

Formation technique Xpert® BCR-ABL Ultra p190

GXBCRABLP190-CE-10

À utiliser uniquement conformément au marquage CE-IVD



Programme de la formation

- 1 Vue d'ensemble
- 2 Conservation et manipulation du kit
- 3 Prélèvement, stockage et transport des échantillons
- 4 Préparation de la cartouche
- 5 Contrôles qualité
- 6 Interprétation des résultats
- 7 Dépannage
- 8 Procédures de répétition du test



Objectifs de la formation

À la fin de la formation, les utilisateurs seront en mesure de :

- Stocker et manipuler de manière adéquate le kit de cartouches Xpert® BCR-ABL Ultra p190 et les kits de prélèvement d'échantillon
- Suivre les consignes de sécurité en vigueur dans le laboratoire
- Prélever et transporter un échantillon approprié
- Préparer une cartouche et exécuter le test Xpert BCR-ABL Ultra p190
- Rapporter les divers résultats générés par le logiciel
- Comprendre la stratégie de contrôle du test Xpert BCR-ABL Ultra p190

La solution Cepheid



- Détection quantitative
 - Transcrits d'ARNm BCR-ABL1 p190 et ABL1 dans des échantillons de sang périphérique
- Contrôles internes intégrés pour chaque échantillon
 - Contrôle de vérification des sondes (CVS)
 - Contrôle endogène ABL1
- Délai de rendu des résultats **d'environ 2,5 heures** (temps de manipulation inclus)
- Système de cartouches closes réduisant au maximum le risque de contamination
- Résultats à la demande
- Accès à la demande

Utilisation prévue

- Le test Xpert® BCR-ABL Ultra p190 est un test de diagnostic *in vitro* à utiliser sur le système GeneXpert® Dx de Cepheid pour la détection quantitative des transcrits d'ARNm BCR-ABL1 p190 et ABL1 dans des échantillons de sang périphérique chez les patients ayant précédemment reçu un diagnostic de leucémie myéloïde chronique (LMC) ou de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) à chromosome Philadelphie (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] exprimant le transcrit de fusion BCR-ABL1 de type e1a2. Le test utilise une réaction de polymérisation en chaîne par transcriptase inverse automatisée, quantitative et en temps réel (RT-qPCR) et est destiné à mesurer le rapport en pourcentage de l'ARNm de BCR-ABL1 p190 par rapport à l'ARNm d'ABL1 chez les patients atteints de LMC ou de LAL à chromosome Philadelphie [t(9;22)(q34;q11)] pendant le suivi du traitement.
- Le test ne permet pas le suivi des autres transcrits de fusion résultant de t(9;22) et n'est pas destiné au diagnostic de la LMC ou de la LAL.

Utilisateur/environnement prévu

- Le test Xpert® BCR-ABL Ultra p190 doit être utilisé par des utilisateurs qualifiés en laboratoire.

Cibles

- Le test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 est un test automatisé pour la détermination quantitative du transcrite BCR-ABL1 p190 sous la forme d'un rapport entre BCR-ABL1 p190 et ABL1.
- Transcrits d'ARNm BCR-ABL1 p190 et ABL1 dans des échantillons de sang périphérique chez les patients ayant précédemment reçu un diagnostic de leucémie myéloïde chronique (LMC) ou de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) à chromosome Philadelphie [t(9;22)(q34;q11)] exprimant le transcrite de fusion BCR-ABL1 de type e1a2.

Besoins du test Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Systemes GeneXpert®

- Logiciel GeneXpert DX **version 6.2** ou ultérieure

Kits de tests

- GXBCRABLP190-CE-10

Prélèvement des échantillons

- Sang total

Matériel requis mais non fourni

- Tubes EDTA
- Imprimante
- Agitateur à vortex
- Microcentrifugeuse (1 000 x g minimum)
- Pipettes et pipettes à filtre anti-aérosol
- Tubes coniques de 50 ml
- Éthanol absolu de qualité réactif

Autre matériel

- Équipement de protection individuelle (EPI)
- Eau de Javel diluée au 1:10
- Éthanol à 70 % ou éthanol dénaturé à 70 %

Examen de conformité aux bonnes pratiques de laboratoire

Équipement de protection individuelle (EPI)

- Porter une blouse de laboratoire, des lunettes de protection et des gants propres
- Changer de gants entre chaque traitement d'échantillon

Conservation des échantillons et des kits

- Stocker les spécimens et les échantillons à l'écart du kit pour prévenir toute contamination



Paillasse

- Nettoyer systématiquement les surfaces de travail avec :
 - ✓ Eau de Javel domestique*, diluée au 1:10
 - ✓ Solution d'éthanol à 70 %
- Après le nettoyage, s'assurer que les surfaces de travail sont sèches

Matériel

- Utiliser des embouts de pipette à filtre le cas échéant
- Suivre les exigences du fabricant pour l'étalonnage et la maintenance du matériel

* La concentration finale en chlore actif doit être de 0,5 %, quelle que soit la concentration de l'eau de Javel domestique dans le pays concerné.

