

Formazione tecnica Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

GXBCRABLP190-CE-10
Esclusivamente per CE-IVD



Programma di formazione

- 1 Descrizione generale
- 2 Conservazione e manipolazione del kit
- 3 Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi
- 4 Preparazione della cartuccia
- 5 Controlli qualità
- 6 Interpretazione dei risultati
- 7 Risoluzione dei problemi
- 8 Procedure di ripetizione del test



Obiettivi del programma di formazione

Al termine della formazione, gli operatori saranno in grado di:

- Conservare e maneggiare correttamente il kit cartuccia e i kit di raccolta campioni Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Adottare adeguate precauzioni di sicurezza di laboratorio
- Prelevare e trasportare i campioni di analisi adeguati
- Preparare una cartuccia ed eseguire il test Xpert BCR-ABL Ultra p190
- Refertare i vari risultati generati dal software
- Comprendere la strategia di controllo di Xpert BCR-ABL Ultra p190

La soluzione Cepheid



- Rilevamento quantitativo
 - Trascritti di mRNA BCR-ABL1 p190 e ABL1 in campioni di analisi di sangue periferico
- Controlli interni a bordo per ciascun campione
 - Controllo per la verifica della sonda (PCC)
 - Controllo endogeno ABL1
- Tempo di ottenimento dei risultati pari a **circa 2,5 ore** (compreso il tempo operatore)
- Sistema della cartuccia a circuito chiuso per la riduzione al minimo del rischio di contaminazione
- Risultati on-demand
- Accesso casuale

Uso previsto

- Il test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 è un test diagnostico in vitro da utilizzare sul sistema Cepheid GeneXpert[®] Dx per la quantificazione dei trascritti di mRNA BCR-ABL1 p190 e ABL1 in campioni di analisi di sangue periferico prelevati da pazienti con diagnosi di leucemia mieloide cronica (LMC) e leucemia linfoblastica acuta (LLA) Philadelphia positiva (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] che esprimono il trascritto di fusione BCR-ABL1 di tipo e1a2. Il test utilizza una reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione (RT-qPCR) automatizzata, quantitativa e real-time ed è destinato alla misurazione del rapporto percentuale dell'mRNA di BCR-ABL1 p190 rispetto all'mRNA di ABL1 in pazienti affetti da LMC e LLA positiva a t(9;22) durante il monitoraggio del trattamento.
- Il test non monitora gli altri trascritti di fusione che derivano da t(9;22) e non è destinato alla diagnosi di LMC e LLA.

Utilizzatore/ambiente previsto

- Il test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 deve essere utilizzato in laboratorio da operatori appositamente formati.

Bersagli

- Xpert® BCR-ABL Ultra p190 è un test automatizzato per la quantificazione del trascritto BCR-ABL1 p190, espressa dal rapporto BCR-ABL1 p190/ABL1.
- Trascritti di mRNA BCR-ABL1 p190 e ABL1 in campioni di analisi di sangue periferico prelevati da pazienti con diagnosi di leucemia mieloide cronica (LMC) e leucemia linfoblastica acuta (LLA) positive a [t(9;22)(q34;q11)] che esprimono il trascritto di fusione BCR-ABL1 di tipo e1a2.

Requisiti di Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

Sistemi GeneXpert[®]

- Software GeneXpert Dx **versione 6.2** o superiore

Kit di test

- GXBCRABLP190-CE-10

Campione prelevato

- Sangue intero

Materiali necessari ma non forniti

- Provette con EDTA
- Stampante
- Miscelatore vortex
- Microcentrifuga (almeno 1000 x g)
- Pipette e pipette con filtro aerosol
- Provette coniche da 50 ml
- Etanolo assoluto di grado reagente

Altri materiali

- Dispositivi di protezione individuale (DPI)
- Candeggina in diluizione 1:10
- Etanolo o etanolo denaturato al 70%

Verifica della buona prassi di laboratorio

Dispositivi di protezione individuale (DPI)

- Indossare camici da laboratorio puliti, indossare occhiali di sicurezza e guanti
- Cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro durante il trattamento

Conservazione dei campioni di analisi, dei campioni e dei kit

- Conservare i campioni di analisi e i campioni lontano dal kit in modo da prevenirne la contaminazione



Area del banco di laboratorio

- Pulire regolarmente le superfici di lavoro con:
 - ✓ Candeggina per uso domestico* in diluizione 1:10
 - ✓ Soluzione di etanolo al 70%
- Dopo la pulizia, assicurarsi che le superfici di lavoro siano asciutte

Apparecchiatura

- Usare puntali per pipetta con filtro, se consigliato
- Rispettare i requisiti del fabbricante in merito alla calibrazione e alla manutenzione dell'apparecchiatura

* La concentrazione finale di cloro attivo deve essere dello 0,5%, indipendentemente dalla concentrazione della candeggina per uso domestico in uso nel proprio Paese.

Conservazione e manipolazione del kit

Contenuto del kit per il test Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Numero di catalogo

GXBCRABLP190-CE-10

Cartucce* per kit

10

Flaconcini di reagente (10 per ciascuno)

Proteinasi K (PK)
Reagente di lisi (LY)
Reagente di lavaggio (1)

CD del kit

File di definizione del saggio (ADF) di Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Istruzioni per l'importazione di Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Istruzioni per l'uso (PDF)

Conservazione

2-8 °C



* Le cartucce contengono sostanze chimiche pericolose; per informazioni più dettagliate, consultare le Istruzioni per l'uso (IFU) e la scheda dati di sicurezza.

