

Technische Schulung Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

GXBCRABLP190-CE-10

Nur zur Verwendung als CE-IVD



Schulungsprogramm

- 1 Überblick
- 2 Lagerung und Handhabung des Kits
- 3 Entnahme, Transport und Lagerung von Proben
- 4 Kartuschenvorbereitung
- 5 Qualitätskontrollen
- 6 Interpretation der Ergebnisse
- 7 Fehlerbehebung
- 8 Testwiederholung



Schulungsziele

Am Ende der Schulung haben die Anwender folgende Kenntnisse erworben:

- Sachgemäße Lagerung und Handhabung der Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Kartuschenkits und des Probenentnahme-Kits
- Korrekte Befolgung der Vorsichtsmaßnahmen zur Sicherheit im Labor
- Entnahme und Transport geeigneter Proben
- Vorbereitung der Kartusche und Durchführung des Xpert BCR-ABL Ultra p190-Tests
- Weitergabe der verschiedenen von der Software ausgegebenen Ergebnisse
- Verständnis der Kontrollstrategie des Xpert BCR-ABL Ultra p190

Die Lösung von Cepheid



- Quantitativer Nachweis
 - BCR-ABL1-p190- und ABL1-mRNA-Transkripte in peripheren Blutproben
- Eingebaute interne Kontrollen für jede einzelne Probe
 - Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC)
 - Endogene ABL1-Kontrolle
- Zeit bis zu den Ergebnissen **ca. 2,5 Stunden** (einschließlich Hands-on-Time)
- System mit geschlossenen Kartuschen minimiert das Kontaminationsrisiko
- Ergebnisse jederzeit und nach Bedarf
- Wahlfreier Zugriff

Verwendungszweck

- Der Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Test ist ein diagnostischer In-vitro-Test für eine Verwendung auf dem Cepheid GeneXpert® Dx System zur Quantifizierung von BCR-ABL1-p190- und ABL1-mRNA-Transkripten in peripheren Blutproben von Patient/innen mit chronischer myeloischer Leukämie (CML) und akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) mit Expression des BCR-ABL1-Fusionstranskripts Typ e1a2, bei denen das Philadelphia-Chromosom (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] diagnostiziert wurde. Der Test verwendet eine automatisierte, quantitative Echtzeit-Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR) und ist für die Messung des prozentualen Verhältnisses von BCR-ABL1-p190-mRNA zu ABL1-mRNA bei t(9;22)-positiven CML- oder ALL-Patient/innen während des Monitorings der Behandlung bestimmt.
- Der Test ist nicht zum Monitoring anderer aus t(9;22) resultierenden Fusionstranskripte und nicht für die Diagnose von CML oder ALL bestimmt.

Vorgesehene Anwender/Umgebung

- Der Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Test ist zur Durchführung durch geschultes Personal im Labor bestimmt.

Zielsequenzen

- Der Xpert® BCR-ABL Ultra p190 ist ein automatisierter Test zur Quantifizierung der Menge von BCR-ABL1-p190-Transkripten als Verhältnis von BCR-ABL1 p190/ABL1.
- BCR-ABL1-p190- und ABL1-mRNA-Transkripte in peripheren Blutproben von Patient/innen mit chronischer myeloischer Leukämie (CML) und akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) mit Expression des BCR-ABL1-Fusionstranskripts Typ e1a2, bei denen das Philadelphia-Chromosom (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] diagnostiziert wurde

Voraussetzungen für den Xpert® BCR-ABL Ultra p190

GeneXpert® Systeme

- GeneXpert Dx Software ab **v6.2**

Testkits

- GXBCRABLP190-CE-10

Probenentnahme

- Vollblut

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- EDTA-Röhrchen
- Drucker
- Vortex-Mixer
- Mikrozentrifuge (mindestens 1000 x g)
- Pipetten und Aerosolfilter-Pipetten
- Konische 50-ml-Röhrchen
- Reines Ethanol in Reagenzqualität

Sonstige Materialien

- Persönliche Schutzausrüstung (PSA)
- 1:10 verdünnte Chlorbleiche
- 70%iges Ethanol oder denaturiertes Ethanol

Gute Laborpraxis – Überblick

Persönliche Schutzausrüstung (PSA)

- Saubere Laborkittel, Schutzbrille und Handschuhe tragen.
- Nach der Bearbeitung jeder einzelnen Probe die Handschuhe wechseln.

Lagerung von Patienten- und sonstigen Proben sowie Kits

- Patienten- und sonstige Proben getrennt vom Kit lagern, um Kontaminationen zu vermeiden.



Labortischbereich

- Arbeitsflächen routinemäßig reinigen mit:
 - ✓ 1:10 verdünnter haushaltsüblicher Chlorbleiche*
 - ✓ 70%iger Ethanollösung
- Nach der Reinigung dafür sorgen, dass die Oberflächen trocken sind.

Ausrüstung

- Pipettenspitzen mit Filter verwenden, wo diese empfohlen werden.
- Vorgaben des jeweiligen Herstellers zu Kalibrierung und Wartung der Geräte befolgen.

* Die Endkonzentration von aktivem Chlor sollte unabhängig von der im jeweiligen Land üblichen Chlorbleiche 0,5 % betragen.

