detailliertere Anweisungen zum Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse finden Sie im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*, je nachdem, welches Modell Sie verwenden.

1. Klicken Sie auf das Symbol **Ergebnisse anzeigen (View Results)**, um die Ergebnisse anzuzeigen.
2. Nach Durchführen des Tests klicken Sie auf die Schaltfläche **Bericht (Report)** im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)**, um eine Berichtdatei im PDF-Format anzuzeigen bzw. zu erstellen.

13 Qualitätskontrolle

Jede Kartusche umfasst eine endogene ABL-Kontrolle und eine Sondenprüfungskontrolle (PCC).

Endogene ABL-Kontrolle – Die endogene ABL-Kontrolle prüft, ob beim Test eine ausreichende Menge Probe verwendet wird. Darüber hinaus stellt diese Kontrolle eine probenbedingte Hemmung des Echtzeit-PCR-Assays fest. Die ABL-Kontrolle ist erfolgreich, wenn sie die zugewiesenen Akzeptanzkriterien erfüllt.

Sondenprüfungskontrolle (PCC) – Vor Beginn der PCR-Reaktion verifiziert das GeneXpert-System anhand des gemessenen Fluoreszenzsignals der Sonden die Rehydrierung der Kügelchen und die Füllung des Reaktionsbehälters und prüft, ob alle Reaktionskomponenten in der Kartusche funktionsfähig sind. Die PCC ist erfolgreich, wenn sie die zugewiesenen Akzeptanzkriterien erfüllt.

14 Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden automatisch vom GeneXpert-System aus den gemessenen Fluoreszenzsignalen und den eingebetteten Berechnungsalgorithmen berechnet und im Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ angezeigt. In Tabelle 1 sind die möglichen Ergebnisse und deren Auswertung angegeben.

Tabelle 1. Ergebnisse und Interpretation für den Xpert BCR-ABL Ultra

Ergebnis	Interpretation
<p>POSITIV (POSITIVE)</p> <p>Siehe Abbildung 2, Abbildung 3, Abbildung 4</p>	<p>BCR-ABL-Transkript wurde nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> BCR-ABL POSITIV (POSITIVE) – BCR-ABL-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Wert (Cycle threshold, Schwellenwert-Zyklus) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. Mögliche positive Ergebnisse: <ul style="list-style-type: none"> POSITIV [#.,##% (IS) und MR#,##] (POSITIVE [#.,##% (IS) and MR##.##]); Abbildung 2. POSITIV [Über oberer LoQ] (POSITIVE [Above upper LoQ]); Abbildung 3. POSITIV [Unter LoD; >MR4,52/<0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)]); Abbildung 4. ABL BEST. (PASS); ABL-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Wert (Cycle threshold, Schwellenwert-Zyklus) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. Wenn der ABL-Ct-Wert unter 18 liegt, lagen mindestens 32.000 ABL-Kopien in der Reaktion vor.^{17,18} Sondenprüfung BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>NEGATIV (NEGATIVE)</p> <p>Siehe Abbildung 5.</p>	<p>BCR-ABL-Transkript wurde nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> BCR-ABL NEGATIV [ABL-Transkript ausreichend] (BCR-ABL NEGATIVE [Sufficient ABL transcript]) – BCR-ABL-Transkript wurde nicht nachgewiesen und hat einen Ct-Wert (Cycle threshold, Schwellenwert-Zyklus) oberhalb des gültigen Schwellenwert-Zyklus. ABL BEST. (PASS); ABL-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Wert (Cycle threshold, Schwellenwert-Zyklus) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. Wenn der ABL-Ct-Wert unter 18 liegt, lagen mindestens 32.000 ABL-Kopien in der Reaktion vor.^{17,18} Sondenprüfung BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>UNGÜLTIG (INVALID)</p> <p>Siehe Abbildung 6.</p>	<p>Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden.</p> <ul style="list-style-type: none"> UNGÜLTIG (INVALID) – Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden, da die Probe zu viele BCR-ABL- bzw. ABL-Transkripte enthält. Zusätzliche Anweisungen zur erneuten Testung der Probe siehe Abschnitt 17. ABL DEFEKT (FAIL) – Der Schwellenwert-Zyklus-Wert (Ct) für ABL lag nicht innerhalb des gültigen Bereichs oder der Endpunkt lag unterhalb des eingestellten Schwellenwerts. Zusätzliche Anweisungen zur erneuten Testung der Probe siehe Abschnitt 17. Sondenprüfung BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>FEHLER (ERROR)</p> <p>Siehe Abbildung 7.</p>	<p>Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden. Zusätzliche Anweisungen zur erneuten Testung der Probe siehe Abschnitt 17.</p> <ul style="list-style-type: none"> BCR-ABL – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) ABL – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) Sondenprüfung DEFEKT (FAIL) – Ein oder mehrere Sondenprüfungsergebnisse sind fehlgeschlagen. Sondenprüfung BEST. (PASS) oder KA (NA) (keine Angabe) und Abbruch wegen falschen Drucks. <p>Wenn die Sondenprüfung bestanden wurde oder KA (NA) anzeigt, wurde der Fehler durch Überschreiten des maximalen Druckgrenzwerts oder den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.</p>

Ergebnis	Interpretation
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	<p>Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Testergebnis zu erzielen. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen. Zusätzliche Anweisungen zur erneuten Testung der Probe siehe Abschnitt 17.</p> <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • ABL – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondenprüfung KA (NA) (keine Angabe)

14.1 POSITIV [#,##% (IS) und MR#,##] (POSITIVE [#.##% (IS) and MR#.##])

BCR-ABL wurde mit einer Konzentration von #,## % (IS) und MR#,## nachgewiesen.

Bei einem Ergebnis **POSITIV [#,##% (IS) und MR#,##] (POSITIVE [#.##% (IS) and MR#.##])** ist BCR-ABL mit einem BCR-ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich dem Grenzwert „32“ sowie einem ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich „18“ nachweisbar. Die GeneXpert-Software berechnet den %-Wert (IS) anhand der folgenden Gleichung, bei der der Delta-Ct(ΔCt)-Wert durch Subtraktion von BCR-ABL-Ct vom ABL-Ct erhalten wird:

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

Anmerkung

Beim Skalierungsfaktor (SF) handelt es sich um einen chargenspezifischen Parameter, der im Barcode der Testkartusche codiert ist. Der Wert dieses Faktors und die chargenspezifische Assay-Effizienz ($E_{\Delta Ct}$) werden in Qualitätskontrolltests jeder Assay-Charge unter Verwendung von Sekundärstandards bestimmt, die auf das internationale genetische Referenzpanel der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für die Quantifizierung von BCR-ABL-Transkript kalibriert sind.⁷ Gemeinsam passen die Sekundärstandards und der chargenspezifische $E_{\Delta Ct}$ und SF-Wert das quantitative Ergebnis des Tests an die IS an. Im hier dargestellten Beispiel ist der $E_{\Delta Ct}$ -Wert auf 1,92 und der SF-Wert auf 1,22 eingestellt.

Beispiel:

Chargenspezifischer $E_{\Delta Ct} = 1,92$; $SF = 1,22$

ABL-Ct des Assays = 11,3; BCR-ABL-Ct = 18,0; $\Delta Ct = -6,7$

$$\% (IS) = 1,92^{(-6,7)} \times 100 \times 1,22 = 1,54 \% (IS)$$

$$MR_{x,xx} = \log_{10}[100/\text{Ermittelte } \% (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(1,54) = 2 - \log_{10}(1,54) = MR1,81$$

Ergebnis: **POSITIV [1,54% (IS) und MR1,81] (POSITIVE [1.54% (IS) and MR1.81])**. Siehe Abbildung 2.

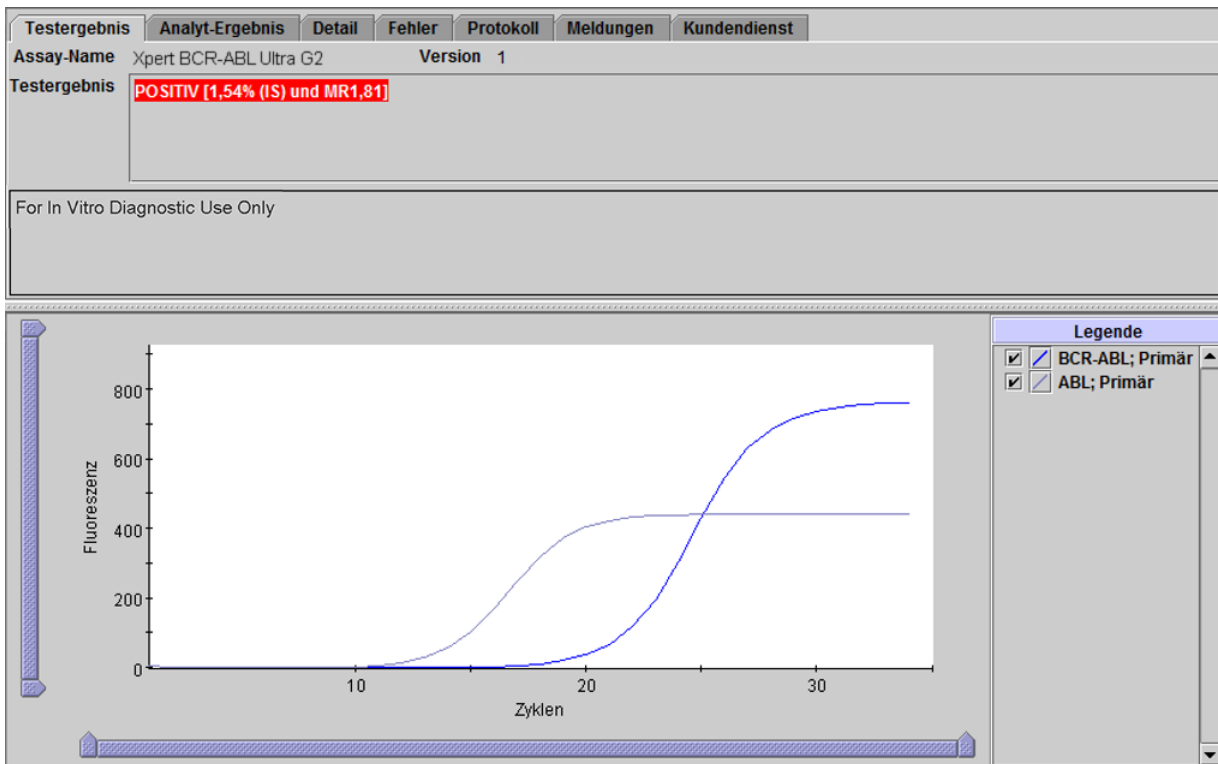


Abbildung 2. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert Dx: POSITIV [1,54% (IS) und MR1,81]

14.2 POSITIV [Über oberer LoQ]

BCR-ABL wurde mit einer Konzentration von $> 55\%$ (IS) und $< MR0,26$ nachgewiesen.