Avvertenze e precauzioni

- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Non usare una cartuccia che:
 - appare bagnata, presenta perdite o se la guarnizione del coperchio sembra essere rotta
 - appare danneggiata
 - è caduta dopo essere stata estratta dalla confezione
 - è caduta o è stata agitata dopo l'aggiunta del campione
 - ha una provetta di reazione danneggiata
 - è già stata usata; ciascuna cartuccia è monouso e serve per l'esecuzione di un solo test
 - è scaduta
- Non riutilizzare le pipette

Avvertenze e precauzioni per lo smaltimento dei rifiuti

- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi e richiedono l'adozione di precauzioni standard.
- Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali in uso presso la struttura di riferimento per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento occorre attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali.
- Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.
- Nota - Le cartucce usate potrebbero contenere materiali potenzialmente infettivi e uno o più bersagli PCR altamente amplificati. Non aprire né tentare di alterare alcuna parte della cartuccia destinata allo smaltimento.



Limitazioni di Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

- Il prodotto è destinato soltanto all'uso diagnostico *in vitro*.
- Il test non è destinato ad essere utilizzato con calibratori esterni.
- Il test non è indicato per determinare l'interruzione del trattamento a base di TKI né per il monitoraggio dopo l'interruzione.
- Le prestazioni del test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 sono state valutate solo utilizzando le procedure fornite nelle presenti Istruzioni per l'uso. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni del test.
- Questo prodotto è stato convalidato per il sangue raccolto in provette con EDTA.
- Non utilizzare eparina come anticoagulante perché può inibire la reazione della PCR.
- Non sono stati convalidati campioni di analisi di midollo osseo, di buffy-coat o in sodio citrato (Na-Citrato).

Limitazioni di Xpert® BCR-ABL Ultra p190 (segue)

- Risultati erranei del test possono derivare da operazioni di raccolta, manipolazione o conservazione improprie dei campioni di analisi o dallo scambio accidentale dei campioni di analisi. Per evitare risultati erranei è necessaria la stretta osservanza delle Istruzioni per l'uso.
- Il test Xpert® BCR-ABL Ultra p190 è destinato esclusivamente al rilevamento del trascritto di fusione BCR-ABL p190 e1a2. La capacità di rilevare altri trascritti di fusione non è stata valutata oltre quanto descritto in queste Istruzioni per l'uso. Il test non rileva grandi o microscopici punti di rottura, microdelezioni o mutazioni.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 non è destinato alla rilevazione delle traslocazioni e13a2/b2a2 ed e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) o altre traslocazioni minori che possono essere presenti in un campione di analisi di sangue periferico prelevato da un paziente con leucemia.
- Per alcuni campioni con conteggi molto elevati di globuli bianchi (superiori a 30 milioni di cellule/ml), Xpert BCR-ABL Ultra p190 può segnalare risultati **NON VALIDO (INVALID)** (Tipo 2) a causa dei livelli in eccesso di BCR-ABL p190 o ABL nel campione di analisi. Per ulteriori informazioni, vedere la Tabella 2 nelle Istruzioni per l'uso.

Limitazioni di Xpert® BCR-ABL Ultra p190 (segue)

- Alcuni campioni di analisi con livelli molto bassi di trascritto ABL o con globuli bianchi inferiori a 150.000 cellule/ml possono essere segnalati come **NON VALIDO (INVALID)** (Tipo 1). Un risultato indeterminato non esclude la presenza di livelli molto bassi di cellule leucemiche nel paziente.
- Il trascritto p230 della LMC con micro punto di rottura e19a2 può segnalare un risultato BCR-ABL positivo sotto il LoD del test (0,0065%) quando viene testato a livelli target elevati (> 3,52 log sopra il LoD).
- Mutazioni o polimorfismi nelle regioni leganti il primer o la sonda possono compromettere il rilevamento di varianti nuove o sconosciute e possono generare risultati falsi negativi.
- Alcuni pazienti con livelli molto bassi di trascritto BCR-ABL1 (cioè inferiori al LoD di 0,0065%) possono essere segnalati come **BCR-ABL p190 NON RILEVATO [Trascritto ABL sufficiente] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Pertanto, un risultato non rilevato non esclude la presenza di bassi livelli di cellule leucemiche nel paziente.
- Il test è convalidato per l'uso sul sistema GeneXpert Dx (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi



Trasporto e conservazione dei campioni di analisi

I campioni di analisi di sangue intero devono essere raccolti in provette con EDTA attenendosi alle linee guida della struttura sanitaria.

Tipo di campione di analisi

Conservazione

Campione di analisi di
sangue intero

2-8 °C per ≤ 72 ore

Preparazione della cartuccia



Cartuccia Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Preparazione di un campione di analisi con un conteggio di globuli bianchi (WBC) sconosciuto o campioni di analisi con meno di 30 milioni di WBC/ml

Preparazione del lisato e della cartuccia

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

Per istruzioni dettagliate, precauzioni e avvertenze, fare riferimento al foglietto illustrativo.