Lagerung und Handhabung des Kits

Inhalt des Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Kits

Bestellnummer

GXBCRABLP190-CE-10

Kartuschen* pro Kit

10

Reagenzienfläschchen
(jeweils 10)

Proteinase K (PK)
Lysereagenz (LY)
Waschreagenz (1)

Kit-CD

Assay-Definitionsdatei (ADF) des
Xpert® BCR-ABL Ultra p190
Anleitungen für den Import des
Xpert® BCR-ABL Ultra p190
Gebrauchsanweisung (PDF)

Lagerung

2–8 °C

* Die Kartuschen enthalten chemisch gefährliche Substanzen. Ausführliche Informationen sind der Gebrauchsanweisung (Instructions for Use, IFU) und dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.



Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Die Kartuschen erst dann öffnen, wenn die Testdurchführung unmittelbar bevorsteht.
- Keine Kartuschen verwenden, die
 - nass aussehen, undicht sind oder deren Deckelversiegelung aufgebrochen zu sein scheint.
 - sichtbare Schäden aufweisen.
 - nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.
 - nach der Zugabe der Probe fallen gelassen oder geschüttelt wurden.
 - einen beschädigten Reaktionsbehälter aufweisen.
 - bereits benutzt wurden. Jede Einweg-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests.
 - abgelaufen sind.
- Pipetten nicht wiederverwenden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen zur Abfallentsorgung

- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und gemäß 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 der WHO (Weltgesundheitsorganisation) zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen entsorgt werden.
- Bitte beachten Sie: Gebrauchte Kartuschen können sowohl potenziell infektiöse Materialien als auch hochamplifizierte PCR-Zielsequenzen enthalten. Die Kartusche darf zur Entsorgung nicht geöffnet oder verändert werden.



Einschränkungen des Xpert® BCR-ABL Ultra p190

- Das Produkt ist nur für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Der Test ist nicht zur Verwendung mit externen Kalibratoren bestimmt.
- Der Test ist weder für die Bestimmung des Absetzens einer TKI-Behandlung noch für das Monitoring nach dem Absetzen indiziert.
- Die Leistung des Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Tests wurde ausschließlich anhand der Vorgehensweisen evaluiert, die in dieser Gebrauchsanweisung 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 Probentypen Natriumcitrat (NaCitrat), Buffy-Coat und Knochenmark wurden nicht validiert.

Einschränkungen des Xpert® BCR-ABL Ultra p190 (Fortsetzung)

- Zu fehlerhaften Testergebnissen kann es kommen, wenn die Probe unsachgemäß entnommen, gehandhabt oder gelagert wurde oder Proben verwechselt wurden. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanweisung ist notwendig, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden.
- Der Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Test ist ausschließlich zum Nachweis des BCR-ABL-p190-Fusionstranskripts e1a2 vorgesehen. Die Fähigkeit zum Nachweis anderer Fusionstranskripte über die in der Gebrauchsanweisung angegebenen hinaus wurde bislang nicht untersucht. Der Test kann Minor- bzw. Mikro-Breakpoints oder Mikrodeletionen bzw. -mutationen nicht nachweisen.
- Der Xpert BCR-ABL Ultra p190 ist nicht zum Nachweis von e13a2/b2a2 und e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) oder anderen Minor-Translokationen bestimmt, die möglicherweise in einer peripheren Blutprobe von Leukämiepatient/innen enthalten sind.
- Bei manchen Proben mit sehr hoher Leukozytenzahl (über 30 Millionen Zellen/ml) gibt der Xpert BCR-ABL Ultra p190 unter Umständen aufgrund einer zu hohen BCR-ABL-p190- oder ABL-Konzentration in der Probe das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** (Typ 2) aus. Weitere Informationen sind Tabelle 2 der Gebrauchsanweisung zu entnehmen.

Einschränkungen des Xpert® BCR-ABL Ultra p190 (Fortsetzung)

- 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/der Patienten/Patientin 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 Tests (0,0065 %) 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.
- Bei manchen Patient/innen mit sehr geringer BCR-ABL1-Transkript-Konzentration (d. h. unter LoD 0,0065 %) wird eventuell das Ergebnis **BCR-ABL p190 NICHT ERMITTELT [ABL-Transkript ausreichend] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])** ausgegeben. Ein Ergebnis ohne Nachweis schließt daher nicht aus, dass bei der/dem Patient/in Leukämiezellen in niedriger Konzentration vorhanden sind.
- Der Test ist für die Verwendung auf dem GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI) validiert.

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben



Transport und Lagerung von Proben

Vollblutproben sollten unter Befolgung der Richtlinien Ihrer Einrichtung in EDTA-Röhrchen entnommen werden.

Probentyp

Lagerung

Vollblutprobe

2–8 °C für ≤ 72 Stunden

Kartuschenvorbereitung

Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Kartusche

Eine Probe mit unbekannter Leukozytenzahl (WBC) oder Proben mit weniger als 30 Millionen Leukozyten/ml vorbereiten

Lysat- und Kartuschenvorbereitung

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NPM1 Mutation

Ausführliche Anweisungen, Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise sind der Packungsbeilage zu entnehmen.

Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblatts ist erhältlich unter www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com

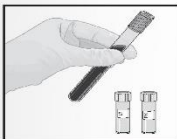
Technischer Kundendienst von Cepheid
Büro USA +1 (888) 838-3222, Option 2
techsupport@cepheid.com
Büro Europa +33 563 82 53 19

Folgende Komponenten 20 Minuten vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur (20 °C–30 °C) kommen lassen.

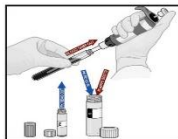
- Blutprobe
- Kartusche
- Reagenzien zur Probenvorbereitung



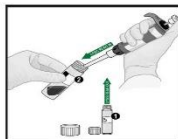
- 1 EDTA-Vollblut und Reagenzien zur Probenvorbereitung aus dem Kühlschrank nehmen. EDTA-Vollblut auf den Wippschüttler stellen oder 8 Mal umdrehen, bevor die Probe entnommen wird.



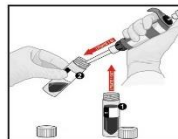
- 2 PK-Reagenz kurz zentrifugieren. 100 µl PK-Reagenz in ein konisches 50-ml-Röhrchen geben. Anschließend 4 ml gut durchmisches EDTA-Vollblut in das gleiche konische 50-ml-Röhrchen geben. 3 s im Vortexer mischen und 1 min bei RT inkubieren.



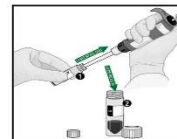
- 3 2,5 ml Lyseagenz (LY) in das gleiche Röhrchen geben, 10 s im Vortexer mischen und 5 min bei RT inkubieren. Erneut 10 s im Vortexer mischen und zum 2. Mal 5 min inkubieren. Röhrchen zum Mischen 10x leicht aufstoßen.



- 4 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen. Verbleibendes Lysat für eine eventuelle Testwiederholung aufbewahren.



- 5 1,5 ml Lyseagenz (LY) in das neue konische Röhrchen mit dem vorbereiteten Lysat geben. 10 s im Vortexer mischen und 10 min bei RT inkubieren.



- 6 2 ml absolutes EtOH von Reagenzqualität in das gleiche konische Röhrchen geben. 10 s im Vortexer mischen und beiseite stellen. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz verwerten.



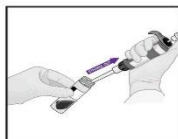
- 7 Den Deckel der Xpert Testkartusche öffnen.



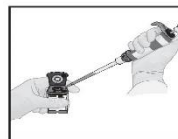
- 8 Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen (mit der schmalen Öffnung).



- 9 Den gesamten Inhalt des endgültigen vorbereiteten Lysats aus dem konischen Röhrchen pipettieren.



- 10 Die vorbereitete Probe (~4,5 ml) vollständig in die Probenkammer transferieren.



- 11 Den Deckel der Xpert Kartusche schließen.



- 12 Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.



Vorbereitung der Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Kartusche

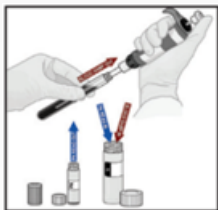
Eine Probe mit einer Leukozytenzahl über 30 Millionen Leukozyten/ml vorbereiten

1. Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem das EDTA-Blutsammelröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8-mal invertiert wird.



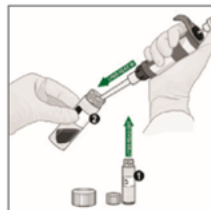
5. Den Kartuschendeckel öffnen.

2. Auf den Boden eines neuen konischen 50-ml-Röhrchens 100 µl PK (Proteinase K) hinzufügen. **50 µl der Blutprobe hinzufügen.** Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen. 1 Minute lang bei Zimmertemperatur inkubieren.



6. Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen.

3. In dasselbe Röhrchen 2,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. 5 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubieren. Vortex- und Inkubationsschritt mit den gleichen Zeiten wiederholen.



7. Die vorbereitete Probe vollständig in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren.

4. In dasselbe konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität geben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Zimmertemperatur zur Seite stellen. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz entsorgen.



8. Die Kartusche mit dem Deckel verschließen und mit dem Assay beginnen.

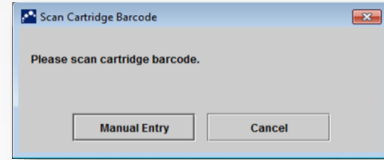
Durchführung eines Tests auf dem GeneXpert® Dx

1 Test erstellen.



Der Test muss **innerhalb von 1 Stunde** nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.

2 Barcode für Patienten-ID (Patient ID) und/oder Proben-ID (Sample ID) scannen.



Nicht auf „Manueller Eintrag“ (Manual Entry) oder „Abbrechen“ (Cancel) klicken.

3 Kartusche scannen.



Durchführung eines Tests auf dem GeneXpert® Dx (Fortsetzung)

4 Erforderliche Felder ausfüllen.

5 Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Test wird automatisch ausgewählt.