Conservation et manipulation du kit

Contenu du kit de test Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Numéro de référence

GXBCRABLP190-CE-10

Cartouches* par kit

10

Flacons de réactif
(10 de chaque)

Protéinase K (PK)
Réactif de lyse (LY)
Réactif de lavage (1)

CD du kit

Fichier de définition du test (ADF)
Xpert® BCR-ABL Ultra p190
Instructions d'importation du test
Xpert® BCR-ABL Ultra p190
Notice d'utilisation (PDF)

Conservation

2 à 8 °C

* Les cartouches contiennent des substances qui présentent un danger chimique ; consulter la notice d'utilisation et la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations plus détaillées.



Avertissements et mises en garde

- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être en mesure de réaliser le test.
- Ne pas utiliser une cartouche :
 - si elle semble humide, si elle a fui ou si l'étanchéité de son couvercle semble avoir été compromise
 - si elle semble endommagée
 - qui est tombée après son retrait de l'emballage
 - qui est tombée ou qui a été agitée après y avoir ajouté l'échantillon
 - dont le tube réactionnel est endommagé
 - qui a été utilisée ; chaque cartouche est à usage unique pour effectuer un seul test
 - qui est périmée
- Ne pas réutiliser les pipettes.

Avertissements et mises en garde relatifs à l'élimination des déchets

- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés comme étant capables de transmettre des agents infectieux et requièrent de prendre des précautions standard.
- Suivre les procédures environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés. Ce matériel peut présenter des caractéristiques de déchets chimiques dangereux exigeant des procédures d'élimination spécifiques au niveau national ou régional.
- En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé].
- Noter les points suivants : Les cartouches usagées peuvent contenir des substances potentiellement infectieuses, ainsi que des cibles PCR fortement amplifiées. Veiller à ne tenter d'ouvrir ni d'altérer aucune partie de la cartouche en vue de son élimination.



Limites du test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

- Le produit est réservé au diagnostic *in vitro*.
- Le test n'est pas conçu pour être utilisé avec des étalons externes.
- Le test n'est indiqué ni pour déterminer l'interruption du traitement par ITK ni pour le suivi après l'interruption du traitement.
- Les performances du test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 ont été évaluées en utilisant uniquement les procédures indiquées dans cette notice d'utilisation. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test.
- Ce produit a été validé pour le sang prélevé dans des tubes EDTA.
- Ne pas utiliser d'héparine comme anticoagulant car elle peut inhiber la réaction par PCR.
- Les échantillons sur citrate de sodium, de couche leuco-plaquettaire et de moelle osseuse n'ont pas été validés.

Limites du test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 (suite)

- Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison d'un prélèvement, d'une manipulation ou d'une conservation incorrecte de l'échantillon ou d'une confusion entre les échantillons. Une stricte adhérence à la notice d'utilisation est nécessaire pour éviter des résultats erronés.
- Le test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 est uniquement conçu pour détecter le transcrit de fusion BCR-ABL p190 de type e1a2. La capacité à détecter d'autres transcrits de fusion n'a pas été évaluée au-delà de ceux décrits dans cette notice d'utilisation. Le test ne détecte pas les points de cassure chromosomique majeurs, les points de cassure chromosomique mineurs, les micro-délétions ni les mutations.
- Le test Xpert BCR-ABL Ultra p190 n'est pas destiné à détecter les translocations e13a2/b2a2, e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) ou d'autres translocations mineures pouvant être présentes dans un échantillon de sang périphérique provenant d'un patient atteint de leucémie.
- Pour certains échantillons avec un nombre de globules blancs très élevé (supérieur à 30 millions de cellules/ml), le test Xpert BCR-ABL Ultra p190 peut rapporter des résultats **NON VALIDE (INVALID)** (Type 2) en raison d'un excédent de taux de BCR-ABL p190 ou d'ABL dans l'échantillon. Consulter le Tableau 2 dans la notice d'utilisation pour plus d'informations.

Limites du test Xpert® BCR-ABL Ultra p190 (suite)

- Certains échantillons avec de très faibles taux de transcrits ABL ou avec un nombre de globules blancs inférieur à 150 000 cellules/ml peuvent être rapportés comme **NON VALIDE (INVALID)** (Type 1). Un résultat non déterminé n'exclut pas la présence de très faibles taux de cellules leucémiques chez le patient.
- Un transcrit p230 de LMC avec un micro-point de cassure chromosomique e19a2 peut être rapporté sous la forme d'un résultat BCR-ABL positif inférieur à la LD du test (0,0065 %) en cas de test à des taux cibles élevés (> 3,52 logs au-dessus de la LD).
- Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison des amorces ou des sondes peuvent affecter la détection de nouveaux variants ou de variants inconnus, produisant un résultat faussement négatif.
- Certains patients avec de très faibles taux de transcrits BCR-ABL1 (c.-à-d., inférieurs à la LD de 0,0065 %) peuvent obtenir un résultat **BCR-ABL p190 NON DÉTECTÉ [Taux de transcrits ABL suffisant] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Un résultat « NON DÉTECTÉ » n'exclut donc pas la présence de faibles taux de cellules leucémiques chez le patient.
- Le test est validé pour une utilisation sur les systèmes GeneXpert Dx (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

Prélèvement, stockage et transport des échantillons

Transport et stockage des échantillons

Les échantillons de sang total doivent être prélevés dans des tubes EDTA conformément aux directives de l'établissement.