Per una copia della SDS, consultare il sito:
www.cepheid.com o
www.cepheidinternational.com


Supporto Tecnico di Cepheid
Ufficio statunitense
+1 (888) 838-3222, Interno 2
techsupport@cepheid.com
Ufficio europeo +33 563 82 53 19

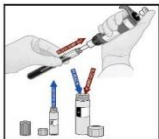
20 minuti prima di iniziare la procedura, consentire agli elementi riportati di seguito di raggiungere la temperatura ambiente (20 °C – 30 °C)

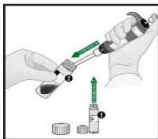
- campione di analisi ematico
- cartuccia
- reagenti di preparazione dei campioni

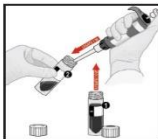


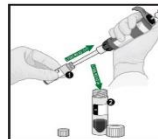
- 1 Estrarre dal frigorifero il sangue intero in EDTA e i reagenti per la preparazione dei campioni. Collocare il sangue in EDTA su un agitatore basculante o miscelare capovolgendo il contenitore 8 volte prima del campionamento.



- 2 Centrifugare brevemente il reagente PK. Aggiungere 100 µl di reagente PK in una provetta conica da 50 ml. Aggiungere quindi 4 ml di sangue intero in EDTA ben miscelato alla stessa provetta conica da 50 ml. Agitare il campione in vortex per 3 s e incubare per 1 min a temperatura ambiente.



- 3 Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla provetta, agitare in vortex per 10 s e incubare per 5 min a temperatura ambiente. Agitare nuovamente in vortex per 10 s e incubare una seconda volta per 5 min. Miscelare il contenuto della provetta picchiettandola 10 volte.



- 4 Trasferire 1 ml di lisato preparato in una nuova provetta conica da 50 ml. Conservare il lisato rimanente per eventuali ripetizioni dell'analisi.

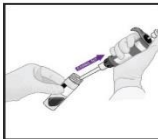

- 5 Aggiungere 1,5 ml di reagente di lisi (LY) alla nuova provetta conica contenente il lisato preparato in precedenza. Agitare in vortex per 10 s e incubare per 10 min a temperatura ambiente.

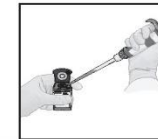

- 6 Aggiungere 2 ml di EtOH assoluto di grado reagente alla stessa provetta conica. Agitare in vortex per 10 s e mettere da parte. Gettare i reagenti PK o LY rimasti.



- 7 Aprire il coperchio della cartuccia del test Xpert.

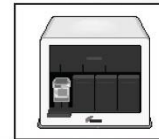

- 8 Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1 (piccola apertura).


- 9 Pipettare l'intero contenuto del lisato preparato finale dalla provetta conica.


- 10 Trasferire l'intero contenuto del campione preparato (~4,5 ml) nella camera destinata al campione.


- 11 Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert.


- 12 Avviare il test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.



© 2015-2023 Cepheid. Tutti i diritti riservati.



Per uso diagnostico *in vitro* Dispositivo medico diagnostico *in vitro*. Potrebbe non essere disponibile in alcuni Paesi. Non disponibile negli Stati Uniti.

301-4654-IT, Rev. E, Febbraio 2023

Fare riferimento al video sulla preparazione della cartuccia Xpert® BCR-ABL Ultra p190.

19 © 2022-2023 Cepheid. Tutti i diritti riservati. CE-IVD. Dispositivo medico diagnostico *in vitro*. Potrebbe non essere disponibile in tutti i Paesi. Non disponibile negli Stati Uniti.



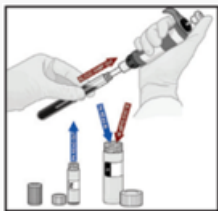
Preparazione della cartuccia Xpert® BCR-ABL Ultra p190

Preparazione di un campione di analisi con un conteggio di globuli bianchi superiore a 30 milioni di cellule/ml

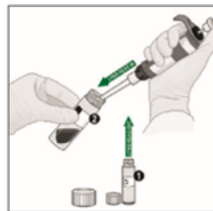
1. Accertarsi di miscelare bene il campione di sangue capovolgendo la provetta per la raccolta di sangue con EDTA per 8 volte immediatamente prima del pipettaggio.



2. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere 100 µl di PK (Proteinasi K). **Aggiungere 50 µl di campione di sangue.** Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 3 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto.



3. Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla stessa provetta. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Incubare a temperatura ambiente per 5 minuti. Ripetere la miscelazione in vortex e la fase di incubazione con gli stessi tempi.



4. Aggiungere alla stessa provetta conica 2 ml di etanolo assoluto di grado reagente. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Mettere da parte a temperatura ambiente. Gettare gli eventuali reagenti PK o LY rimasti.



5. Aprire il coperchio della cartuccia.

6. Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1.

7. Pipettare l'intero contenuto del campione preparato nella camera per il campione (apertura grande).

8. Chiudere il coperchio della cartuccia e avviare il saggio.

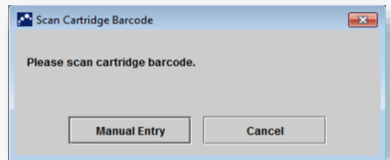
Esecuzione di un test su GeneXpert® Dx

1 Creare un test.



Iniziare il test **entro 1 ora** dall'introduzione del campione nella cartuccia.

2 Eseguire la scansione del codice a barre per ID paziente (Patient ID) e/o ID campione (Sample ID).



Non fare clic su Immissione manuale (Manual Entry) o Annulla (Cancel).