6 Das Modul wird automatisch ausgewählt.

7 Auf „Test starten“ (Start Test) klicken

8 Am Modul blinkt eine grüne Leuchte.
Kartusche in das Modul laden und Klappe schließen.

Create Test

Patient ID
Sample ID
Patient ID 2
Last Name

Name
Select Assay Xpert BCR-ABL p190
Select Module A3
Reagent Lot ID* 16119 Expiration Date* 2016/1/17
Test Type Specimen
Sample Type Other Other S
Notes

Start Test Scan Cartridge Barco



Automatisiertes Xpert® BCR-ABL Ultra p190-Protokoll

1

Probe wird in die Kartusche gegeben.

2

Kartusche wird in das System geladen.

3

Nukleinsäuren werden gereinigt.

Gereinigte Nukleinsäuren vermischen sich mit PCR-Reagenzien.

4

Amplifikation und Nachweis erfolgen gleichzeitig.

5

Ergebnisse liegen vor.

6



Qualitätskontrollen

Kontrollenstrategie des Xpert[®] BCR-ABL p190

CONTROL

- Qualitätskontrollen des Xpert[®] BCR-ABL p190
 - Jede Xpert-Kartusche ist eine geschlossene Testeinheit.
 - Cepheid hat spezielle molekulare Methoden entwickelt, um interne Kontrollen ins Verfahren aufzunehmen, mit denen das System in jeder Kartusche bestimmte Fehlermodi erkennen kann. Eingebaute interne Kontrollen für jede einzelne Probe
 - Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC)
 - Endogene ABL1-Kontrolle

Interpretation der Ergebnisse

Quantitative Ergebnisse

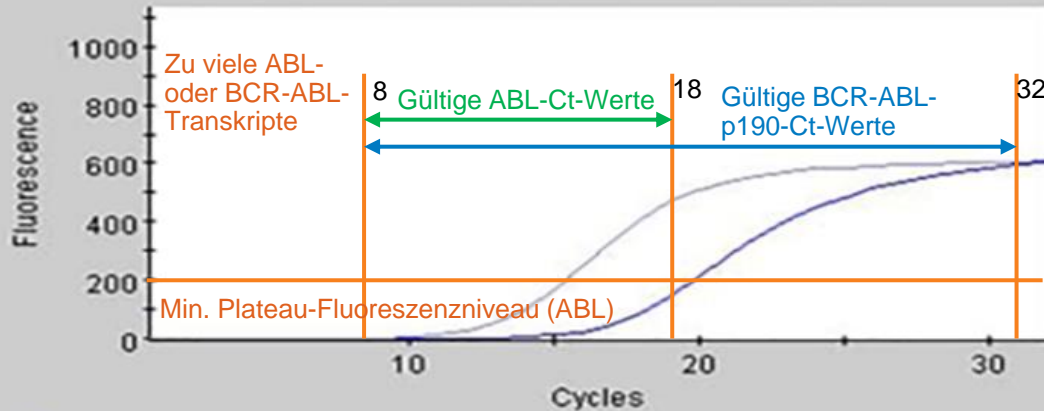
- GeneXpert® Systeme berechnen die Ergebnisse automatisch auf der Grundlage der vom Test generierten Schwellenwert-Zykluswerte (threshold cycle, Ct) und der chargenspezifischen, während der Herstellung zugewiesenen Parameter. Die Software wendet den folgenden Algorithmus an, wobei der ΔCt (Delta Ct)-Wert die Differenz von ABL-Ct minus BCR-ABL-p190-Ct ist und Effizienz (E) und Skalierungsfaktor (Scaling Factor) chargenspezifische Werte sind.
 - Prozentuales Verhältnis = $\text{Effizienz}^{(\Delta Ct)} \times \text{Skalierungsfaktor} \times 100$
- Mithilfe der Effizienz- und Skalierungsfaktorwerte wird die Quantifizierung von BCR-ABL-p190(e1a2)- und ABL-1-Transkripten auf die Kopienzahlen von synthetischer, in vitro transkribierter RNA (IVT-RNA) von BCR-ABL-p190 und ABL 1 als Primärstandards kalibriert.
- Effizienz- und Skalierungsfaktorwerte sind im Barcode aller Kartuschen codiert. Datenblätter mit Chargenspezifikationen sind über den technischen Kundendienst von Cepheid erhältlich.

Gültige Ct- und Fluoreszenzwerte

Test Result

BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%]