Bei einem Ergebnis **POSITIV [Über oberer LoQ] (POSITIVE [Above upper LoQ])** ist BCR-ABL mit einem BCR-ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich dem Grenzwert „32“ sowie einem ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich „18“ nachweisbar. Die GeneXpert-Software berechnet den %-Wert (IS) anhand der folgenden Gleichung, bei der der Delta-Ct(ΔCt -)Wert durch Subtraktion von BCR-ABL-Ct vom ABL-Ct erhalten wird:

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

Beim Skalierungsfaktor (SF) handelt es sich um einen chargenspezifischen Parameter, der im Barcode der Testkartusche codiert ist. Der Wert dieses Faktors und die chargenspezifische Assay-Effizienz ($E_{\Delta Ct}$) werden in Qualitätskontrolltests jeder Assay-Charge unter Verwendung von Sekundärstandards bestimmt, die auf das internationale genetische Referenzpanel der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für die Quantifizierung von BCR-ABL-Transkript kalibriert sind.⁷ Gemeinsam passen die Sekundärstandards und der chargenspezifische $E_{\Delta Ct}$ - und SF-Wert das quantitative Ergebnis des Tests an die IS an. Im hier dargestellten Beispiel ist der $E_{\Delta Ct}$ -Wert auf 1,92 und der SF-Wert auf 1,10 eingestellt.

Anmerkung

Beispiel: Chargenspezifischer $E_{\Delta Ct} = 1,92$; $SF = 1,10$
 ABL-Ct des Assays = 13,4; BCR-ABL-Ct = 14,2; $\Delta Ct = -0,8$
 $\% (IS) = 1,92^{(-0,8)} \times 100 \times 1,10 = 65\%$ ist größer als die definierte obere LoQ des Assays mit 55% (IS)
 $MRx,xx = \log_{10}[100/\text{Ermittelte } \% (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(65) = 2 - \log_{10}(65) = MR0,19$ ist kleiner als die definierte obere LoQ des Assays mit $MR0,26$.

Ergebnis: **POSITIV [Über oberer LoQ] (POSITIVE [Above upper LoQ])**. Siehe Abbildung 3.

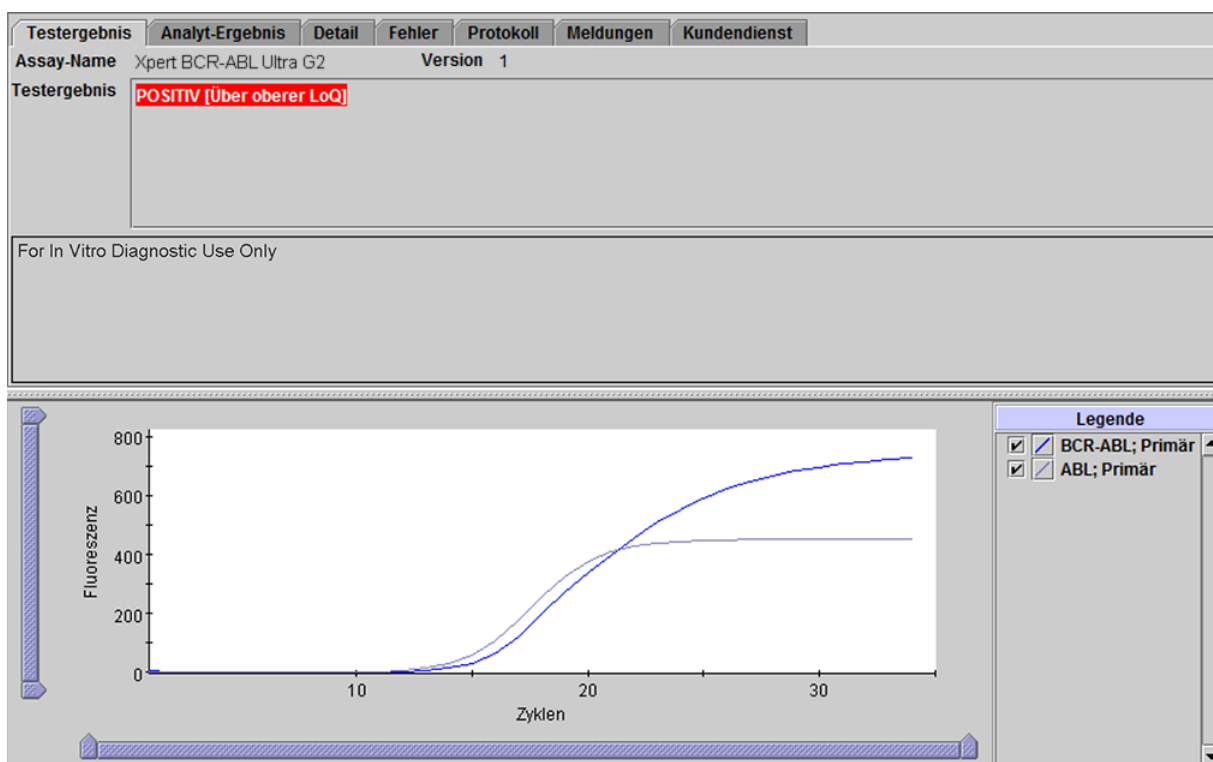


Abbildung 3. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert Dx: POSITIV [Über oberer LoQ]

14.3 POSITIV [Unter LoD; >MR4,52/<0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])

BCR-ABL wurde mit einer Konzentration von <0.0030% (IS) and >MR4,52 nachgewiesen.

Bei einem Ergebnis **POSITIV [Unter LoD; >MR4,52/<0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])** ist BCR-ABL mit einem BCR-ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich dem Grenzwert „32“ sowie einem ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich „18“ nachweisbar. Die GeneXpert-Software berechnet den %-Wert (IS) anhand der folgenden Gleichung, bei der der Delta-Ct(Δ Ct)-Wert durch Subtraktion von BCR-ABL-Ct vom ABL-Ct erhalten wird

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

Beim Skalierungsfaktor (SF) handelt es sich um einen chargenspezifischen Parameter, der im Barcode der Testkartusche codiert ist. Der Wert dieses Faktors und die chargenspezifische Assay-Effizienz ($E_{\Delta Ct}$) werden in Qualitätskontrolltests jeder Assay-Charge unter Verwendung von Sekundärstandards bestimmt, die auf das internationale genetische Referenzpanel der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für die Quantifizierung von BCR-ABL-Transkript kalibriert sind.⁷ Gemeinsam passen die Sekundärstandards und der chargenspezifische $E_{\Delta Ct}$ - und SF-Wert das quantitative Ergebnis des Tests an die IS an. Im hier dargestellten Beispiel ist der $E_{\Delta Ct}$ -Wert auf 1,91 und der SF-Wert auf 1,14 eingestellt.

Anmerkung

Beispiel: Chargenspezifischer $E_{\Delta Ct} = 1,91$; $SF = 1,14$

ABL-Ct des Assays = 12,5; BCR-ABL-Ct = 29; $\Delta Ct = -16,6$

$\% (IS) = 1,91^{(-16,6)} \times 100 \times 1,14 = 0,0025 \%$ ist kleiner als die definierte LoD des Assays mit 0,0030 % (IS)

$MR_{x,xx} = \log_{10}[100/\text{Ermittelte } \% (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(0,0025) = 2 - \log_{10}(0,0025) = MR4,60$ ist größer als die definierte LoD des Assays mit MR4,52.

Ergebnis: **POSITIV [Unter LoD; >MR4,52/<0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])**. Siehe Abbildung 4.

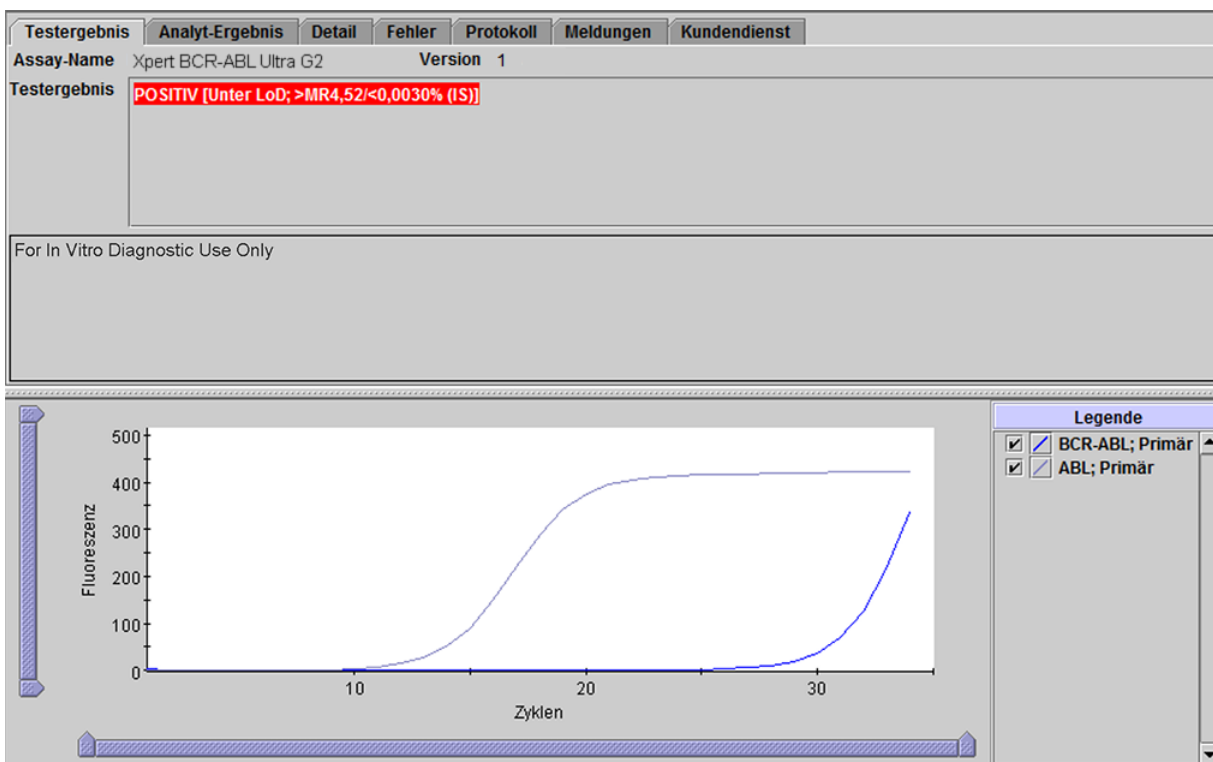


Abbildung 4. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert Dx: POSITIV [Unter LoD; >MR4,52/<0,0030% (IS)]

14.4 NEGATIV [ABL-Transkript ausreichend] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL wurde nicht nachgewiesen; der BCR-ABL-Ct war gleich „0“ oder größer als der Grenzwert „32“ und der ABL-Ct war größer „8“ und kleiner oder gleich „18“.

Wenn BCR-ABL nicht nachweisbar ist und der BCR-ABL-Ct gleich „0“ oder größer als der Grenzwert „32“ ist, sucht die GeneXpert-Software zunächst nach dem ABL-Ct, um zu prüfen, ob der ABL-Ct größer oder gleich „8“ und kleiner oder gleich „18“ ist, um sicherzustellen, dass „ABL-Transkript ausreichend“ gilt. Siehe Tabelle 1.

Beispiel:

BCR-ABL-Ct des Assays = 0; ABL-Ct = 11,3 ist kleiner als „18“.

Ergebnis: **NEGATIV [ABL-Transkript ausreichend] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])**. Siehe Abbildung 5.