3 Eseguire la scansione della cartuccia.



Esecuzione di un test su GeneXpert® Dx (segue)

4 Compilare i campi come richiesto.

5 Il test Xpert® BCR-ABL p190 viene selezionato automaticamente.

6 Il modulo viene selezionato automaticamente.

7 Fare clic su Avvia analisi (Start Test).

8 Una spia verde lampeggerà sul modulo.
Caricare la cartuccia nel modulo e chiudere lo sportello.

The screenshot shows the 'Create Test' software interface. It contains several input fields and dropdown menus. Orange boxes highlight the following elements: the Patient ID, Sample ID, Patient ID 2, and Last Name fields; the 'Select Assay' dropdown menu which is set to 'Xpert BCR-ABL p190'; the 'Select Module' dropdown menu which is set to 'A3'; and the 'Start Test' button at the bottom right. A mouse cursor is pointing at the 'Start Test' button. Other visible fields include 'Reagent Lot ID*' (16119), 'Expiration Date*' (2016/1/17), 'Test Type' (Specimen), and 'Sample Type' (Other). There is also a 'Notes' text area and a 'Scan Cartridge Barcode' button.



Protocollo Xpert® BCR-ABL Ultra p190 automatizzato



Controlli qualità

Strategia di controllo di Xpert® BCR-ABL p190

CONTROL

- Controlli qualità di Xpert® BCR-ABL p190
 - Ciascuna cartuccia Xpert è un dispositivo di test autonomo
 - Cepheid ha ideato appositi metodi molecolari con controlli interni che permettono al sistema di rilevare specifiche modalità di errore in ciascuna cartuccia. Controlli interni a bordo per ciascun campione
 - Controllo per la verifica della sonda (PCC)
 - Controllo endogeno ABL1

Interpretazione dei risultati

Risultati quantitativi

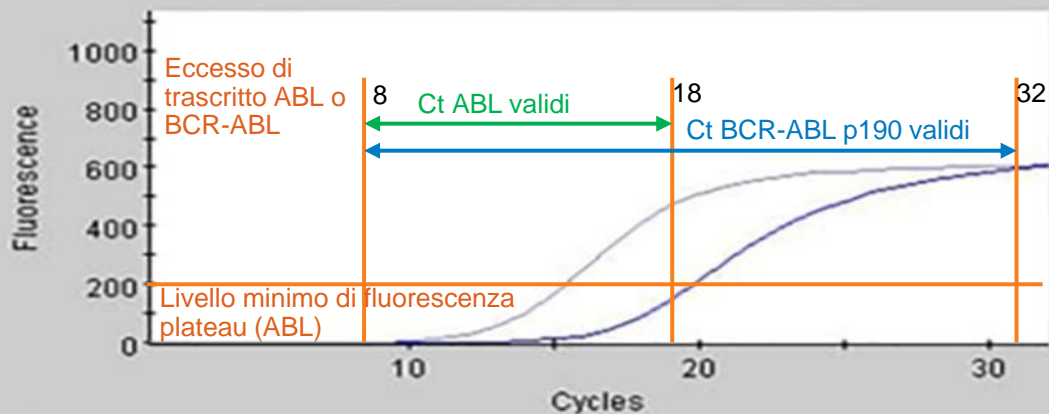
- I sistemi GeneXpert[®] calcolano i risultati automaticamente in base ai valori del ciclo soglia (Ct) generati dal test e ai parametri specifici del lotto assegnati durante la fabbricazione. Il software applica il seguente algoritmo, in cui il valore ΔCt (delta Ct) viene ottenuto dal Ct di ABL meno il Ct di BCR-ABL p190; e dove efficienza (E) e fattore di scala (SF) sono valori specifici del lotto.
 - Rapporto percentuale = $\text{Efficienza}^{(\Delta Ct)} \times \text{Fattore di scala} \times 100$
- Utilizzando i valori Efficienza e Fattore di scala, la quantificazione dei trascritti BCR-ABL p190 (e1a2) e ABL1 viene calibrata in base al numero di copie di standard primari che consiste in RNA trascritto in vitro (IVT-RNA) di BCR-ABL p190 e ABL1 sintetici.
- I valori Efficienza e Fattore di scala sono incorporati in ogni codice a barre delle cartucce. Le Schede dati con le specifiche dei lotti sono disponibili tramite il Supporto Tecnico Cepheid.

Valori validi di Ct e fluorescenza

Test Result

BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%]

For In Vitro Diagnostic Use Only



Legend

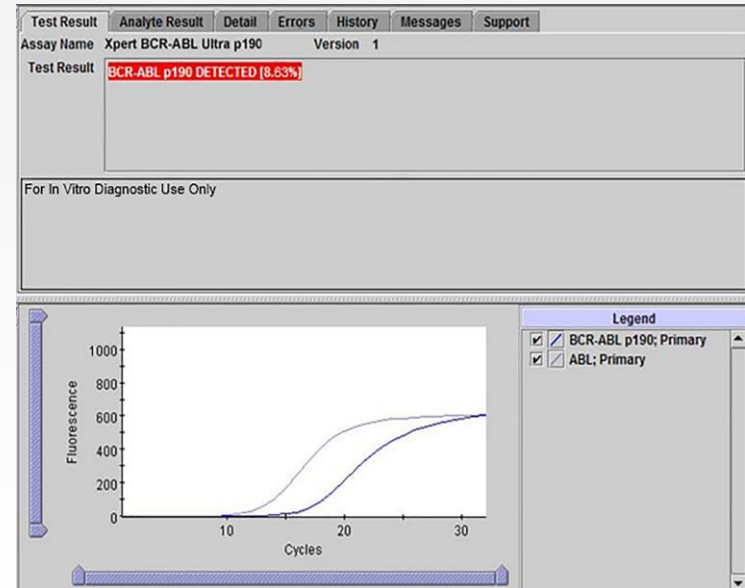
- BCR-ABL p190; Primary
- ABL; Primary

Risultati BCR-ABL p190 Rilevato (BCR-ABL p190 Detected)