For In Vitro Diagnostic Use Only



Legend

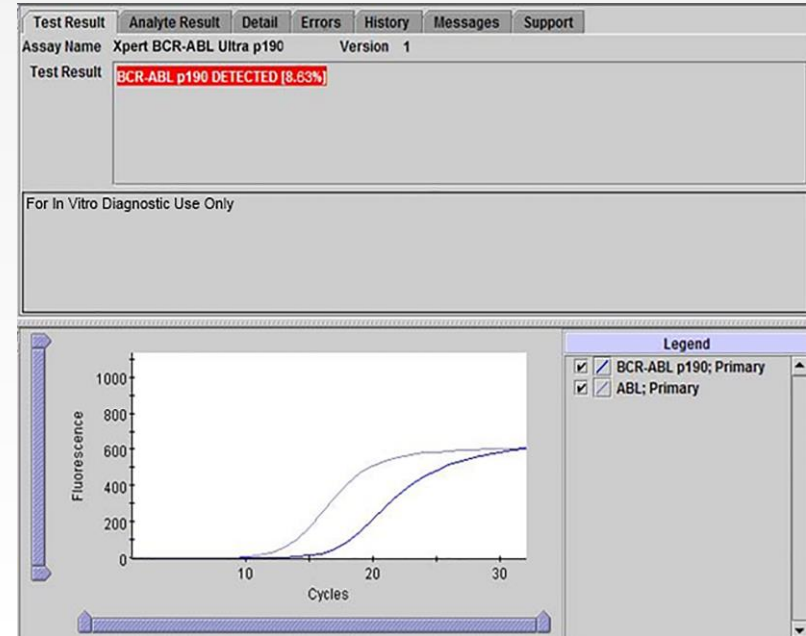
- BCR-ABL p190; Primary
- ABL; Primary

Auf „BCR-ABL p190 ermittelt“ (BCR-ABL p190 Detected) lautende Ergebnisse

- Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC) muss BEST. (PASS) sein
- ABL Endogene Kontrolle must BEST. (PASS) sein:
 - Schwellenwert-Zyklus (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs $8 \leq Ct \leq 18$
 - und Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts
- BCR-ABL p190 muss „Ermittelt“ (Detected) sein:
 - Schwellenwert-Zyklus (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs $8 \leq Ct \leq 32$
 - und Endpunkt oberhalb des Schwellenwerts

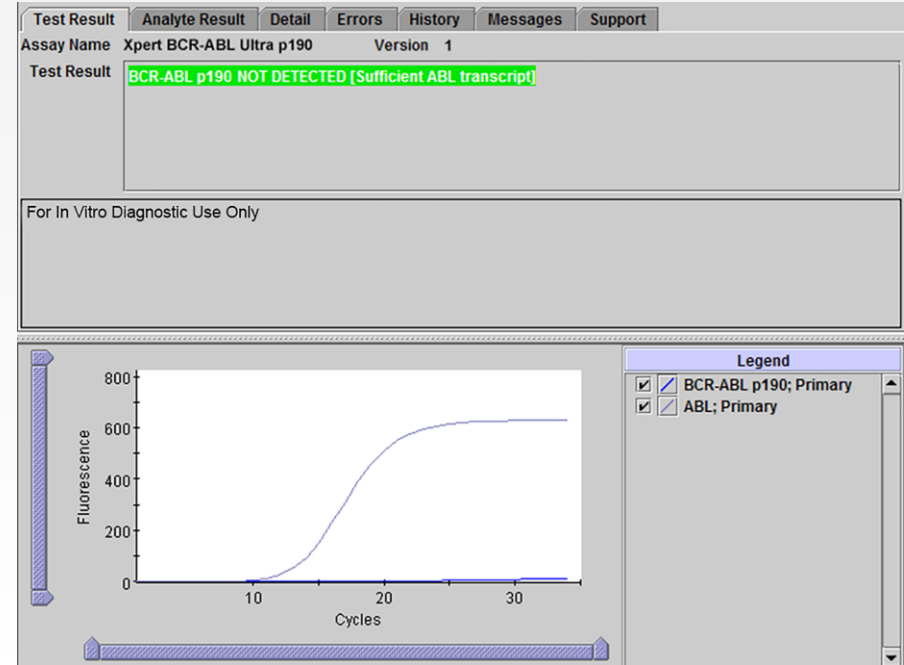
Auf „BCR-ABL p190 ermittelt“ (BCR-ABL p190 Detected) lautende Ergebnisse

- Assayergebnis:
 - BCR-ABL p190 ERMITTELT [# ,## %] (BCR-ABL p190 DETECTED [# ,##%])
 - BCR-ABL p190 ERMITTELT [Unter LoD; < 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD, <0,0065%])
 - BCR-ABL p190 ERMITTELT [Über oberer LoQ] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])
- Weitere Beispiele für auf „Ermittelt“ (Detected) lautende Ergebnisse sind in der Gebrauchsanweisung zu finden.



BCR-ABL NICHT ERMITTELT (BCR-ABL p190 NOT DETECTED)

- Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC) muss BEST. (PASS) sein
- ABL Endogene Kontrolle must BEST. (PASS) sein:
 - Schwellenwert-Zyklus (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs $8 \leq Ct \leq 18$
 - und Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts
- BCR-ABL p190 muss „NICHT ermittelt“ (NOT Detected) sein:
 - Kein Schwellenwert-Zyklus (Ct) ($Ct = 0$) oder
 - Endpunkt unterhalb des eingestellten Schwellenwerts
- Assayergebnis:
- BCR-ABL p190 NICHT ERMITTELT [ABL-Transkript ausreichend] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])



Fehlerbehebung

Faktoren mit negativem Einfluss auf die Ergebnisse

- Unsachgemäße Probenentnahme
 - Die Leistung dieses Assays bei Verwendung anderer Probentypen oder Proben wurde nicht untersucht.
- Unzureichende Organismenanzahl in der Probe
- Unsachgemäßer Transport oder unsachgemäße Lagerung der entnommenen Probe
 - Die Lagerungs- und Transportbedingungen sind probenspezifisch.
 - Anweisungen zur sachgemäßen Handhabung sind der Gebrauchsanweisung zu entnehmen.
- Unsachgemäßes Testverfahren
 - Änderungen an den Testverfahren können die Leistung des Tests beeinträchtigen.
 - Die Gebrauchsanweisung ist sorgfältig zu befolgen, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden.