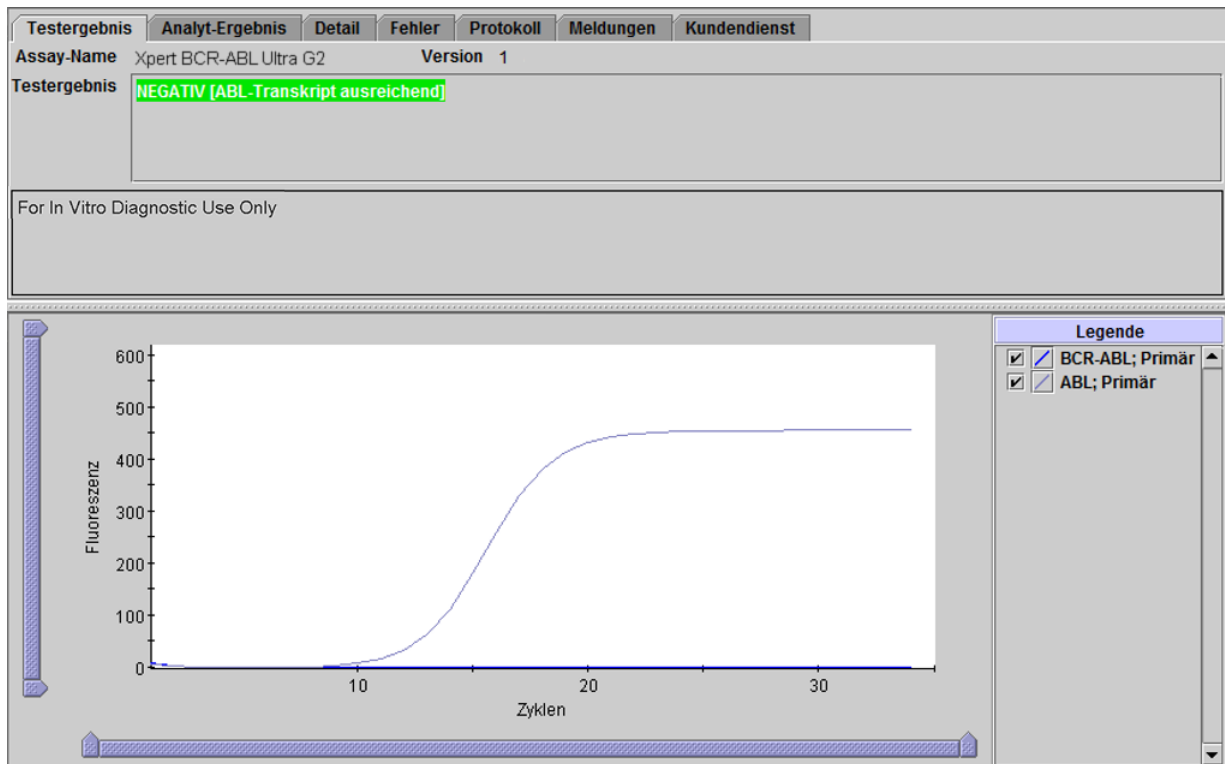


Abbildung 5. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert Dx:
NEGATIV [ABL-Transkript ausreichend] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])

14.5 UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL wurde nachgewiesen oder nicht nachgewiesen und der ABL-Ct war größer „18“.

Wenn BCR-ABL nachgewiesen oder nicht nachgewiesen wird, sucht die GeneXpert-Software zunächst nach dem ABL-Ct, um zu prüfen, ob der ABL-Ct kleiner oder gleich „18“ ist, um sicherzustellen, dass „ABL-Transkript ausreichend“ gilt. Siehe Abschnitt 17.

Beispiel:

BCR-ABL-Ct des Assays = 0; ABL-Ct = 24 ist größer als „18“.

Ergebnis: UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript]). Siehe Abbildung 6.

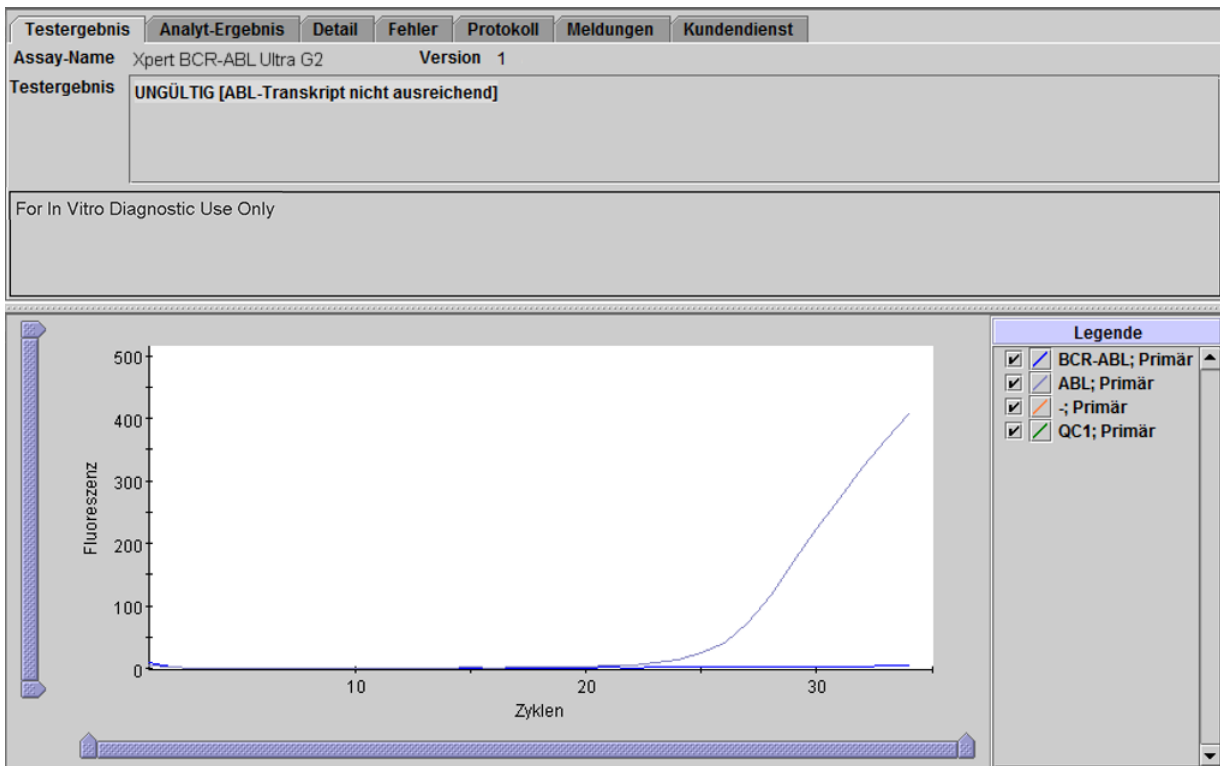


Abbildung 6. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert Dx: UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

14.6 FEHLER (ERROR)

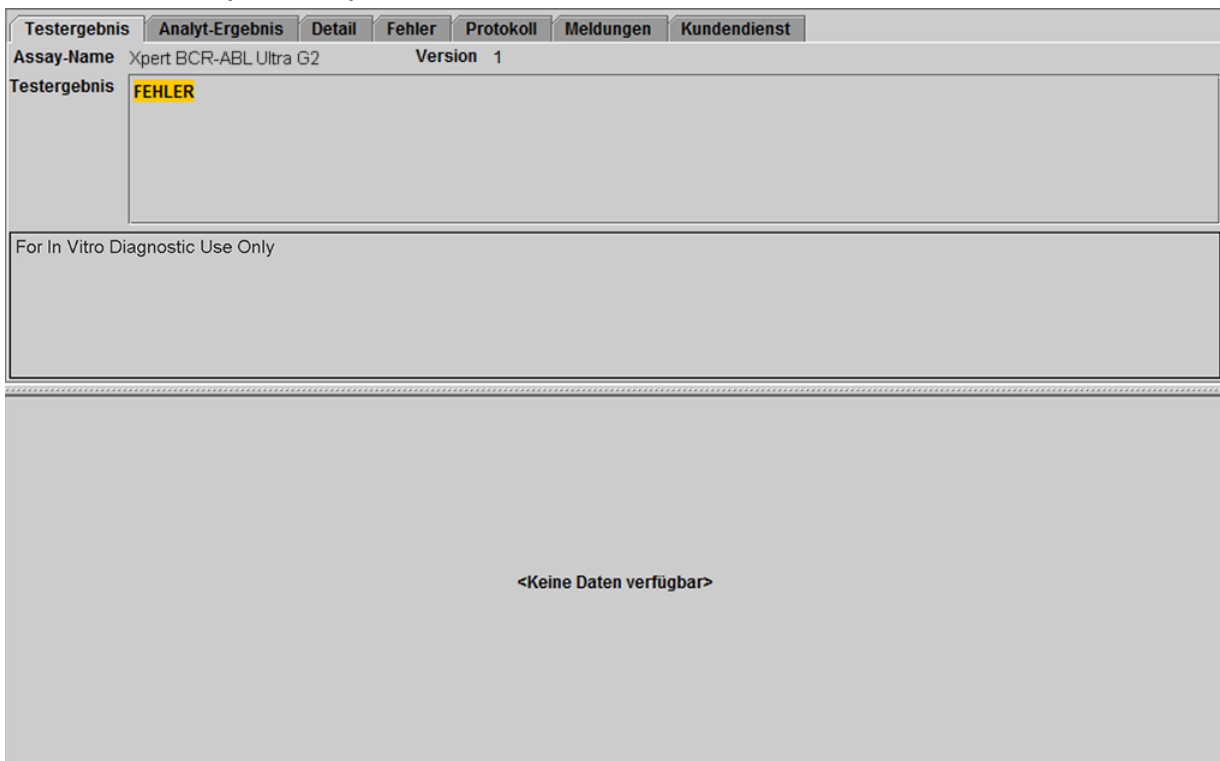


Abbildung 7. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert Dx: FEHLER (ERROR)

15 Quantitative Ergebnisse

Jedem Xpert BCR-ABL Ultra Test-Kit liegt ein Analysezertifikat bei, das eine chargenspezifische Standardkurve für das Xpert BCR-ABL Ultra-Kit sowie einen Effizienzwert (E_{ACt}) enthält. Der Effizienzwert ist im Barcode der Xpert BCR-ABL Ultra-Kartusche enthalten. Eine ausführliche Berechnung des Effizienzwertes entnehmen Sie bitte dem Analysezertifikat. Jede Kitcharge enthält außerdem einen chargenspezifischen Skalierungsfaktor (SF), der im Barcode enthalten ist und der das quantitative Testergebnis mit der Internationalen Skala (IS) verknüpft.⁷ Die Testergebnisse werden mit quantitativem Testergebnis sowohl in % (IS) als auch in Skalen für die molekulare Remission (MR) ausgegeben (siehe Tabelle 2 und Tabelle 3). Diese quantitativen Werte sind im Kontext der Genauigkeit des Xpert BCR-ABL Tests auszuwerten (siehe Abschnitt 22, Genauigkeit und Reproduzierbarkeit).