- Il controllo per la verifica della sonda (PCC) deve essere AMMESSO (PASS)
- Il controllo endogeno ABL deve essere AMMESSO (PASS):
 - il ciclo soglia (Ct) rientra nell'intervallo di validità $8 \leq Ct \leq 18$
 - e l'endpoint è al di sopra della soglia impostata
- BCR-ABL p190 deve essere Rilevato (Detected):
 - il ciclo soglia (Ct) rientra nell'intervallo di validità $8 \leq Ct \leq 32$
 - e l'endpoint è al di sopra della soglia

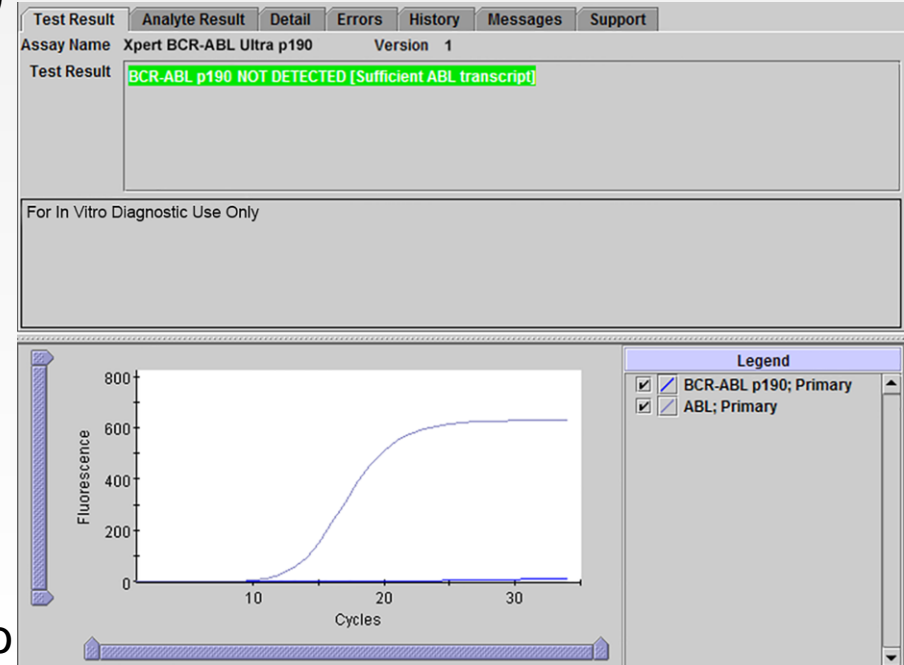
Risultati BCR-ABL p190 Rilevato (BCR-ABL p190 Detected)

- Risultato del saggio:
 - BCR-ABL p190 RILEVATO [# ,##%]
(BCR-ABL p190 DETECTED [# ,##%])
 - BCR-ABL p190 RILEVATO
[Inferiore al LoD, <0,0065%]
(BCR-ABL p190 DETECTED
[Below LoD, <0.0065%])
 - BCR-ABL p190 RILEVATO
[Sopra il LoQ superiore]
(BCR-ABL p190 DETECTED
[Above upper LoQ])
- Fare riferimento alle Istruzioni per l'uso
per ulteriori esempi dei risultati Rilevato
(Detected)



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

- Il controllo per la verifica della sonda (PCC) deve essere **AMMESSO (PASS)**
- Il controllo endogeno ABL deve essere **AMMESSO (PASS)**:
 - il ciclo soglia (Ct) rientra nell'intervallo di validità $8 \leq Ct \leq 18$
 - e l'endpoint è al di sopra della soglia impostata
- BCR-ABL p190 deve essere **NON rilevato (NOT Detected)**:
 - nessun ciclo soglia (Ct) (Ct = 0) oppure
 - endpoint inferiore alla soglia impostata
- Risultato del saggio:
- BCR-ABL p190 **NON RILEVATO** [Trascritto ABL sufficiente] (BCR-ABL p190 **NOT DETECTED** [Sufficient ABL transcript])