Ergebnis BCR-ABL p190 UNGÜLTIG (BCR-ABL p190 INVALID)

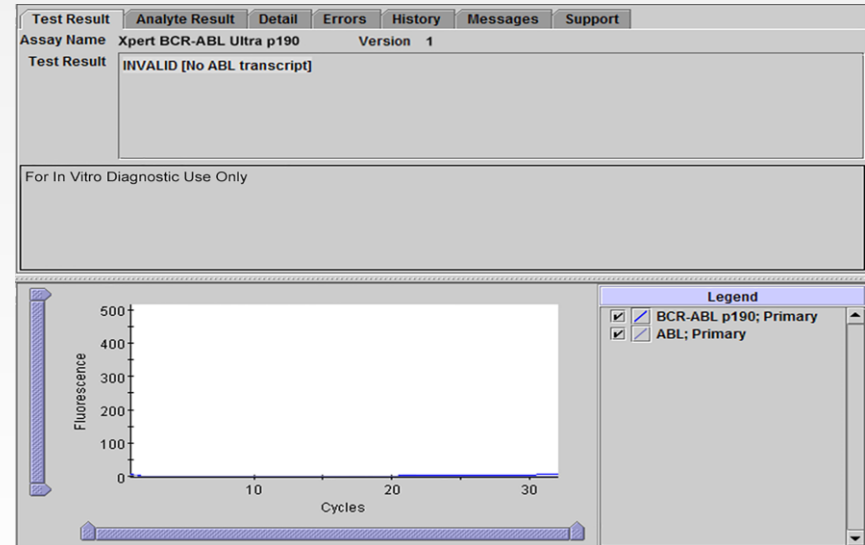
- Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC) muss BEST. (PASS) sein
- Endogene ABL-Kontrolle DEFEKT (FAIL)/BEST. (PASS)
 - Schwellenwert-Zyklus (Ct) nicht innerhalb des gültigen Bereichs $8 \leq Ct \leq 18$ oder
 - Endpunkt unterhalb des eingestellten Schwellenwerts
- BCR-ABL p190 UNGÜLTIG (BCR-ABL p190 INVALID)
 - Schwellenwert-Zyklus (Ct) nicht innerhalb des gültigen Bereichs $8 \leq Ct \leq 32$

Ergebnis BCR-ABL p190 UNGÜLTIG (BCR-ABL p190 INVALID)

- Assayergebnisse

- UNGÜLTIG [Kein ABL-Transkript] (INVALID [No ABL transcript])
- UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])
- UNGÜLTIG [BCR-ABL-p190- und ABL-Transkript zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcript])
- UNGÜLTIG [BCR-ABL-p190-Transkript zu hoch] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])
- UNGÜLTIG [ABL-Transkript zu hoch] (INVALID [Too high ABL transcript])

- Weitere Beispiele für auf UNGÜLTIG (INVALID) lautende Ergebnisse sind in der Gebrauchsanweisung zu finden.



Ergebnis: Fehler

Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden.

- BCR-ABL kein Ergebnis (No Result)
- ABL kein Ergebnis (No Result)
- Sondenprüfungskontrolle DEFEKT (FAIL)

Test Result			Analyte Result			Detail			Errors			History			Messages			Support		
Troubleshoot																				
#	Description							Detail												
1	Operation terminated							Error 2008: Syringe pressure reading of 100.0 PSI exceeds the protocol limit of 100.0 PSI												

Mögliche Ursachen/Lösung

- **Fehler 2008** – Der Druck übersteigt den zulässigen Wert
- Überprüfen Sie die Qualität der Probe.
- Prüfen Sie, ob die Leukozytenzahl deutlich erhöht ist.
- Verfahren zur Testwiederholung Typ 2

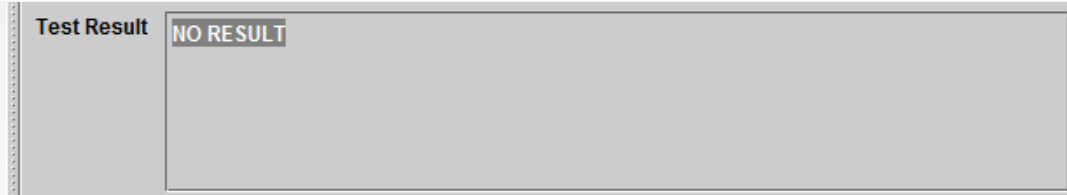
- **Fehler 5006, 5007, 5008 und 5009** – Sondenprüfung fehlgeschlagen.

- Verfahren zur Testwiederholung Typ 1

*Siehe Tabelle 2, Anleitung zur Fehlerbehebung, in der Gebrauchsanweisung

KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)

- Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden.