Type d'échantillon

Conservation

Échantillon de sang total

2 °C à 8 °C pendant une durée
 ≤ 72 heures

Préparation de la cartouche

Préparation de la cartouche Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Préparation d'un échantillon avec un nombre de globules blancs inconnu ou d'échantillons avec moins de 30 millions de globules blancs/ml

Préparation du lysat et de la cartouche

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

Consulter la notice pour obtenir les instructions détaillées, les précautions et les avertissements.

Pour obtenir un exemplaire de la FDS, consulter le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

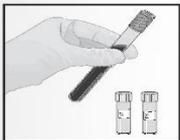
Service de support technique de Cepheid
Bureau américain +1 (888) 838-3222,
Option 2 techsupport@cepheid.com
Bureau européen +33 563 82 53 19

Vingt minutes avant de commencer la procédure, laisser les éléments suivants s'équilibrer à température ambiante (20 °C à 30 °C)

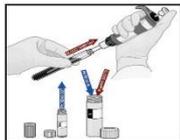
- échantillon de sang
- cartouche
- réactifs de préparation de l'échantillon



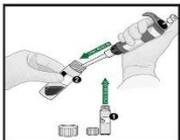
- 1 Sortir le sang total EDTA et les réactifs de préparation de l'échantillon du réfrigérateur. Placer le sang EDTA dans un mélangeur par basculement ou le mélanger par inversion 8 fois avant l'échantillonnage.



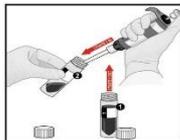
- 2 Centrifuger brièvement le réactif PK. Ajouter 100 µl de réactif PK dans un tube conique de 50 ml. Puis, ajouter 4 ml de sang total sur EDTA bien mélangé dans le même tube conique de 50 ml. Vortexer pendant 3 secondes, puis incubé pendant 1 minute à température ambiante.



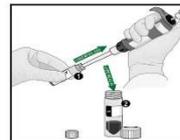
- 3 Ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY) dans le même tube, vortexer pendant 10 secondes, puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. Vortexer à nouveau pendant 10 secondes, puis incubé une deuxième fois pendant 5 minutes. Mélanger en tapotant 10 fois.



- 4 Transférer 1 ml de lysat préparé dans un nouveau tube conique de 50 ml. Garder le lysat restant pour une éventuelle répétition du test.



- 5 Ajouter 1,5 ml de réactif de lyse (LY) dans le nouveau tube conique contenant le lysat préparé auparavant. Vortexer pendant 10 secondes, puis incubé pendant 10 minutes à température ambiante.



- 6 Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité pour réactif. Vortexer pendant 10 secondes et mettre de côté. Éliminer les réactifs PK ou LY restants.



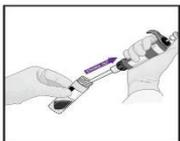
- 7 Ouvrir le couvercle de la cartouche de test Xpert.



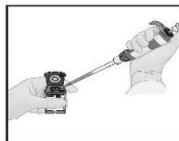
- 8 Transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage dans la chambre 1 (avec la petite ouverture).



- 9 Pipeter la totalité du lysat final préparé du tube conique.



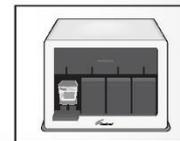
- 10 Transférer la totalité de l'échantillon préparé (~4,5 ml) dans la chambre pour échantillon.



- 11 Fermer le couvercle de la cartouche Xpert.



- 12 Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.



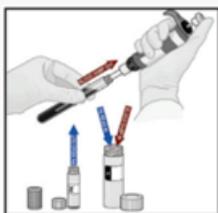
Préparation de la cartouche Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Préparation d'un échantillon avec un nombre de globules blancs supérieur à 30 millions de cellules/ml

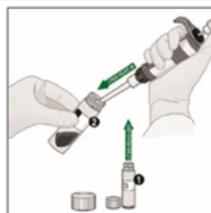
1. S'assurer que l'échantillon de sang est bien mélangé en retournant le tube EDTA de prélèvement de sang 8 fois immédiatement avant le pipetage.



2. Au fond d'un nouveau tube conique de 50 ml, ajouter 100 µl de PK (protéinase K). Ajouter 50 µl d'échantillon de sang. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale. Incuber à température ambiante pendant 1 min.



3. Dans le même tube, ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY). Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Incuber à température ambiante pendant 5 min. Répéter les étapes d'agitation au vortex et d'incubation avec les mêmes durées.



4. Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité réactif. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Mettre de côté à température ambiante. Éliminer les réactifs PK ou LY restants.



5. Ouvrir le couvercle de la cartouche.

6. Transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage dans la chambre 1.

7. Pipeter la totalité du contenu de l'échantillon préparé dans la chambre à échantillon (grande ouverture).

8. Fermer le couvercle de la cartouche et démarrer le test.

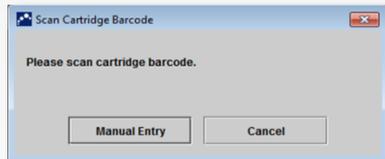
Effectuer un test sur le GeneXpert® Dx

1 Créer un test.



Démarrer le test dans un délai de **1 heure** après l'ajout de l'échantillon à la cartouche.