Tabelle 2. Log-Reduktion, Internationale Skala (IS) und MR-Korrelation (Molecular Response, molekulare Remission)

Log-Reduktion in % BCR-ABL/ABL (IS)	MR	% BCR-ABL/ABL (IS) ^a
0,	0,	100
1	1	10
2	2	1
3	3	0,1
4	4	0,01
4,5	4,5	0,0032
5	5	0,001

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

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

Tabelle 3. Beispiele für Ergebnisse des Xpert BCR-ABL Ultra Tests

Test	BCR-ABL		ABL		Xpert BCR-ABL Ultra Testergebnisse	Anmerkungen
	Ct	Ergebnis	Ct	Ergebnis		
1	7,1	UNGÜLTIG (INVALID)	7,3	DEFEKT (FAIL)	UNGÜLTIG [BCR-ABL- und ABL-Transkripte zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL and ABL transcripts])	Berechneter %-Wert: 149,92 %
2	8,1	UNGÜLTIG (INVALID)	7,9	DEFEKT (FAIL)	UNGÜLTIG [ABL-Transkript zu hoch] (INVALID [Too high ABL transcript])	Berechneter %-Wert: 121,05 %
3	7,9	UNGÜLTIG (INVALID)	8,1	BEST. (PASS)	UNGÜLTIG [BCR-ABL-Transkript zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL transcript])	Berechneter %-Wert: 149,92 %
4	11,4	POS	10,9	BEST. (PASS)	POSITIV [Über oberer LoQ] (POSITIVE [Above upper LoQ])	Berechneter %-Wert: 78,92 %
5	18,2	POS	13,5	BEST. (PASS)	POSITIV [33,93% (IS) und MR0,47] (POSITIVE [33.93% (IS) and MR0.47])	Berechneter %-Wert: 33,93 %
6	21,4	POS	13,4	BEST. (PASS)	POSITIV [4,68% (IS) und MR1,33] (POSITIVE [4.68% (IS) and MR1.33])	Berechneter %-Wert: 4,68 %

Test	BCR-ABL		ABL		Xpert BCR-ABL Ultra Testergebnisse	Anmerkungen
	Ct	Ergebnis	Ct	Ergebnis		
7	28,6	POS	15,2	BEST. (PASS)	POSITIV [0,012% (IS) und MR3,92] (POSITIVE [0.012% (IS) and MR3.92])	Berechneter %-Wert: 0,012 %
8	30,0	POS	12,7	BEST. (PASS)	POSITIV [Unter LoD; >MR4,52/ <0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/ <0.0030% (IS)])	Berechneter %-Wert: 0,0008 %
9	0,	NEG	13,3	BEST. (PASS)	NEGATIV [ABL-Transkript ausreichend] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	0 %
10	31,6	UNGÜLTIG (INVALID)	18,2	DEFEKT (FAIL)	UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	N. zutr.
11	0,	UNGÜLTIG (INVALID)	18,6	DEFEKT (FAIL)	UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	N. zutr.
12	0,	UNGÜLTIG (INVALID)	0,	DEFEKT (FAIL)	UNGÜLTIG [Kein ABL-Transkript] (INVALID [No ABL transcript])	N. zutr.
13	0	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	0	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	FEHLER (ERROR)	Zum Beispiel Fehler 5017: [ABL] Sondenprüfung fehlgeschlagen

16 Einschränkungen des Assays

- Das Produkt ist nur für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Der Assay ist nicht zur Verwendung mit externen Kalibratoren bestimmt.
- Die Genauigkeit des Assays ist unterhalb von MR4,5 weder nachgewiesen noch zugesichert.
- Der Assay ist weder für die Bestimmung des Absetzens einer TKI-Behandlung noch für das Monitoring nach dem Absetzen indiziert.
- Die Leistungsfähigkeit des Xpert BCR-ABL Ultra Tests wurde ausschließlich anhand der Verfahren evaluiert, die in dieser Packungsbeilage beschrieben sind. Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Leistung des Tests beeinträchtigen.
- Dieses Produkt wurde für in EDTA-Röhrchen entnommenes Blut validiert.
- Kein Heparin als Antikoagulans verwenden, da es die PCR-Reaktion hemmen kann.
- Die Probenotypen Natriumcitrat (NaCitrat), Buffy-Coat und Knochenmark wurden nicht validiert.
- Zu fehlerhaften Testergebnissen kann es kommen, wenn die Probe unsachgemäß entnommen, gehandhabt oder gelagert wurde oder Proben verwechselt wurden. Zur Vermeidung fehlerhafter Ergebnisse sind die Anweisungen in dieser Packungsbeilage sorgfältig zu befolgen.
- Der Xpert BCR-ABL Ultra Test ist nur für den Nachweis der p210-BCR-ABL-Fusionstranskripte e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2 konzipiert, jedoch nicht für die Unterscheidung zwischen diesen. Die Fähigkeit zum Nachweis anderer Fusionstranskripte über die in der Gebrauchsanweisung angegebenen hinaus wurde bislang nicht untersucht. Der Test kann Minor- bzw. Mikro-Breakpoint-Regionen oder Mikrodeletionen bzw. -mutationen nicht nachweisen.
- Der Xpert BCR-ABL Ultra ist nicht zum Nachweis von e1a2 (p190), e19a2 (p230) oder anderen Minor-Breakpoint-Translokationen vorgesehen, die möglicherweise in einer peripheren Blutprobe von Leukämiepatienten enthalten sind.
- Der Xpert BCR-ABL Ultra dient nicht zum Nachweis aberranter e13a2/b2a2-Fusionstranskripte, bei denen ein Teil der Sequenzen neben der Bruchstelle gelöscht wurde.
- Bei manchen Proben mit sehr hoher Leukozytenzahl (über 30 Millionen Zellen/ml) gibt der Xpert BCR-ABL Ultra unter Umständen aufgrund einer zu hohen BCR-ABL- oder ABL-Konzentration in der Probe das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** (Typ 2) aus. Weitere Informationen sind Tabelle 4 zu entnehmen.

- Manche Proben mit sehr niedriger ABL-Transkript-Konzentration oder mit einer Leukozytenzahl unter 150.000 Zellen/ml können als **UNGÜLTIG (INVALID)** (Typ 1) ausgegeben werden. Ein unbestimmtes Ergebnis schließt nicht aus, dass bei dem Patienten Leukämiezellen in sehr niedriger Konzentration vorhanden sind.
- Das CML-p230-Transkript mit dem Mikro-Breakpoint e19a2 kann als BCR-ABL-positives Ergebnis unter der LoD des Assays (0,0030 % (IS)/MR4,52) ausgegeben werden, wenn bei hohen Zielwerten (>3,52 Logs über LoD) getestet wird.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Sonden bindenden Regionen wirken sich eventuell auf den Nachweis von neuen oder unbekanntem Varianten aus und können falsch negative Ergebnisse verursachen.
- Die Xpert BCR-ABL Ultra-Ergebnisse sollten zur vollständigen klinischen Interpretation und für das Patientenmanagement gemäß den Richtlinien von ggf. NCCN, ELN und ESMO in Verbindung mit der Anamnese einschließlich klinischer Daten und Labordaten verwendet werden.
- Bei manchen Patienten mit sehr geringer BCR-ABL1-Transkript-Konzentration (d. h. unter LoD 0,0030 % (IS) oder über MR4,52) wird eventuell das Ergebnis **NEGATIV [ABL-Transkript ausreichend] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])** ausgegeben. Ein Ergebnis ohne Nachweis schließt daher nicht aus, dass bei dem Patienten Leukämiezellen in niedriger Konzentration vorhanden sind.
- Der Assay ist für die Verwendung auf dem GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI) und dem GeneXpert Infinity System (Infinity-48s und Infinity-80) validiert.

17 Anleitung zur Fehlerbehebung

Tabelle 4. Anleitung zur Fehlerbehebung

Testergebnis	Mögliche Ursachen	Lösungsvorschläge
UNGÜLTIG (INVALID)	Typ 1: Fehler der endogenen Kontroll-ABL: <ul style="list-style-type: none"> • Schlechte Probenqualität • RT-PCR-Hemmung • Falls ABL-Ct > 18 und/oder Endpunkt < 200 	<ul style="list-style-type: none"> • Überprüfen Sie die Qualität der Probe (z. B. Nichteinhaltung der Lagerbedingungen einschließlich Zeit und Temperatur). • Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 18.1, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1), erläutert.
	Typ 2: Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden, da die Probe zu viele BCR-ABL- bzw. ABL-Transkripte enthält (Ct < 8)	Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 18.2, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2), erläutert.
FEHLER (ERROR) (Code 2008)	Der Druck übersteigt den zulässigen Wert (Fehlermeldung 2008)	<ul style="list-style-type: none"> • Überprüfen Sie die Qualität der Probe. • Prüfen Sie, ob die LEU-Zahl deutlich erhöht ist. • Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 18.2, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2), erläutert.
FEHLER (ERROR) (Code 5006, 5007, 5008 und 5009^a)	Sondenprüfung fehlgeschlagen	Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 18.1, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1), erläutert.
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	Datenerfassungsfehler. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen.	Den Test mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückbehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen, wie in Abschnitt 18.1, Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1), erläutert.

^a Diese Liste der Fehlercodes ist nicht vollständig.

18 Wiederholungstests

18.1 Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1)

Proben bei den Ergebnissen **FEHLER (ERROR)** oder **UNGÜLTIG (INVALID)** erneut testen, wenn als Ursache der ABL-Zyklusschwellwert (Ct) den maximalen gültigen Ct-Grenzwert (Ct > 18) überschreitet oder der Endpunkt unterhalb des eingestellten Schwellenwerts (< 200) liegt. Siehe auch Tabelle 4.

1. Falls ein *ausreichendes* Volumen der Blutprobe vorhanden ist, den Test mit dem Entnahmeröhrchen mit Originalblutprobe wiederholen, wie in Abschnitt 11.2, Vorbereitung der Probe, erläutert.
-ODER-
Ist *kein ausreichendes* Volumen der Blutprobe vorhanden, kann der Test mit dem zurückbehaltenen Lysat aus Abschnitt 11.2, Vorbereitung der Probe, Schritt 12, wiederholt werden.
 - a) Wird das zurückbehaltene Lysat aus Abschnitt 11.2, Vorbereitung der Probe, Schritt 12 eingefroren aufbewahrt, muss es vor Gebrauch auf Zimmertemperatur aufgetaut werden.
 - b) Sicherstellen, dass das Lysat gut vermischt ist, indem die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischt wird. Dann das Lysat 3 Minuten lang beiseite stellen, damit sich die Blasen absetzen können. Mit Schritt 2 fortfahren.
2. 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen.
3. Dem neuen konischen Röhrchen mit Lysat 1,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben.
4. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
5. 10 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubieren.
6. In dasselbe konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität (nicht im Lieferumfang enthalten) geben.
7. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
8. Die Kartusche durch Anheben des Kartuschendeckels öffnen und die Ampulle mit Waschreagenz (1) vollständig in die Waschreagenzkammer (mit der kleinen Öffnung) transferieren. Siehe Abbildung 1.
9. Die vorbereitete Probe vollständig in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren. Siehe Abbildung 1.
10. Den Kartuschendeckel schließen. Den Test einleiten (siehe Abschnitt 11.4).

18.2 Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2)

Proben mit einer BCR-ABL- bzw. ABL-Transkript-Konzentration unter dem gültigen Ct-Minimum (Ct < 8) und/oder bei Überschreitung des Druckgrenzwerts erneut testen. Siehe auch Tabelle 4.