Risoluzione dei problemi

Fattori che influiscono negativamente sui risultati

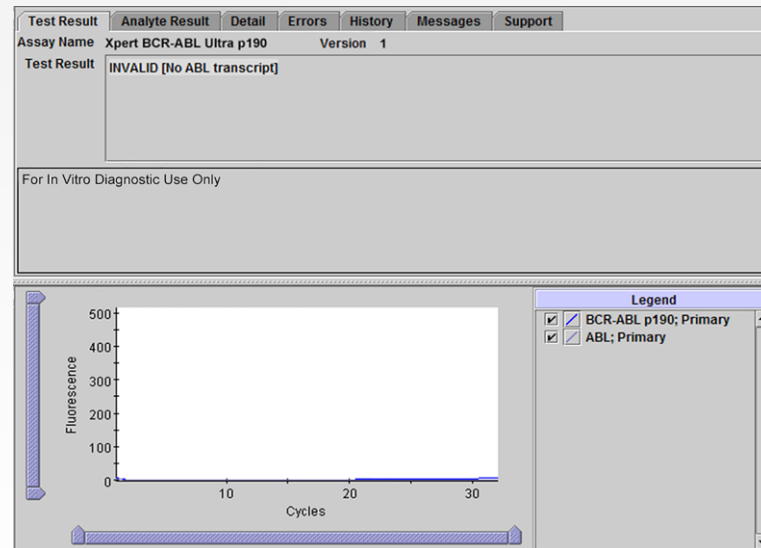
- Prelievo non corretto del campione di analisi.
 - Le prestazioni di questo saggio con altri tipi di campioni di analisi o campioni non sono state valutate.
- Presenza di una quantità insufficiente di organismi nel campione di analisi.
- Trasporto o conservazione non corretti del campione di analisi prelevato.
 - Le condizioni di conservazione e trasporto sono specifiche per i campioni di analisi.
 - Per indicazioni sulla corretta manipolazione, consultare le Istruzioni per l'uso.
- Procedura di analisi non corretta.
 - Apportando modifiche alle procedure di analisi si possono alterare le prestazioni del test.
 - La stretta osservanza delle Istruzioni per l'uso è necessaria per evitare risultati erranei.

Risultato BCR-ABL p190 NON VALIDO (BCR-ABL p190 INVALID)

- Il controllo per la verifica della sonda (PCC) deve essere AMMESSO (PASS)
- Controllo endogeno ABL RESPINTO/AMMESSO (FAIL/PASS)
 - Il ciclo soglia (Ct) non rientra nell'intervallo di validità $8 \leq Ct \leq 18$ oppure
 - L'endpoint è al di sotto della soglia impostata
- BCR-ABL p190 NON VALIDO (BCR-ABL p190 INVALID)
 - Il ciclo soglia (Ct) non rientra nell'intervallo di validità $8 \leq Ct \leq 32$

Risultato BCR-ABL p190 NON VALIDO (BCR-ABL p190 INVALID)

- Risultati del saggio
 - NON VALIDO [Nessun trascritto ABL] (INVALID [No ABL transcript])
 - NON VALIDO [Trascritto ABL insufficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])
 - NON VALIDO [Trascritto BCR-ABL p190 e ABL troppo alto] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcript])
 - NON VALIDO [Trascritto BCR-ABL p190 troppo alto] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])
 - NON VALIDO [Trascritto ABL troppo alto] (INVALID [Too high ABL transcript])



- Fare riferimento alle Istruzioni per l'uso per ulteriori esempi dei risultati NON VALIDO (INVALID)

Risultato Errore (Error)

Non è possibile determinare il livello di trascritto BCR-ABL

- BCR-ABL Nessun risultato (BCR-ABL No Result)
- ABL Nessun risultato (ABL No Result)
- Controllo per la verifica della sonda RESPINTO (Probe Check Control FAIL)

#	Description	Detail
1	Operation terminated	Error 2008: Syringe pressure reading of 100.0 PSI exceeds the protocol limit of 100.0 PSI

Cause/soluzioni possibili

- **Errore 2008** – Superamento del limite di pressione
- Verificare la qualità del campione
- Verificare la presenza di un conteggio di globuli bianchi esageratamente elevato
- Seguire la procedura di ripetizione del test di tipo 2

- **Errore 5006, 5007, 5008 e 5009** – Errore di verifica della sonda
- Seguire la procedura di ripetizione del test di tipo 1

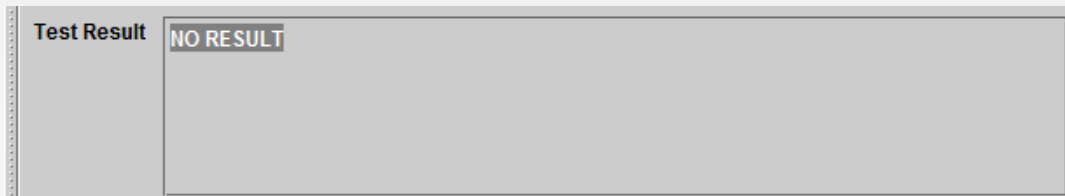
*Consultare la Tabella 2, Guida alla risoluzione dei problemi, nelle Istruzioni per l'uso

NESSUN RISULTATO (NO RESULT)

- Non è possibile determinare il livello di trascritto BCR-ABL

- Errore nella raccolta dei dati

- L'operatore, ad esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test oppure si è verificata un'interruzione di corrente



*Consultare la Tabella 2, Guida alla risoluzione dei problemi, nelle Istruzioni per l'uso

Motivi per la ripetizione del test

- **NON VALIDO (INVALID) (Tipo 1) o ERRORE (ERROR)**
 - A causa del ciclo soglia (Ct) di ABL che supera il cut-off Ct massimo valido (Ct>18) o di endpoint al di sotto della soglia impostata (<200).
- **NON VALIDO (INVALID) (Tipo 2) o ERRORE (ERROR) (Codice 2008):**
 - Analizzare nuovamente i campioni con livelli di trascritto BCR-ABL p190 e/o ABL inferiori al cut-off Ct minimo valido (Ct<8) e/o quando viene superato il limite di pressione.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT):**
 - A causa di errore nella raccolta dei dati.