2 Scanner le code-barres pour identifier le patient et/ou l'échantillon.



Ne pas cliquer sur Saisie manuelle (Manual Entry) ou Annuler (Cancel).

3 Lire la cartouche.



Effectuer un test sur le GeneXpert® Dx (suite)

4 Remplir les champs requis.

5 Le test Xpert® BCR-ABL p190 est sélectionné automatiquement.

6 Le module est automatiquement sélectionné.

7 Cliquer sur Démarrer le test (Start Test).

8 Un voyant vert clignote sur le module.
Charger la cartouche dans le module et fermer la porte.

The screenshot shows the 'Create Test' window with the following fields and values:

- Patient ID: [Empty]
- Sample ID: [Empty]
- Patient ID 2: [Empty]
- Last Name: [Empty]
- Name: [Empty]
- Select Assay: Xpert BCR-ABL p190
- Select Module: A3
- Reagent Lot ID*: 16119
- Expiration Date*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]

The 'Start Test' button is highlighted with an orange box and a mouse cursor. The 'Scan Cartridge Barcode' button is also visible.



Protocole automatisé du test Xpert® BCR-ABL Ultra p190



Contrôles qualité

Stratégie de contrôle du test Xpert® BCR-ABL p190

CONTROL

- Contrôles qualité du test Xpert® BCR-ABL Ultra p190
 - Chaque cartouche Xpert est un dispositif de test autonome
 - Cepheid a conçu des méthodes moléculaires spécifiques de façon à inclure des contrôles internes permettant au système de détecter des modes d'échec spécifiques au sein de chaque cartouche. Contrôles internes intégrés pour chaque échantillon
 - Contrôle de vérification des sondes (CVS)
 - Contrôle endogène ABL1

Interprétation des résultats

Résultats quantitatifs

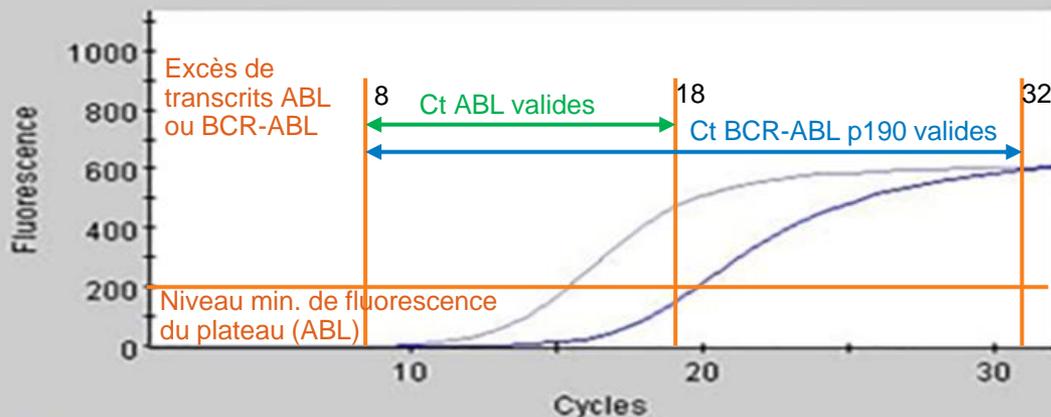
- Les systèmes GeneXpert® calculent les résultats automatiquement sur la base des valeurs de cycle seuil (Ct) générées par le test et des paramètres spécifiques au lot attribués lors de la fabrication. Le logiciel applique l'algorithme suivant, dans lequel la valeur ΔCt (Delta Ct) est obtenue à partir du Ct ABL moins le Ct BCR-ABL p190, et Efficacité (E) et Facteur d'échelle (FE) sont des valeurs spécifiques au lot.
 - Rapport en pourcentage = $\text{Efficacité}^{\Delta Ct} \times \text{Facteur d'échelle} \times 100$
- Les valeurs de l'Efficacité et du Facteur d'échelle permettent d'étalonner la quantification des transcrits BCR-ABL p190 (e1a2) et ABL1 sur la base des nombres de copies d'étalons principaux qui se composent d'ARN de BCR-ABL p190 et d'ABL1 synthétiques transcrit in vitro.
- Les valeurs de l'Efficacité et du Facteur d'échelle sont intégrées dans le code-barres de chaque cartouche. Les fiches de données de spécification de lot sont disponibles auprès du Support Technique de Cepheid.