- Datenerfassungsfehler
- Zum Beispiel haben die Benutzer/innen einen laufenden Test abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen

*Siehe Tabelle 2, Anleitung zur Fehlerbehebung, in der Gebrauchsanweisung

Gründe für eine Testwiederholung

- UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1) oder FEHLER (ERROR)
 - Der ABL-Schwellenwert-Zyklus (Ct) überschreitet den maximal gültigen Ct-Cutoff (Ct > 18) oder der Endpunkt liegt unterhalb des eingestellten Schwellenwerts (< 200).
- UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2) oder FEHLER (ERROR) (Code 2008):
 - Proben mit einer BCR-ABL-p190- und/oder ABL-Transkript-Konzentration unter dem gültigen Ct-Minimum (Ct < 8) und/oder bei Überschreitung des Druckgrenzwerts erneut testen.
- KEIN ERGEBNIS (NO RESULT):
 - Aufgrund eines Datenerfassungsfehlers.

Testwiederholung

Testwiederholung

(siehe Tabelle 2, Anleitung zur Fehlerbehebung, in der Gebrauchsanweisung)

- UNGÜLTIG (INVALID)

- Fehler der endogenen Kontroll-ABL entweder aufgrund schlechter Probenqualität, RT-PCR-Hemmung, bei ABL-Ct > 18 und/oder Endpunkt < 200 => Testwiederholung **Typ 1**
- Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden, da die Probe zu viele BCR-ABL- bzw. ABL-Transkripte enthält (Ct < 8) => Testwiederholung **Typ 2**

- FEHLER (ERROR)

- FEHLER (Code 2008) Der Druck übersteigt den zulässigen Wert => **Typ 2**
- FEHLER (Code 5006, 5007, 5008 und 5009) Sondenprüfung fehlgeschlagen => **Typ 1**

- KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)

- Datenerfassungsfehler. Zum Beispiel hat der/die Benutzer/in einen laufenden Assay abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen => **Typ 1**

Testwiederholung aus dem Blutentnahmeröhrchen

(falls ausreichendes Volumen der Blutprobe vorhanden ist)

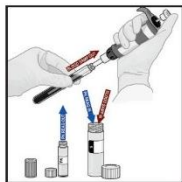
(Testwiederholung Typ 1)

Hier starten

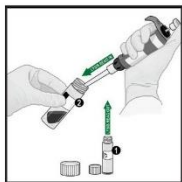
- 1 EDTA-Vollblut und Reagenzien zur Probenvorbereitung aus dem Kühlschrank nehmen. EDTA-Vollblut auf den Wippschüttler stellen oder 8 Mal umdrehen, bevor die Probe entnommen wird.



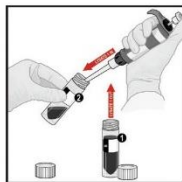
- 2 PK-Reagenz kurz zentrifugieren. 100 µl PK-Reagenz in ein konisches 50-ml-Röhrchen geben. Anschließend 4 ml gut durchmischtes EDTA-Vollblut in das gleiche konische 50-ml-Röhrchen geben. 3 s im Vortexer mischen und 1 min bei RT inkubieren.



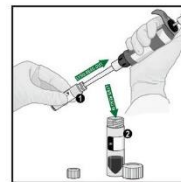
- 3 2,5 ml Lysereagenz (LY) in das gleiche Röhrchen geben, 10 s im Vortexer mischen und 5 min bei RT inkubieren. Erneut 10 s im Vortexer mischen und zum 2. Mal 5 min inkubieren. Röhrchen zum Mischen 10x leicht aufstoßen.



- 4 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen. Verbleibendes Lysat für eine eventuelle Testwiederholung aufbewahren.



- 5 1,5 ml Lysereagenz (LY) in das neue konische Röhrchen mit dem vorbereiteten Lysat geben. 10 s im Vortexer mischen und 10 min bei RT inkubieren.



- 6 2 ml absolutes EtOH von Reagenzqualität in das gleiche konische Röhrchen geben. 10 s im Vortexer mischen und beiseite stellen. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz verwerfen.



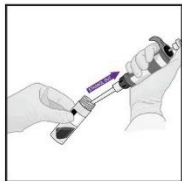
- 7 Den Deckel der Xpert Testkartusche öffnen.



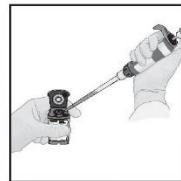
- 8 Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen (mit der schmalen Öffnung).



- 9 Den gesamten Inhalt des endgültigen vorbereiteten Lysats aus dem konischen Röhrchen pipettieren.



- 10 Die vorbereitete Probe (~4,5 ml) vollständig in die Probenkammer transferieren.



- 11 Den Deckel der Xpert Kartusche schließen.



- 12 Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.



Testwiederholung mit Lysat

(falls das Volumen der Blutprobe *nicht ausreicht*)

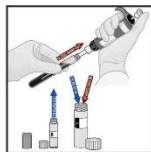
(Testwiederholung Typ 1)

- Lysat vor Gebrauch auf Zimmertemperatur auftauen
- 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. Dann **hier starten**

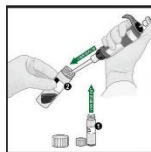
1 EDTA-Vollblut und Reagenzien zur Probenvorbereitung aus dem Kühlschrank nehmen. EDTA-Vollblut auf den Wippschüttler stellen oder 8 Mal umdrehen, bevor die Probe entnommen wird.