1. Auf den Boden eines neuen konischen 50-ml-Röhrchens 100 µl PK (Proteinase K) hinzufügen.
2. Falls ein *ausreichendes* Volumen der Blutprobe vorhanden ist, den Test mit dem Entnahmeröhrchen mit Originalblutprobe wiederholen. Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem das Blutsammelröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8 Mal invertiert wird. Mit Schritt 4 fortfahren.
-ODER-
Falls *kein ausreichendes* Volumen der Blutprobe vorhanden ist, kann der Test mit dem restlichen Lysat aus Abschnitt 11.2, Vorbereitung der Probe, Schritt 12 wiederholt werden.
 - a) Wird das zurückbehaltene Lysat aus Abschnitt 11.2, Vorbereitung der Probe, Schritt 12 eingefroren aufbewahrt, muss es vor Gebrauch auf Zimmertemperatur aufgetaut werden. Wird gekühltes Lysat verwendet, muss es vor Gebrauch auf Zimmertemperatur gebracht werden.
 - b) Sicherstellen, dass das Lysat gut vermischt ist, indem die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischt wird. Dann das Lysat 3 Minuten lang beiseite stellen, damit sich die Blasen absetzen können. Mit Schritt 3 fortfahren.
3. Dem Röhrchen mit Proteinase K 50 µl Blutprobe (sofern vorhanden) oder 80 µl des verbleibenden Lysats aus Abschnitt 11.2, Vorbereitung der Probe, hinzugeben.
 - a) Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen.
 - b) 1 Minute lang bei Zimmertemperatur inkubieren.
4. Dem neuen konischen Röhrchen mit Lysat 2,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben.
5. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.

6. 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
7. In dasselbe konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität (nicht im Lieferumfang enthalten) geben.
8. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen.
9. Die Kartusche durch Anheben des Kartuschendeckels öffnen und die Ampulle mit Waschreagenz (1) vollständig in die Waschreagenzkammer (mit der kleinen Öffnung) transferieren. Siehe Abbildung 1.
10. Die vorbereitete Probe vollständig in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren. Siehe Abbildung 1.
11. Den Kartuschendeckel schließen. Den Test einleiten (siehe Abschnitt 11.4).

19 Erwartete Werte

Der Xpert BCR-ABL Ultra deckt die wichtigsten klinischen Entscheidungspunkte zum Monitoring der CML (mit einer Spanne von MR1 bis 4,5)⁵ mit dem quantitativen Nachweis von BCR-ABL-mRNA (Transkripte e13a2/b2a2 oder e14a2/b3a2) und der mRNA der endogenen ABL-Kontrolle ab. Die erwarteten Werte liegen im Bereich des Xpert BCR-ABL Ultra von 0,0030 bis 55 % (IS) (MR4,52 bis MR0,26).

20 Klinische Leistung

Die klinische Leistungsfähigkeit des Xpert BCR-ABL Ultra Tests wurde im Rahmen einer multizentrischen klinischen Studie an vier Einrichtungen in den USA evaluiert. Drei weitere Einrichtungen dienten ausschließlich der Probenentnahme. Die Studie wurde mit frischen, prospektiv entnommenen EDTA-Vollblutproben von Patienten mit CML in einem beliebigen Krankheitsstadium nach der Erstdiagnose mit und ohne vorherige Tyrosinkinase-Inhibitor-Therapie oder einer anderen CML-Behandlung durchgeführt. Zudem umfasste die Studie als gefrorene Lysate aufbewahrte Probenreste, die aus EDTA-Vollblut aus derselben Patientenpopulation zubereitet wurden. Die Leistung des Xpert BCR-ABL Ultra Tests wurde mit einem molekularen Assay mit FDA-Zulassung verglichen, der die mRNA-Transkripte für die p210-Translokationstypen (e13a2/b2a2 oder e14a2/b3a2) nachweist und quantifiziert und ABL als mRNA-Transkript der endogenen Kontrolle verwendet.

Insgesamt wurden zu Beginn 266 geeignete Proben in die Studie aufgenommen. Von diesen wurden 57 aufgrund der Verwendung eines veralteten Verfahrens als Extraktionsmethode (27), nicht erfolgter Blutentnahme beim Probanden (8), Verzögerungen bei Versand oder Testung (6), nicht ausreichendem Volumens für die Testung (6), eines fehlgeschlagenen Tests mit dem Vergleichsassay (6) oder der Testung mit einer falschen Xpert BCR-ABL Ultra Assay-Definitionsdatei (4) ausgeschlossen, sodass letztendlich 209 Proben getestet wurden.

Von den 209 Proben waren 97,1 % (203/209) der Xpert BCR-ABL Ultra-Ergebnisse beim ersten Versuch erfolgreich, was eine Anfangsquote für unbestimmte Proben von 2,9 % (6/209) ergab. 99,5 % (208/209) waren beim Wiederholungstest erfolgreich, sodass die Endquote für unbestimmte Proben bei 0,5 % (1/209) lag.

Von den 208 Proben, die zur Analyse zur Verfügung standen, waren 150 (72,1 %) eingefrorene Lysatproben und 58 (27,9 %) frische, prospektiv entnommene Proben, für die demografische Daten vorlagen. Von den frischen Proben stammten 24 (41,4 %) von Frauen und 34 (58,6 %) von Männern. Das mittlere Spenderalter bei diesen frisch entnommenen Proben betrug 60,5 Jahre (Bereich: 28–85 Jahre).

Von den 208 Ergebnissen, die für die Analyse zur Verfügung standen, lagen 147 Ergebnisse für beide Assays innerhalb des quantitativen berichtbaren Bereichs (0,0030 %–55 % [IS]/MR4,52–MR0,26 für Xpert BCR-ABL Ultra und 0,0020 %–50 % [IS]/MR4,72–MR0,30 für den Vergleichsassay): 117 davon stammten aus eingefrorenen Lysatresten und 30 davon waren frische, prospektiv entnommene Proben. Die Leistung des Xpert BCR-ABL Ultra Tests gegenüber dem Vergleichsassay wurde anhand einer Deming-Regression evaluiert, um Anstieg und Achsenabschnitt zu ermitteln. Abbildung 8 zeigt die Deming-Regression und die lineare Regressionsanalyse der 147 Assayergebnisse (MR-Werte).

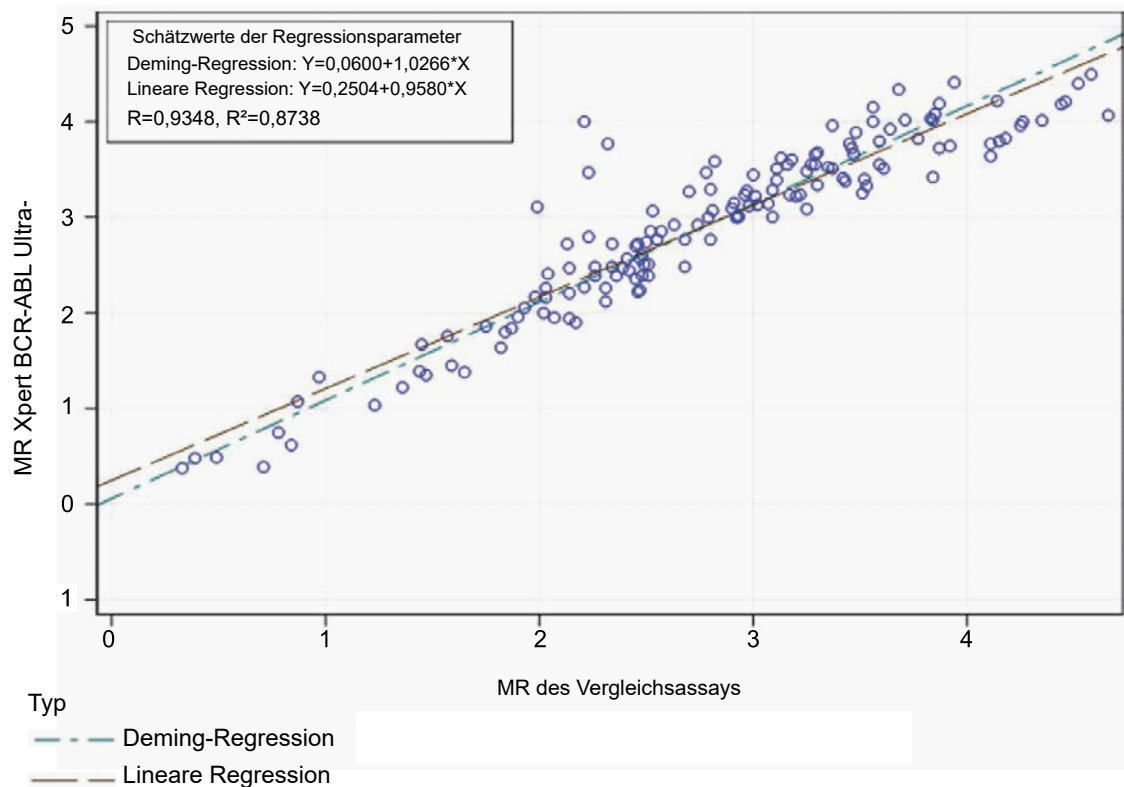


Abbildung 8. Deming- und lineare Regressionsanalyse

Anstieg und Achsenabschnitt der Deming-Regression lagen bei 1,0266 bzw. 0,0600. Aus diesen Ergebnissen wurde das prognostizierte Bias bei der MMR (MR3) mit MR0,1244 berechnet (95%-Konfidenzintervall von 0,0969–0,1519).

Mit den 147 quantitativen Ergebnissen, die sowohl für den Xpert BCR-ABL Ultra Test als auch den Vergleichsassay im berichtbaren Bereich lagen, wurde zudem eine Bland-Altman-Differenzanalyse durchgeführt. Das Bland-Altman-Diagramm (siehe Abbildung 9) zeigt die obere und untere 2SD der beobachteten Mittelwertdifferenz. Die Trendlinie des Bias im gesamten MR-Bereich ist ebenfalls dargestellt.