Procedure di ripetizione del test

Procedure di ripetizione del test

(consultare la Tabella 2, Guida alla risoluzione dei problemi, nelle Istruzioni per l'uso)

- NON VALIDO (INVALID)
 - Errore ABL del controllo endogeno a causa della scarsa qualità del campione, inibizione di RT-PCR, se ABL Ct>18 e/o endpoint <200 => Procedura di ripetizione del test di **Tipo 1**
 - Il livello di trascritto BCR-ABL non può essere determinato a causa del campione contenente trascritti BCR-ABL e/o ABL in eccesso (Ct<8) => Procedura di ripetizione del test di **Tipo 2**
- ERRORE (ERROR)
 - ERRORE (Codice 2008) Superamento del limite di pressione => **Tipo 2**
 - ERRORE (Codice 5006, 5007, 5008 e 5009) Errore di verifica della sonda => **Tipo 1**
- NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
 - Errore nella raccolta dei dati. L'operatore, ad esempio, ha interrotto l'esecuzione di un saggio oppure si è verificata un'interruzione di corrente => **Tipo 1**

Ripetere il test dalla provetta per la raccolta di sangue

(se è disponibile un volume sufficiente di campione ematico)

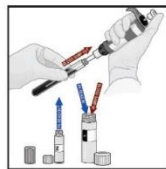
(Procedura di ripetizione del test di Tipo 1)

Inizia qui

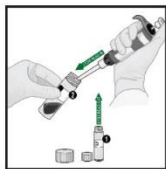
- 1 Estrarre dal frigorifero il sangue intero in EDTA e i reagenti per la preparazione dei campioni. Collocare il sangue in EDTA su un agitatore basculante o miscelare capovolgendo il contenitore 8 volte prima del campionamento.



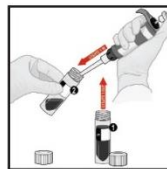
- 2 Centrifugare brevemente il reagente PK. Aggiungere 100 µl di reagente PK in una provetta conica da 50 ml. Aggiungere quindi 4 ml di sangue intero in EDTA ben miscelato alla stessa provetta conica da 50 ml. Agitare il campione in vortex per 3 s e incubare per 1 min a temperatura ambiente.



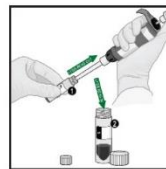
- 3 Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla provetta, agitare in lisi per 10 s e incubare per 5 min a temperatura ambiente. Agitare nuovamente in vortex per 10 s e incubare una seconda volta per 5 min. Miscelare il contenuto della provetta picchiandola 10 volte.



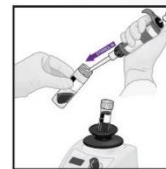
- 4 Trasferire 1 ml di lisato preparato in una nuova provetta conica da 50 ml. Conservare il lisato rimanente per eventuali ripetizioni dell'analisi.



- 5 Aggiungere 1,5 ml di reagente di lisi (LY) alla nuova provetta conica contenente il lisato preparato in precedenza. Agitare in vortex per 10 s e incubare per 10 min a temperatura ambiente.



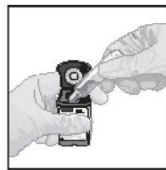
- 6 Aggiungere 2 ml di EtOH assoluto di grado reagente alla stessa provetta conica. Agitare in vortex per 10 s e mettere da parte. Gettare i reagenti PK o LY rimasti.



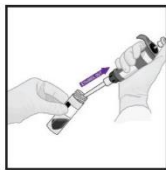
- 7 Aprire il coperchio della cartuccia del test Xpert.



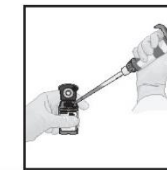
- 8 Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1 (piccola apertura).



- 9 Pipettare l'intero contenuto del lisato preparato finale dalla provetta conica.



- 10 Trasferire l'intero contenuto del campione preparato (~4,5 ml) nella camera destinata al campione.



- 11 Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert.



- 12 Avviare il test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.



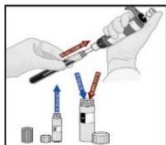
Ripetere il test dal lisato (se il volume del campione ematico è *insufficiente*) (procedura di ripetizione del test di Tipo 1)

- Prima dell'uso, scongelare il lisato a temperatura ambiente
- Accertarsi che il lisato sia ben miscelato mescolando ininterrottamente per 10 secondi il campione in vortex all'impostazione massima e metterlo da parte per 3 minuti affinché le bolle scompaiano. Poi **iniziare da qui**

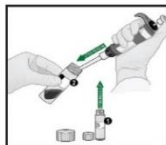
1 Estrarre dal frigorifero il sangue intero in EDTA e i reagenti per la preparazione dei campioni. Collocare il sangue in EDTA su un agitatore basculante o miscelare capovolgendo il contenitore 8 volte prima del campionamento.