Valeurs Ct et de fluorescence valides

Test Result

BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%]

For In Vitro Diagnostic Use Only



Legend

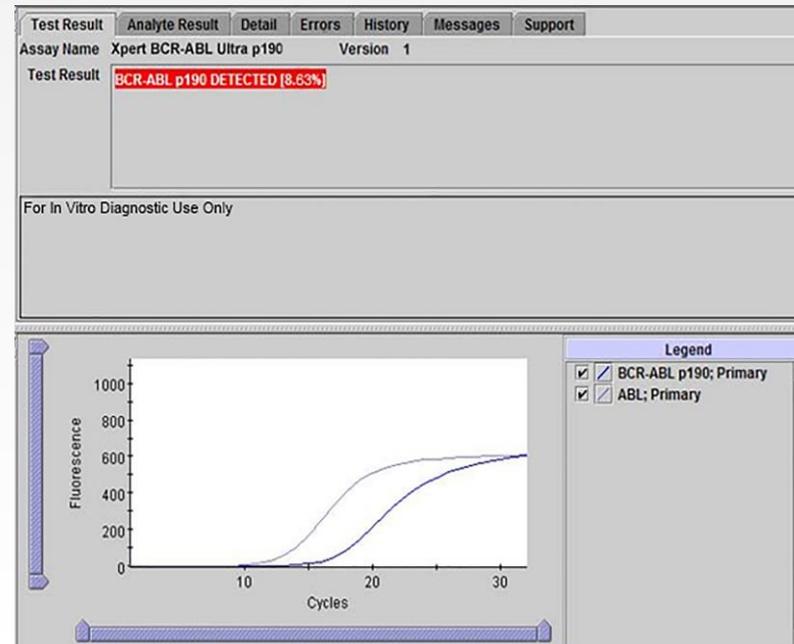
- BCR-ABL p190; Primary
- ABL; Primary

Résultats « BCR-ABL p190 détecté » (BCR-ABL p190 Detected)

- Le contrôle de vérification des sondes (CVS) doit RÉUSSIR (PASS)
- Le contrôle endogène ABL doit RÉUSSIR (PASS) :
 - Le cycle seuil (Ct) est dans la plage de validation $8 \leq Ct \leq 18$,
 - et le point final est supérieur au seuil défini
- BCR-ABL p190 doit être détecté (Detected) :
 - Le cycle seuil (Ct) est dans la plage de validation $8 \leq Ct \leq 32$
 - et le point final est supérieur au seuil défini

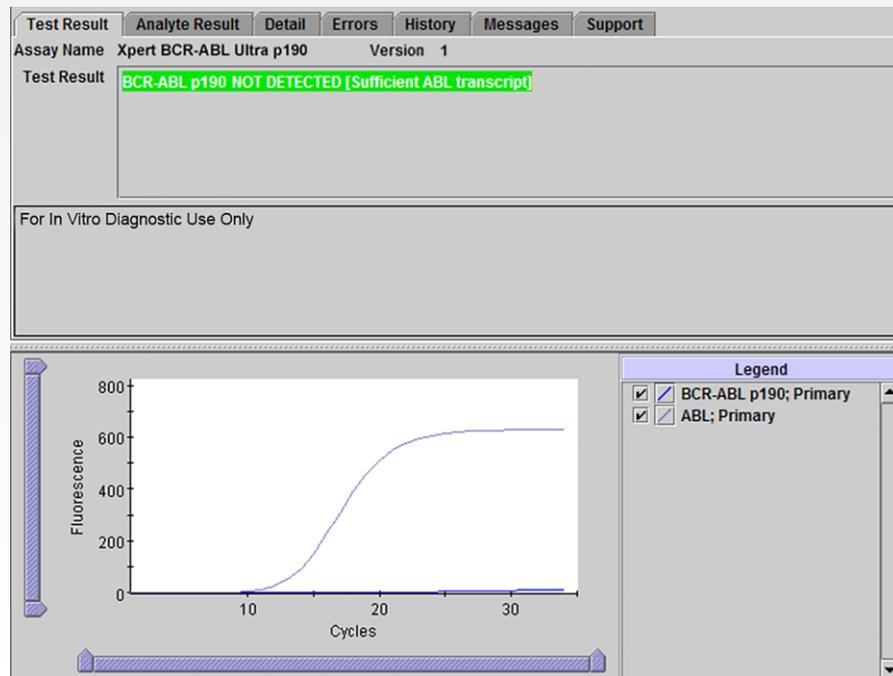
Résultats « BCR-ABL p190 détecté » (BCR-ABL p190 Detected)

- Résultat du test :
 - BCR-ABL p190 DÉTECTÉ [#.##%]
(BCR-ABL p190 DETECTED [#.##%])
 - BCR-ABL p190 DÉTECTÉ [Inférieur à la LD,
< 0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED
[Below LoD, <0.0065%])
 - BCR-ABL p190 DÉTECTÉ [Supérieur à la LQ
supérieure] (BCR-ABL p190 DETECTED
[Above upper LoQ])
- Consulter la notice d'utilisation pour des
exemples supplémentaires des résultats
« Détecté » (Detected)



BCR-ABL p190 NON DÉTECTÉ (BCR-ABL p190 NOT DETECTED)

- Le contrôle de vérification des sondes (CVS) doit RÉUSSIR (PASS)
- Le contrôle endogène ABL doit RÉUSSIR (PASS) :
 - Le cycle seuil (Ct) est dans la plage de validation $8 \leq Ct \leq 18$,
 - et le point final est supérieur au seuil défini
- BCR-ABL p190 doit être « NON détecté » (NOT Detected) :
 - Aucun cycle seuil (Ct) (Ct=0), ou
 - Point final inférieur au seuil défini
- Résultat du test :
- BCR-ABL p190 NON DÉTECTÉ [Taux de transcrits ABL suffisant] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])