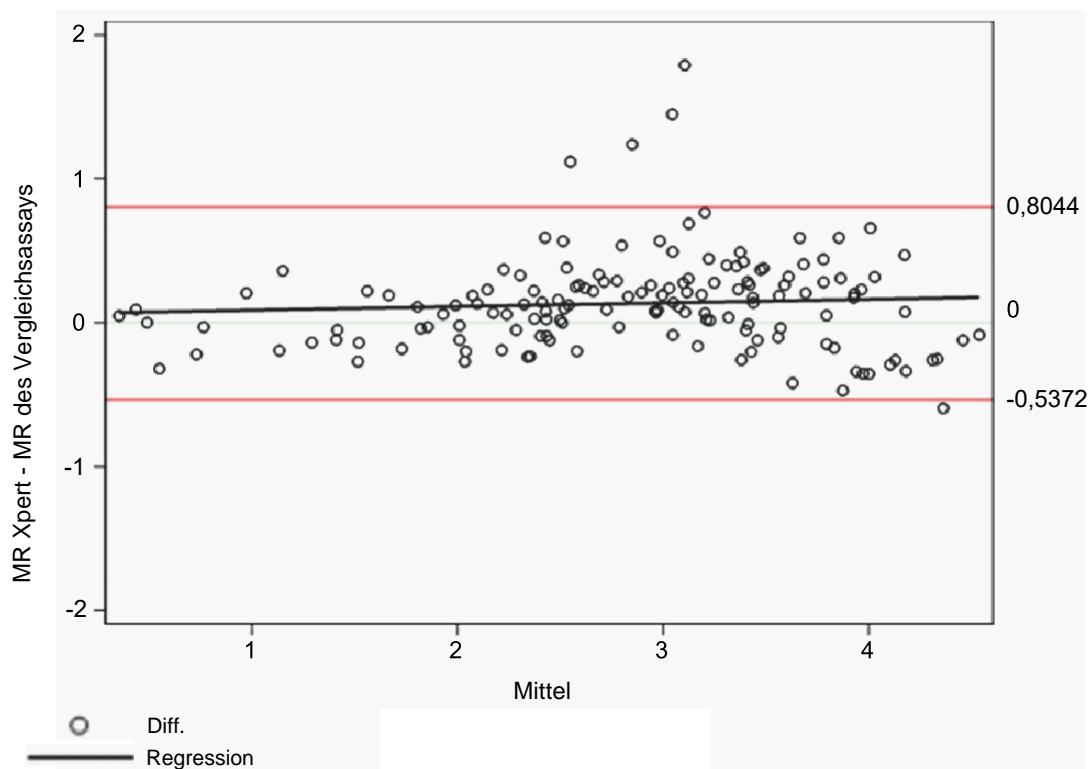


Abbildung 9. Bland-Altman-Differenzanalyse für die MR des Xpert BCR-ABL Ultra Tests gegenüber der MR eines Vergleichsassays für BCR-ABL

Die Mittelwertdifferenz (Bias) wurde mit 0,1336 und einer SD von 0,3354 berechnet. Die Mehrheit (96,6 %, 142/147) der Ergebnisse lag innerhalb des 2SD-Bereichs (zwischen -0,5372 und 0,8044).

21 Analytische Leistungsdaten

21.1 Rückführbarkeit zum WHO-Panel

Die Rückführbarkeit zum 1. internationalen genetischen Referenzpanel der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für die Quantifizierung der BCR-ABL-Translokation durch RQ-PCR (NIBSC-Code: 09/138) wurde durch Ermittlung des WHO-Referenzpanels mit 3 Chargen des Xpert BCR-ABL Ultra Tests und Vergleich der ermittelten Werte mit den in der Gebrauchsanweisung zum Referenzpanel veröffentlichten Werten nachgewiesen.¹⁹ Jede der 4 Referenzpanel-Proben wurde mit mindestens 10 Replikaten pro Assay-Kitcharge getestet. Die ermittelten MR-Werte für jede Konzentration des WHO-Primärpanels wurden mittels Regression zu jeder Charge des Xpert BCR-ABL Ultra Tests berechnet (d. h. die WHO-Panelproben wurden wie klinische Proben behandelt und an das lineare Regressionsmodell der Standardkurve des Assays angepasst). Des Weiteren wurden die ermittelten MR-Werte anhand einer zusätzlichen Regressionsanalyse zur Bestimmung der Werte für Anstieg und Achsenabschnitt mit den veröffentlichten MR-Werten verglichen. Der Anstieg der Linie lag nahe 1 (0,96 bis 1,1) und der Achsenabschnitt wurde mit nahe 0 berechnet (-0,03 bis -0,06).

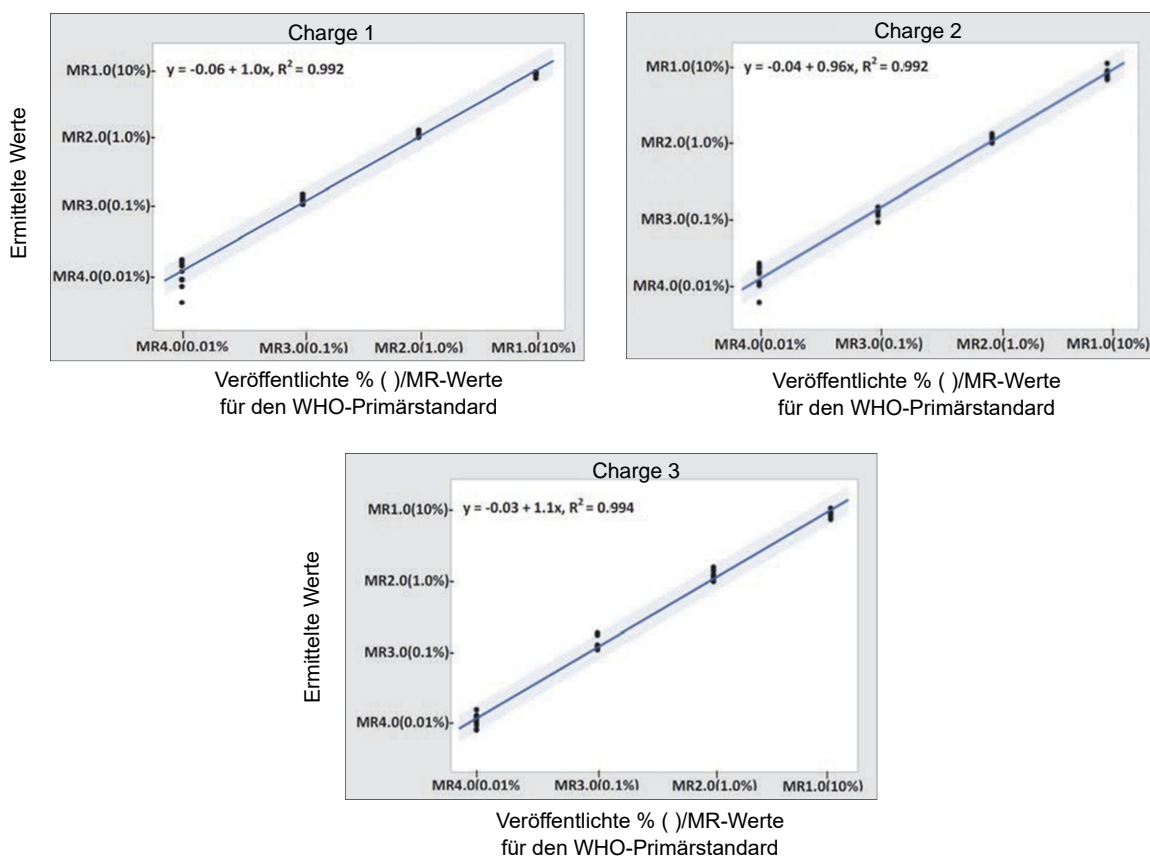


Abbildung 10. Ermittelte gegenüber veröffentlichten Werten für das primäre Referenzpanel der WHO, Charge für Charge.

Die mit dem Xpert BCR-ABL Ultra-Kit generierten MR-Werte (Y-Achse) sind gegen die in der Gebrauchsanweisung zum primären Referenzpanel der WHO veröffentlichten MR-Werte (X-Achse) aufgetragen. Die drei Chargen sind mit (schwarzen) Datenpunkten dargestellt. Regressionsanalysen und Konfidenzintervalle basieren jeweils auf den Daten der einzelnen Chargen.

21.2 Linearität/Dynamikumfang

Die Linearität wurde unabhängig für jeden der beiden Major-Breakpoints e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2 anhand klinischer CML-Proben evaluiert, die spezifisch für eine hohe Konzentration des Breakpoints e13a2/b2a2 bzw. des Breakpoints e14a2/b3a2 waren. Lysat aus jeder CML-Probe mit einer hohen Konzentration an BCR-ABL-Transkript wurde in einem Hintergrundlysat, das aus einer CML-negativen klinischen Probe zubereitet worden war, auf die Zielbereiche von ca. 50 % (IS)/MR0,30 bis 0,000625 % (IS)/MR5,20 verdünnt. Die Panelproben, einschließlich der negativen Konzentration, wurden mit zwei Assay-Kitchargen in 4 Replikaten pro Kitcharge getestet.

Tests und statistische Auswertungen erfolgten gemäß CLSI EP06-A. Die linearen Regressionsanalysen wurden für Polynome erster, zweiter und dritter Ordnung durchgeführt. Die Ergebnisse für jeden Breakpoint galten als linear, wenn die Polynom-Regressionskoeffizienten nicht signifikant waren (p-Werte > 0,05). Die linearen Regressionskurven für beide Transkripte sind in Abbildung 11 und Abbildung 12 unten dargestellt.