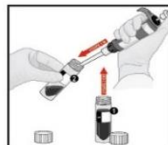
2 Centrifugare brevemente il reagente PK. Aggiungere 100 μ l di reagente PK in una provetta conica da 50 ml. Aggiungere quindi 4 ml di sangue intero in EDTA ben miscelato alla stessa provetta conica da 50 ml. Agitare il campione in vortex per 3 s e incubare per 1 min a temperatura ambiente.



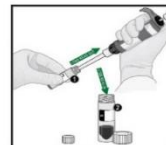
3 Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla provetta, agitare in vortex per 10 s e incubare per 5 min a temperatura ambiente. Agitare nuovamente in vortex per 10 s e incubare una seconda volta per 5 min. Miscelare il contenuto della provetta picchiettandola 10 volte.



4 Trasferire 1 ml del lisato preparato in una nuova provetta conica da 50 ml. Conservare il lisato rimanente per eventuali ripetizioni dell'analisi.



5 Aggiungere 1,5 ml di reagente di lisi (LY) alla nuova provetta conica contenente il lisato preparato in precedenza. Agitare in vortex per 10 s e incubare per 10 min a temperatura ambiente.



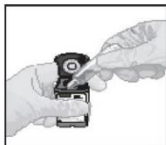
6 Aggiungere 2 ml di EtOH assoluto di grado reagente alla stessa provetta conica. Agitare in vortex per 10 s e mettere da parte. Gettare i reagenti PK o LY rimasti.



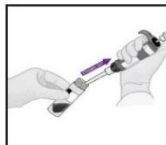
7 Aprire il coperchio della cartuccia del test Xpert.



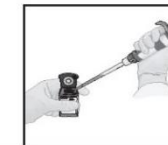
8 Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1 (piccola apertura).



9 Pipettare l'intero contenuto del lisato preparato finale dalla provetta conica.



10 Trasferire l'intero contenuto del campione preparato (~4,5 ml) nella camera destinata al campione.



11 Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert.



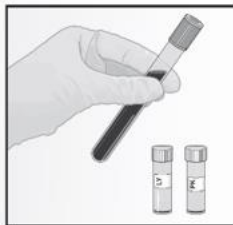
12 Avviare il test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.



Ripetere il test dal sangue

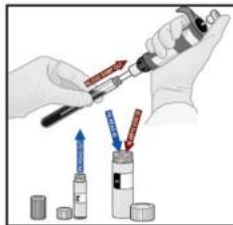
(procedura di ripetizione del test di Tipo 2)

1. Accertarsi di miscelare bene il campione di sangue capovolgendo la provetta per la raccolta di sangue con EDTA per 8 volte immediatamente prima del pipettaggio.



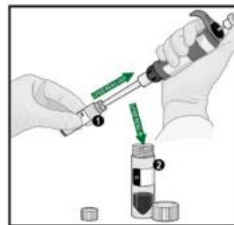
5. Aprire il coperchio della cartuccia.

2. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere 100 μ l di PK (Proteinasi K). **Aggiungere 50 μ l di campione di sangue.** Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 3 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto.



6. Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1.

3. Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla stessa provetta. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Incubare a temperatura ambiente per 5 minuti. Ripetere la miscelazione in vortex e la fase di incubazione con gli stessi tempi.



7. Pipettare l'intero contenuto del campione preparato nella camera per il campione (apertura grande).

4. Aggiungere alla stessa provetta conica 2 ml di etanolo assoluto di grado reagente. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Mettere da parte a temperatura ambiente.



8. Chiudere il coperchio della cartuccia e avviare il saggio.

Ripetizione del test da lisato

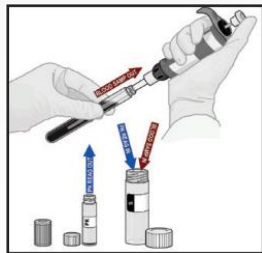
(procedura di ripetizione del test di Tipo 2)

1. Accertarsi che il lisato sia ben miscelato, miscelando ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi e mettendolo da parte per 3 minuti affinché le bolle scompaiano.



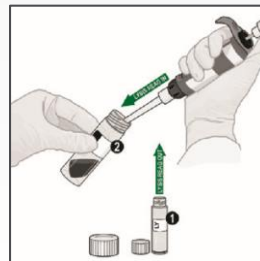
5. Aprire il coperchio della cartuccia. Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1.

2. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere 100 µl di PK (Proteinasi K). Aggiungere **80 µl di lisato**. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 3 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto.



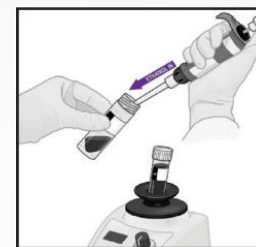
6. Pipettare l'intero contenuto del campione preparato.

3. Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla stessa provetta. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Incubare a temperatura ambiente per 5 minuti. Ripetere la miscelazione in vortex e la fase di incubazione con gli stessi tempi.



8. Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert®.

4. Aggiungere alla stessa provetta conica 2 ml di etanolo assoluto di grado reagente. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Mettere da parte a temperatura ambiente.



9. Avviare il saggio entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.

Assistenza Tecnica

- Prima di contattare il Supporto Tecnico di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:
 - Nome del prodotto
 - Numero di lotto
 - Numero di serie del sistema
 - Messaggi di errore (se presenti)
 - Versione software
- Registrare il reclamo online utilizzando il seguente link
<http://www.cepheid.com/en/support>: *Creare una richiesta di supporto*



Grazie

www.Cepheid.com