Dépannage

Facteurs affectant négativement les résultats

- Prélèvement incorrect de l'échantillon.
 - Les performances de ce test n'ont pas été évaluées sur d'autres types de spécimens ou d'échantillons.
- Le nombre de micro-organismes présents dans l'échantillon est inadéquat.
- Transport ou stockage incorrects de l'échantillon prélevé.
 - Les conditions de stockage et de transport sont spécifiques à l'échantillon.
 - Consulter la notice d'utilisation pour obtenir des consignes de manipulation appropriées.
- Procédure de test incorrecte.
 - Une modification des procédures de test peut altérer les performances du test.
 - Il est nécessaire de bien respecter la notice d'utilisation pour éviter des résultats erronés.

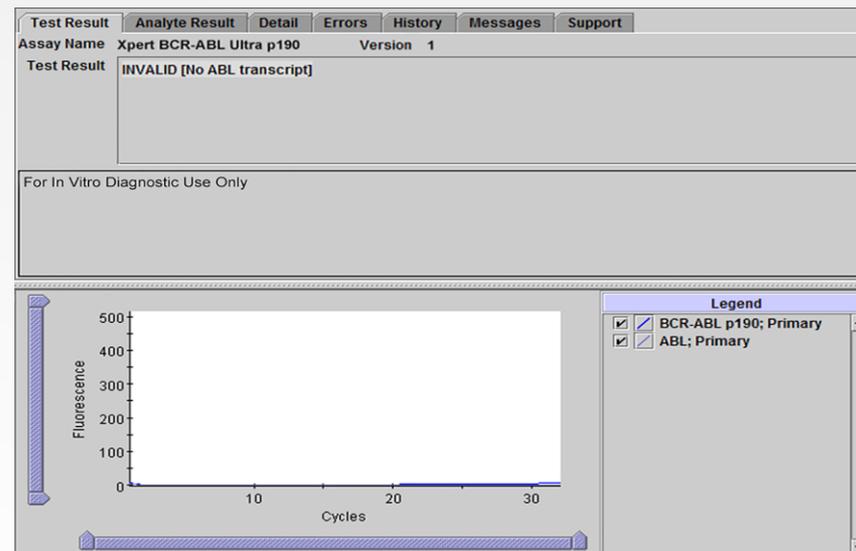
Résultat BCR-ABL p190 NON VALIDE (BCR-ABL p190 INVALID)

- Le contrôle de vérification des sondes (CVS) doit RÉUSSIR (PASS)
- ÉCHEC/RÉUSSITE (FAIL/PASS) du contrôle endogène ABL
 - Cycle seuil (Ct) hors de la plage de validation $8 \leq Ct \leq 18$, ou
 - Point final inférieur au seuil défini
- BCR-ABL p190 NON VALIDE (BCR-ABL p190 INVALID)
 - Cycle seuil (Ct) hors de la plage de validation $8 \leq Ct \leq 32$

Résultat BCR-ABL p190 NON VALIDE (INVALID)

- Résultats du test

- NON VALIDE [Aucun transcrite ABL] (INVALID [No ABL transcript])
- NON VALIDE [Taux de transcrits ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])
- NON VALIDE [Taux de transcrits BCR-ABL p190 et ABL trop élevés] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcript])
- NON VALIDE [Taux de transcrits BCR-ABL p190 trop élevé] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])
- NON VALIDE [Taux de transcrits ABL trop élevé] (INVALID [Too high ABL transcript])



- Consulter la notice d'utilisation pour des exemples supplémentaires de résultats NON VALIDE (INVALID)

Erreur (Error)

Le taux de transcrits BCR-ABL ne peut pas être déterminé.

- Pas de résultat pour BCR-ABL (BCR-ABL No Result)
- Pas de résultat pour ABL (ABL No Result)
- ÉCHEC du contrôle de vérification des sondes (Probe Check Control 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																		

Causes possibles/Solution

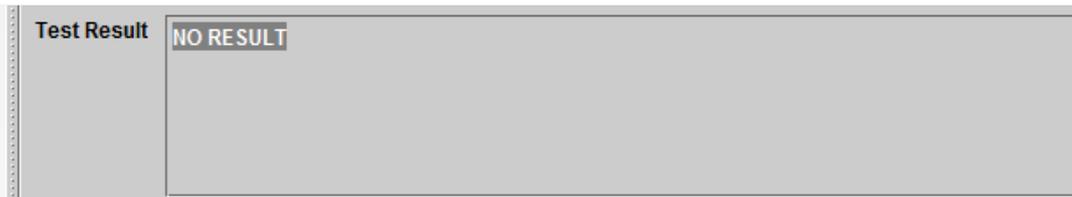
- **Erreur 2008** – Pression qui dépasse la limite
- Vérifier la qualité de l'échantillon
- Vérifier si le nombre de globules blancs est trop élevé
- Procédure de répétition du test de Type 2

- **Erreur 5006, 5007, 5008, 5009** – Échec de la vérification des sondes
- Procédure de répétition du test de Type 1