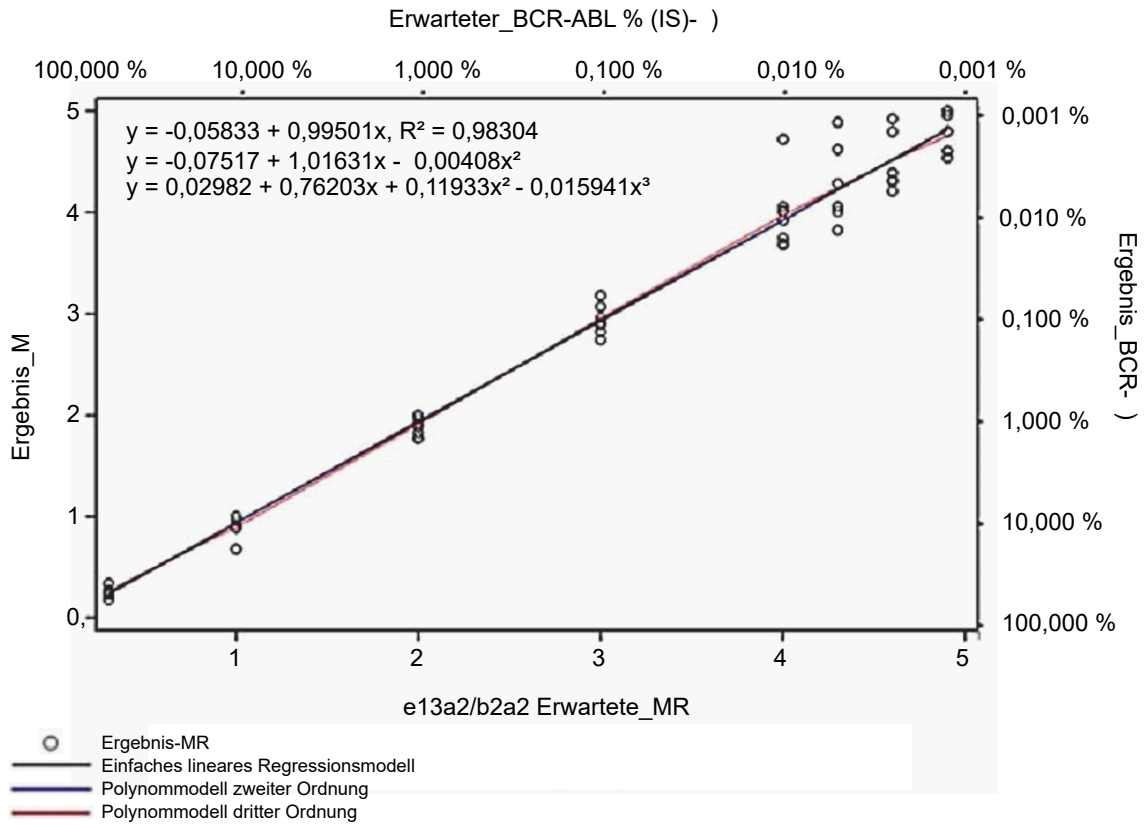


Abbildung 11. Lineare Regressionskurven für Breakpoint-Transkript e13a2/b2a2

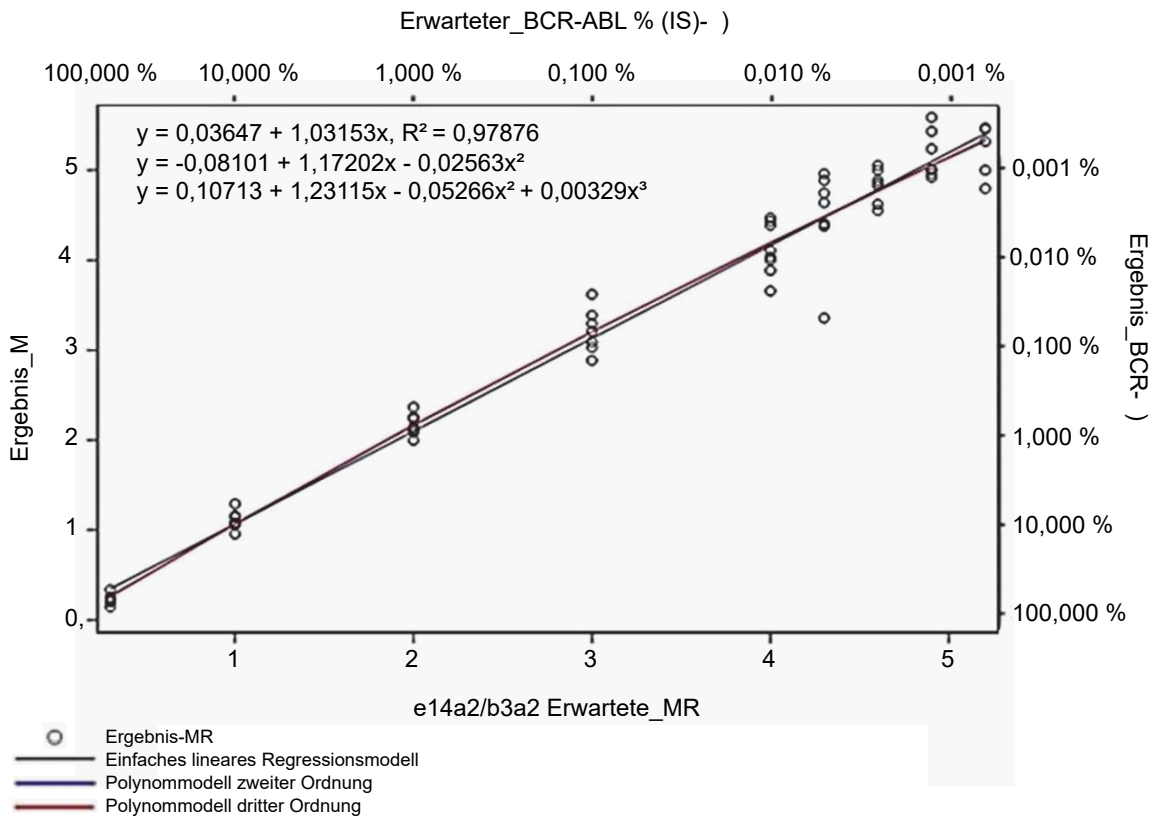


Abbildung 12. Lineare Regressionskurven für Breakpoint-Transkript e14a2/b3a2

Die geschätzten Achsenabschnitte, Anstiege und R²-Werte der Regression vom linearen Modell sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5. Regressionskoeffizienten vom linearen Modell

Breakpoint	Achsenabschnitt	Anstieg	R ²
e13a2/b2a2	-0,05833	0,99501	0,98304
e14a2/b3a2	0,03647	1,03153	0,9788

Zusammengenommen untermauern die Daten eine beobachtete Linearität von mindestens 55 % (IS)/MR0,26 bis ca. 0,0019 % (IS)/MR4,75 mit einer maximalen SD von 0,26. Der berichtbare Bereich reicht von den Grenzen der Linearität bei 55 % (IS)/MR0,26 bis zur LoQ bei 0,0030 % (IS)/MR4,52.

21.3 Analytische Sensitivität (Nachweisgrenze, Quantifizierungsgrenze, Leerprobengrenze)

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) wurde für die beiden Breakpoints e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2 durch die Testung von Serienverdünnungen hoch CML-positiver Proben [$>10\%$ (IS)/MR1] sowie der Testung schwach CML-positiver Proben [$<0,1\%$ (IS)/MR3] geschätzt. Die Daten für jeden Breakpoint bei allen Verdünnungen und Proben wurden separat zusammengefasst und die LoD wurde anhand der Probit-Regressionsanalyse geschätzt. Die resultierende Analyse ergab eine geschätzte LoD von 0,0035 % (IS)/MR4,45 für den Breakpoint e13a2/b2a2 und von 0,0030 % (IS)/MR4,52 für den Breakpoint e14a2/b3a2.

Die LoD wurde durch Adaption der in den CLSI-Richtlinien, Dokument EP17-A2, erläuterten nicht-parametrischen Methode verifiziert (Tabelle 6). Zwei eindeutige CML-positive Proben, die jeweils den Breakpoint repräsentierten, wurden auf eine Zielkonzentration von 0,003 % (IS)/MR4,52 verdünnt. Für e13a2/b2a2 wurden von 2 Benutzern 4 Tage lang über 4 Test-Kitchargen 94 Replikate getestet. Für e14a2/b3a2 wurden von 2 Benutzern 7 Tage lang über 4 Test-Kitchargen 101 Replikate getestet.

Tabelle 6. Verifizierte Nachweisgrenze in % (IS)/MR

Breakpoint	Positive Proben/ Replikate	% der positiven Proben	Median % (IS)/MR
e13a2/b2a2	90/94	95,74 %	0,0030 % (IS)/MR4,52
e14a2/b3a2	97/101	96,04 %	0,0029 % (IS)/MR4,55

Da der Xpert BCR-ABL Ultra Test nicht zwischen den beiden Breakpoints e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2 unterscheidet, wird der höhere der beiden zur LoD für den Assay bestimmt. Somit liegt die Gesamt-LoD des Xpert BCR-ABL Ultra sowohl für e13a2/b2a2 als auch für e14a2/b3a2 bei 0,0030 % (IS)/MR4,52.

Die Quantifizierungsgrenze (Limit of Quantitation, LoQ) wurde mit den Daten aus den LoD-Studien geschätzt. Mittelwert und Standardabweichung für die %-Werte (IS) und die MR-Werte wurden für Replikate bei Konzentrationen gleich der LoD bei 0,0030 % (IS)/MR4,52 oder größer mit einer Positivität größer oder gleich 95 % berechnet. Die LoQ des Assays wird durch die LoD des Assays beschränkt. Daher wurde bestimmt, dass die LoQ gleich der LoD, also 0,0030 % (IS)/MR4,52, ist. Die Ergebnisse wurden zudem gegen die Akzeptanzkriterien für die Standardabweichung (SD) $\leq 0,36$ evaluiert. Die MR-Standardabweichung sowohl für e13a2/b2a2 (beobachteter SD-Bereich: MR0,27–MR0,34) als auch für e14a2/b3a2 (beobachteter SD-Bereich: MR0,29–MR0,31) lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Die Leerprobengrenze (Limit of Blank, LoB) wurde mit 50 vermutlich CML-negativen Blutproben von normalen, gesunden Spendern, die in EDTA-Röhrchen entnommen wurden, ermittelt. Für keinen der Tests wurden messbare BCR-ABL-Werte beobachtet. Somit wurde die Gesamt-LoB mit 0,00 % (IS) bestimmt.

21.4 Analytische Spezifität

Die analytische und klinische Spezifität des Xpert BCR-ABL Ultra wurde anhand der Analyse von EDTA-Vollblutproben, die fünfzig (50) gesunden Spendern (ohne CML) entnommen wurden, und zwanzig (20) leukämischen Proben (AML/ALL) auf Exklusivität evaluiert. Die Breakpoint-Spezifität wurde anhand der Testung von EDTA-Blut normaler, gesunder Spender, dem fünf (5) verschiedene Leukämiezelllinien zugesetzt worden waren, die 3 verschiedene Leukämiearten (CML, ALL

und APL) repräsentierten, und 5 Krankheits-Breakpoints ermittelt: K562 (CML/e14a2/b3a2) und BV173 (CML/e13a2/b2a2) dienten als Positivkontrollen, SUP-B15 (ALL/e1a2), AR230 (CML/e19a2) und NB4 (APL/PML-RARA) wurden auf Spezifität evaluiert.

Vom Xpert BCR-ABL Ultra wurde in keiner der Proben von gesunden Spendern ohne CML oder leukämischen AML/ALL-Proben, die in dieser Studie evaluiert wurden, ein BCR-ABL-Signal nachgewiesen.

Unter den getesteten Leukämiezelllinien erbrachten die CML-Zelllinien (K562 und BV173) mit p210-Major-Breakpoints die erwarteten positiven Ergebnisse. Die CML-Zelllinie (AR230) mit dem p230-Breakpoint e19a2 gab **POSITIV [Unter LoD; >MR4,52/<0,0030% (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])** für 1 von 4 getesteten Replikaten bei der angestrebten Konzentration von 10 % (IS)/MR1,00, basierend auf der Anzahl an K562-Zellen, aus. Das positive Ergebnis für die AR230-Zelllinie war für eine Zielkonzentration 3,52 Log über der LoD des Assays und wurde in den niedrigeren Konzentrationen 1 % (IS)/MR2,00 und 0,1 % (IS)/MR3,00 nicht beobachtet.

Der Xpert BCR-ABL Ultra ist spezifisch für das mit der CML in Zusammenhang stehende p210-BCR-ABL-Fusionstranskript und hat für CML-negative EDTA-Blutproben eine analytische Spezifität von 100 %.

21.5 Kontamination durch Verschleppung

Es wurde eine Studie durchgeführt, um nachzuweisen, dass die abgeschlossenen GeneXpert-Einmalkartuschen eine Kontamination durch Verschleppung zwischen Kartuschen, die nacheinander im selben Modul bearbeitet werden, verhindern. Um dies nachzuweisen, wurden negative Proben im Anschluss an stark positive Proben im gleichen GeneXpert-Modul bearbeitet. Die Studie bestand aus der Bearbeitung einer normalen **NEGATIVEN (NEGATIVE)** EDTA-Probe (CML-negatives Blut) im selben GeneXpert-Modul unmittelbar nach einer hoch-**POSITIVEN (POSITIVE)** Probe (simuliertes CML-positives Blut) mit $4,5 \times 10^5$ Zellen/ml von K562-Zellen, mit denen CML-negatives Blut versetzt wurde, um ca. 10 % (IS)/MR1,00 zu erhalten. Diese Testsequenz wurde fünf Mal auf jedem der vier GeneXpert-Module wiederholt. Alle zwanzig BCR-ABL-positiven Proben wurden korrekt als **POSITIV [#,,##% (IS) und MR#,##] (POSITIVE [#,,##% (IS) and MR#,,##])** ausgegeben, während alle zwanzig BCR-ABL-negativen Proben korrekt als **NEGATIV [ABL-Transkript ausreichend] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])** ausgegeben wurden.