2 PK-Reagenz kurz zentrifugieren. 100 µl PK-Reagenz in ein konisches 50-ml-Röhrchen geben. Anschließend 4 ml gut durchmisches EDTA-Vollblut in das gleiche konische 50-ml-Röhrchen geben. 3 s im Vortexer mischen und 1 min bei RT inkubieren.



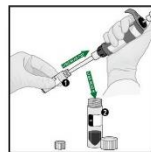
3 2,5 ml Lysereagenz (LY) in das gleiche Röhrchen geben. 10 s im Vortexer mischen und 5 min bei RT inkubieren. Erneut 10 s im Vortexer mischen und zum 2. Mal 5 min inkubieren. Röhrchen zum Mischen 10x leicht aufstoßen.



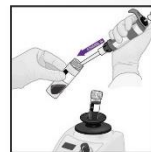
4 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen. Verbleibendes Lysat für eine eventuelle Testwiederholung aufbewahren.



5 1,5 ml Lysereagenz (LY) in das neue konische Röhrchen mit dem vorbereiteten Lysat geben. 10 s im Vortexer mischen und 10 min bei RT inkubieren.



6 2 ml absolutes EtOH von Reagenzqualität in das gleiche konische Röhrchen geben. 10 s im Vortexer mischen und beiseite stellen. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz verwerfen.



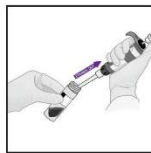
7 Den Deckel der Xpert Testkartusche öffnen.



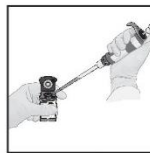
8 Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen (mit der schmalen Öffnung).



9 Den gesamten Inhalt des endgültigen vorbereiteten Lysats aus dem konischen Röhrchen pipettieren.



10 Die vorbereitete Probe (~4,5 ml) vollständig in die Probenkammer transferieren.



11 Den Deckel der Xpert Kartusche schließen.



12 Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.

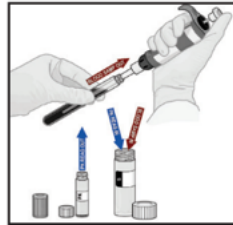


Testwiederholung mit Blut (Testwiederholung Typ 2)

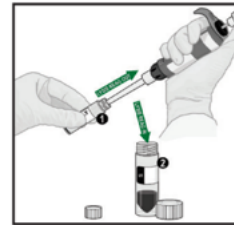
1. Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem das EDTA-Blutsammelröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8-mal invertiert wird.



2. Auf den Boden eines neuen konischen 50-ml-Röhrchens 100 μ l PK (Proteinase K) hinzufügen. **50 μ l der Blutprobe hinzufügen.** Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen. 1 Minute lang bei Raumtemperatur inkubieren.



3. In dasselbe Röhrchen 2,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren. Vortex- und Inkubationsschritt mit den gleichen Zeiten wiederholen.



4. In dasselbe konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität geben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Raumtemperatur zur Seite stellen.



5. Den Kartuschendeckel öffnen.

6. Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen.

7. Die vorbereitete Probe vollständig in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren.

8. Die Kartusche mit dem Deckel verschließen und mit dem Assay beginnen.

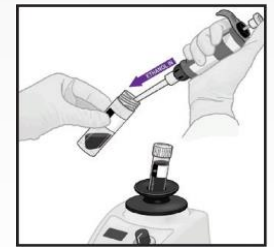
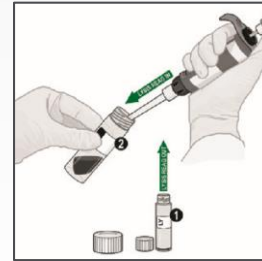
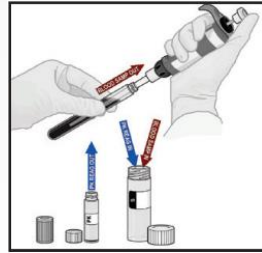
Testwiederholung mit Lysat (Verfahren zur Testwiederholung Typ 2)

1. 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.

2. Auf den Boden eines neuen konischen 50-ml-Röhrchens 100 µl PK (Proteinase K) hinzufügen. 80 µl Lysat hinzufügen. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen. 1 Minute lang bei Zimmertemperatur inkubieren.

3. In dasselbe Röhrchen 2,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. 5 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubieren. Vortex- und Inkubationsschritt mit den gleichen Zeiten wiederholen.

4. In dasselbe konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität geben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Zimmertemperatur zur Seite stellen.



5. Den Kartuschendeckel öffnen. Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen.

6. Die vorbereitete Probe vollständig pipettieren.

7. In die Probenkammer (große Öffnung) überführen.

8. Den Deckel der Xpert® Kartusche schließen.

9. Den Assay innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.

Technische Unterstützung

- Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:
 - Produktname
 - Chargenbezeichnung
 - Seriennummer des Systems
 - Fehlermeldungen (falls vorhanden)
 - Softwareversion
- Beschwerden können auch online unter dem folgenden Link vorgebracht werden: <http://www.cepheid.com/en/support>: *Supportfall erstellen*



Vielen Dank

www.Cepheid.com