* Consulter le Tableau 2 Guide de dépannage de la notice d'utilisation

PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

- Le taux de transcrits BCR-ABL ne peut pas être déterminé
 - Échec du recueil des données
 - Par exemple, les opérateurs ont interrompu un test en cours ou une panne de courant s'est produite



* Consulter le Tableau 2 Guide de dépannage de la notice d'utilisation

Motifs de la répétition du test

- NON VALIDE (INVALID) (Type 1) ou ERREUR (ERROR)
 - En raison d'un cycle seuil (Ct) ABL excédant le seuil Ct maximum valide (Ct > 18) ou d'un point final inférieur au seuil défini (< 200).
- NON VALIDE (INVALID) (Type 2) ou ERREUR (ERROR) (Code 2008) :
 - Retester les échantillons avec des taux de transcrits BCR-ABL p190 et/ou ABL inférieurs au seuil Ct minimum valide (Ct < 8) et/ou lorsque la limite de pression est dépassée.
- PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) :
 - En raison d'un échec du recueil des données.

Procédures de répétition du test

Procédures de répétition du test

(Consulter le Tableau 2 Guide de dépannage de la notice d'utilisation)

- NON VALIDE (INVALID)

- Échec du contrôle endogène ABL en raison d'un échantillon de mauvaise qualité, d'une inhibition de la RT-PCR, si Ct ABL est > 18 et/ou le point final est < 200 => Procédure de répétition du test de **Type 1**
- Le taux de transcrits BCR-ABL ne peut pas être déterminé car l'échantillon contient un excédent de transcrits BCR-ABL et/ou ABL (Ct < 8) => Procédure de répétition du test de **Type 2**

- ERREUR (ERROR)

- ERREUR (code 2008) Pression qui dépasse la limite => **Type 2**
- ERREUR (code 5006, 5007, 5008 et 5009) Échec de la vérification des sondes => **Type 1**

- PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

- Échec du recueil des données. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours ou une panne de courant s'est produite => **Type 1**

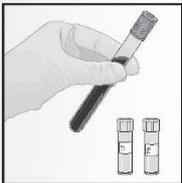
Répétition du test à partir du tube de prélèvement sanguin

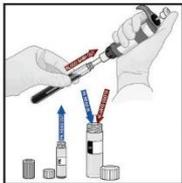
(si un volume suffisant d'échantillon de sang est disponible)

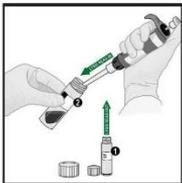
(Procédure de répétition du test de Type 1)

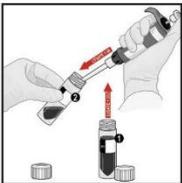
Démarrer ici

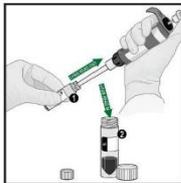
- Sortir le sang total EDTA et les réactifs de préparation de l'échantillon du réfrigérateur. Placer le sang EDTA dans un mélangeur par basculement ou le mélanger par inversion 8 fois avant l'échantillonnage.


- Centrifuger brièvement le réactif PK. Ajouter 100 µl de réactif PK dans un tube conique de 50 ml. Puis, ajouter 4 ml de sang total sur EDTA bien mélangé dans le même tube conique de 50 ml. Vortexer pendant 3 secondes, puis incubé pendant 1 minute à température ambiante.


- Ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY) dans le même tube, vortexer pendant 10 secondes, puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. Vortexer à nouveau pendant 10 secondes, puis incubé une deuxième fois pendant 5 minutes. Mélanger en tapotant 10 fois.


- Transférer 1 ml de lysat préparé dans un nouveau tube conique de 50 ml. Garder le lysat restant pour une éventuelle répétition du test.


- Ajouter 1,5 ml de réactif de lyse (LY) dans le nouveau tube conique contenant le lysat préparé auparavant. Vortexer pendant 10 secondes, puis incubé pendant 10 minutes à température ambiante.

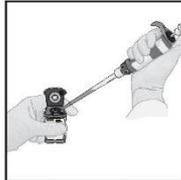

- Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité pour réactif. Vortexer pendant 10 secondes et mettre de côté. Éliminer les réactifs PK ou LY restants.


- Ouvrir le couvercle de la cartouche de test Xpert.


- Transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage dans la chambre 1 (avec la petite ouverture).


- Pipeter la totalité du lysat final préparé du tube conique.


- Transférer la totalité de l'échantillon préparé (~4,5 ml) dans la chambre pour échantillon.


- Fermer le couvercle de la cartouche Xpert.


- Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.