21.6 Potenzielle Störsubstanzen

Diese Studie evaluierte fünf Substanzen, die in EDTA-Vollblutproben vorhanden sein und die Leistung des Xpert BCR-ABL Ultra Tests potenziell stören können. Die getesteten Verbindungen und Konzentrationen (siehe Tabelle 7) basierten auf der Anleitung aus CLSI-Dokument EP07-A2. Störsubstanzen wurden im Hintergrund von klinischen CML-positiven EDTA-Vollblutproben getestet, die drei Konzentrationen mit fünf Proben je Konzentration repräsentierten: >1 % (IS)/<MR2, 0.1-1% (IS)/MR3-MR2, and <0.1% (IS)/>MR3. Die Testkontrollen umfassten klinische CML-Proben in EDTA-Vollblut in der jeweiligen BCR-ABL-Transkript-Konzentration ohne die Störsubstanz. Jede CML-Probe wurde mit und ohne die fünf einzelnen Störsubstanzen in 4 Replikaten pro Bedingung getestet.

Eine Substanz galt als nicht störend, wenn in ihrer Anwesenheit das beobachtete Verhältnis % Mittelwert (IS)/MR im Vergleich zur Kontrolle innerhalb der 3-fachen Differenz lag.

Bei keiner der in dieser Studie evaluierten Störsubstanzen wurde eine klinisch signifikante Hemmwirkung auf den Xpert BCR-ABL Ultra Test beobachtet. Es wurden zwar bei einigen getesteten Bedingungen eine gewisse Variabilität und statistisch signifikante Unterschiede (p-Wert <0,05) beobachtet, doch die ausgegebenen % (IS)/MR-Verhältnisse für die Test- und Kontrollbedingungen lagen im akzeptablen 3-fachen Bereich.

Tabelle 7. Mit dem Xpert BCR-ABL Ultra getestete potenzielle Störsubstanzen

Störsubstanzen	Getestete Konzentration
Unkonjugiertes Bilirubin	20 mg/dl
Cholesterin, insgesamt	500 mg/dl
Triglyceride, insgesamt (Lipide)	1800 mg/dl
Heparin	3500 E/l
EDTA (geringes Abnahmevervolumen)	750 mg/dl (5X)

22 Genauigkeit und Reproduzierbarkeit

Genauigkeit und Reproduzierbarkeit des Xpert BCR-ABL Ultra Tests wurden in einer multizentrischen Studie gemäß CLSI EP05-A3, „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline“ und CLSI EP15-A3, „User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline“ evaluiert.

Ein Panel aus elf Proben wurde vorbereitet, das folgende Probentypen umfasste: eine BCR-ABL-negative Probe, zwei Proben an der Nachweisgrenze (LoD) und acht Proben aus den Stufen 1–4 der molekularen Remission (MR), wobei die beiden Zieltranskripte verwendet wurden, die vom Xpert BCR-ABL Ultra Test nachgewiesen werden: e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2. Das Probenpanel wurde durch Verdünnung von Bulk-Lysat aus Proben mit hoher BCR-ABL/ABL-Konzentration von Patienten mit CML in gepooltes Vollblut, das von gesunden Spendern stammte, erstellt, um die gewünschte Konzentration zu erzielen.

Tabelle 8 zeigt die elf Proben, die in diese Studie aufgenommen wurden.

Tabelle 8. Reproduzierbarkeitspanel für Xpert BCR-ABL Ultra

Probe Nr.	Beschreibung	% (IS)
1	MR1,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL bei ~ 10 % (IS)
2	MR1,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL bei ~ 10 % (IS)
3	MR2,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL bei ~ 1 % (IS)
4	MR2,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL bei ~ 1 % (IS)
5	MR3,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL bei ~ 0,1 % (IS)
6	MR3,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL bei ~ 0,1 % (IS)
7	MR4,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL bei ~ 0,01 % (IS)
8	MR4,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL bei ~ 0,01 % (IS)
9	Nahe der LoD e13a2/b2a2	BCR-ABL bei ~ 0,005 % (IS)
10	Nahe der LoD e14a2/b3a2	BCR-ABL bei ~ 0,005 % (IS)
11	Negativ	BCR-ABL nicht nachgewiesen

Jede der elf Panelproben wurde an drei verschiedenen Testzentren zweimal täglich an vier verschiedenen Tagen von jeweils drei verschiedenen Benutzern doppelt getestet. Drei Chargen Xpert BCR-ABL Ultra-Kits wurden verwendet und jeder Benutzer führte Tests mit einer Charge durch (3 Testzentren x 3 Chargen x 1 Benutzer/Charge x 4 Tage x 2 Durchläufe/ Benutzer x 2 Replikate/Durchlauf = 144 Replikate/Panelprobe).

Die quantitativen Ergebnisse wurden anhand einer Varianzanalyse (ANOVA) analysiert und die Hauptkomponenten der Varianz wurden identifiziert.

Die Ergebnisse der ANOVA-Analyse für die einzelnen Panelproben sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9. Reproduzierbarkeitsstudie: Ergebnisse der Varianzanalyse

Probe	N	Mittelwert (MR)	Zentrum/ Instrument SD	Benutzer/ Charge SD	Tag SD	Innerhalb eines Durchlaufs SD	SD insgesamt ^a
Ziel MR1,0 e13a2/b2a2	144	0,96	0,	0,05	0,01	0,06	0,08
Ziel MR1,0 e14a2/b3a2	144	0,99	0,	0,06	0,	0,08	0,1
Ziel MR2,0 e13a2/b2a2	143	2,04	0,	0,06	0,02	0,10	0,11
Ziel MR2,0 e14a2/b3a2	144	2,09	0,03	0,07	0,02	0,10	0,13
Ziel MR3,0 e13a2/b2a2	144	2,89	0,06	0,04	0,03	0,10	0,12
Ziel MR3,0 e14a2/b3a2	144	3,12	0,06	0,08	0,	0,11	0,15

Probe	N	Mittelwert (MR)	Zentrum/ Instrument SD	Benutzer/ Charge SD	Tag SD	Innerhalb eines Durchlaufs SD	SD insgesamt ^a
Ziel MR4,0 e13a2/b2a2	143 ^b	3,67	0,03	0,02	0,	0,15	0,15
Ziel MR4,0 e14a2/b3a2	144	3,91	0,05	0,08	0,04	0,14	0,17
Ziel MR>4,0 e13a2/b2a2	140 ^c	4,36	0,04	0,04	0,	0,33	0,33
Ziel MR>4,0 e14a2/b3a2	143 ^d	4,22	0,03	0,08	0,	0,17	0,19

^a Der Xpert BCR-ABL Ultra Test zur Durchführung auf den Systemen GeneXpert Dx und GeneXpert Infinity integriert die Probenreinigung und die Nukleinsäureamplifikation. Die in dieser Studie beobachtete Gesamtvariabilität des Tests (angegeben als SD insgesamt) enthält die Variabilität aufgrund der Schritte zur Probenvorbereitung im System und zur RT-qPCR.

^b Ein Replikat, das bei der Konzentration von 99 % laut CLSI EP15-A3 die Bedingungen für Ausreißer erfüllte, wurde aus der Analyse entfernt.

^c 4 Proben unter den 144 Testergebnissen erzielten das Ergebnis NEGATIV (NEGATIVE).

^d 1 Probe unter den 144 Testergebnissen erzielte das Ergebnis NEGATIV (NEGATIVE).

Die beobachtete Gesamt-Standardabweichung für Proben bei MR1, MR2 und MR3 betrug $\leq 0,15$. Die maximale beobachtete Gesamt-Standardabweichung für Proben nahe der LoD und MR4 betrug 0,33.

23 Literatur

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics 2008; CA Cancer J Clin. 2008;58:71-96.
2. NIH/NCI – Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER). Cancer Stat Facts: Chronic Myeloid Leukemia (CML). Aufgerufen am 21. Dezember 2018. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cm1.html>
3. Thompson PA, Kantarjian HM, Cortes JE. Diagnosis and Treatment of Chronic Myeloid Leukemia in 2015. Mayo Clin Proc. 2015;90(10):1440-1454.
4. Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. Blood. 2005;105(7):2640-2653.
5. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. Blood. 2006;108(1):28-37.
6. NCCN. Clinical Practice Guidelines in Oncology; Chronic Myelogenous Leukemia (Access Version 1, 2019).
7. White H, Matejtschuk P, Rigsby P, et al. Establishment of the first World Organization International Generic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. Blood. 2010; 116:e111-e117.
8. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2003;17:2318-2357.
9. Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VH, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) - a Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2003;17:2474-2486.
10. van der Velden VH, Boeckx N, Gonzalez M, et al. Differential stability of control gene and fusion gene transcripts over time may hamper accurate quantification of minimal residual disease—a study within the Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2004;18:884-886.
11. van der Velden VH, Hochhaus A, Cazzaniga G, et al. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspects. Leukemia. 2003;17:1013-1034.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (siehe aktuellste Ausgabe). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (siehe aktuellste Ausgabe).
14. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. Bulletin of the World Health Organization (siehe aktuellste Ausgabe).
15. VERORDNUNG (EG) NR. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und

- Aufhebung der Liste der Sicherheitshinweise, Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG (Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006).
16. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
 17. Baccarani M. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013 Jun;122(6):872-884.
 18. Hochhaus A. et al. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. *Annals of Oncology*. 2017 May; 28(4):iv41-iv51.
 19. WHO International Standard 1st WHO International Genetic Reference Panel for the quantitation of BCR-ABL translocation NIBSC code: 09/138. Instructions for use. (Version 4.0., Dated 13/12/2012).

24 Standorte der Cepheid-Zentralen

Konzernzentrale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Konzernzentrale in Europa

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

25 Technische Unterstützung

Bevor Sie uns kontaktieren

Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:

- Produktname
- Chargenbezeichnung
- Seriennummer des Instruments
- Fehlermeldungen (falls vorhanden)
- Software-Version und gegebenenfalls „Service Tag“ (Service-Kennnummer) des Computers

Vereinigte Staaten von Amerika





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








Frankreich

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

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendiensts von Cepheid finden Sie auf unserer Website: www.cepheid.com/en/support/contact-us

26 Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	CE-Kennzeichnung – Einhaltung der EU-Richtlinien
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Chargencode

Symbol	Bedeutung
	Nicht wiederverwenden
	Verfallsdatum
	Achtung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Hersteller
	Herstellungsland
	Inhalt reicht aus für n Tests
CONTROL	Kontrolle
	Temperaturbegrenzung
	Biologische Risiken
	Entzündbare Flüssigkeiten
	Reproduktions- und Organtoxizität
EC REP	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
CH REP	Bevollmächtigter in der Schweiz
	Importeur



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300 Fax: + 33 563 825 301



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



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



27 Revisionsverlauf

Beschreibung der Änderung: 302-0742, Rev. C auf Rev. D

Zweck: Zur Konformität mit der Schweizer IvDV (Verordnung über IvDs für die Schweiz)

Abschnitt	Beschreibung der Änderung
6.3	„Empfohlene, jedoch nicht mitgelieferte Materialien“ hinzugefügt.
26	Symbole „CH REP“ und „Importeur“ sowie die entsprechenden Beschreibungen zur Symbolerklärung hinzugefügt. Symbole „CH REP“ und „Importeur“ sowie die Adresse für die Schweiz hinzugefügt.