Répétition du test à partir du lysat

(si le volume de l'échantillon de sang est *insuffisant*)
(Procédure de répétition du test de Type 1)

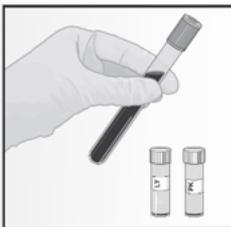
- Décongeler le lysat à température ambiante avant utilisation
- Vérifier que le lysat est bien mélangé en mélangeant l'échantillon avec un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale, puis le laisser reposer pendant 3 minutes le temps que les bulles disparaissent. Puis **commencer ici**

- Sortir le sang total EDTA et les réactifs de préparation de l'échantillon du réfrigérateur. Placer le sang EDTA dans un mélangeur par basculement ou le mélanger par inversion 8 fois avant l'échantillonnage.
- Centrifuger brièvement le réactif PK. Ajouter 100 µl de réactif PK dans un tube conique de 50 ml. Puis, ajouter 4 ml de sang total sur EDTA bien mélangé dans le même tube conique de 50 ml. Vortexer pendant 3 secondes, puis incubé pendant 1 minute à température ambiante.
- Ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY) dans le même tube, vortexer pendant 10 secondes, puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. Vortexer à nouveau pendant 10 secondes, puis incubé une deuxième fois pendant 5 minutes. Mélanger en tapotant 10 fois.
- Transférer 1 ml de lysat préparé dans un nouveau tube conique de 50 ml. Garder le lysat restant pour une éventuelle répétition du test.
- Ajouter 1,5 ml de réactif de lyse (LY) dans le nouveau tube conique contenant le lysat préparé auparavant. Vortexer pendant 10 secondes, puis incubé pendant 10 minutes à température ambiante.
- Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité pour réactif. Vortexer pendant 10 secondes et mettre de côté. Éliminer les réactifs PK ou LY restants.
- Ouvrir le couvercle de la cartouche de test Xpert.
- Transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage dans la chambre 1 (avec la petite ouverture).
- Pipeter la totalité du lysat final préparé du tube conique.
- Transférer la totalité de l'échantillon préparé (~4,5 ml) dans la chambre pour échantillon.
- Fermer le couvercle de la cartouche Xpert.
- Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.

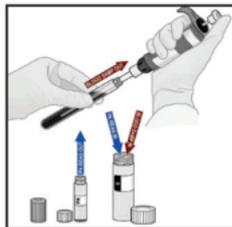
Répétition du test à partir du sang

(Procédure de répétition du test de Type 2)

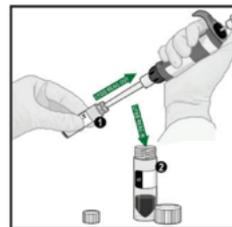
1. S'assurer que l'échantillon de sang est bien mélangé en retournant le tube EDTA de prélèvement de sang 8 fois immédiatement avant le pipetage.



2. Au fond d'un nouveau tube conique de 50 ml, ajouter 100 µl de PK (protéinase K). **Ajouter 50 µl d'échantillon de sang.** Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale. Incuber à température ambiante pendant 1 min.



3. Dans le même tube, ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY). Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Incuber à température ambiante pendant 5 min. Répéter les étapes d'agitation au vortex et d'incubation avec les mêmes durées.



4. Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité réactif. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Mettre de côté à température ambiante.



5. Ouvrir le couvercle de la cartouche.

6. Transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage dans la chambre 1.

7. Pipeter la totalité du contenu de l'échantillon préparé dans la chambre à échantillon (grande ouverture).

8. Fermer le couvercle de la cartouche et démarrer le test.

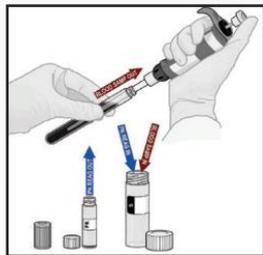
Répétition du test à partir du lysat

(Procédure de répétition du test de Type 2)

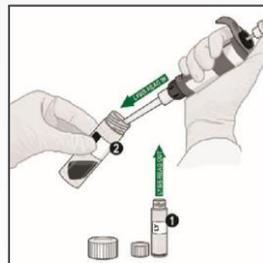
1. Vérifier que le lysat est bien mélangé en mélangeant l'échantillon avec un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale, puis le laisser reposer pendant 3 minutes le temps que les bulles disparaissent.



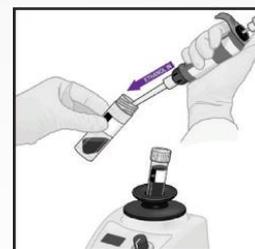
2. Au fond d'un nouveau tube conique de 50 ml, ajouter 100 µl de PK (protéinase K). Ajouter 80 µl de lysat. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale. Incuber à température ambiante pendant 1 min.



3. Dans le même tube, ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY). Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Incuber à température ambiante pendant 5 min. Répéter les étapes d'agitation au vortex et d'incubation avec les mêmes durées.



4. Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité réactif. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Mettre de côté à température ambiante.



5. Ouvrir le couvercle de la cartouche. Transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage dans la chambre 1.

6. Pipeter la totalité du contenu de l'échantillon préparé.

7. Le transférer dans la chambre à échantillon (grande ouverture).

8. Fermer le couvercle de la cartouche Xpert®.

9. Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice d'utilisation.

Support Technique

- Avant de contacter le support technique de Cepheid, recueillir les informations suivantes :
 - Nom du produit
 - Numéro de lot
 - Numéro de série du système
 - Messages d'erreur (le cas échéant)
 - Version du logiciel
- Introduire une réclamation en ligne en utilisant le lien suivant :
<http://www.cephid.com/en/support> : *Créer un ticket (Create a Support Case)*



Merçi

www.Cepheid.com