

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

REF GXBCRABLP190-CE-10

Käyttöohjeet



Tavaramerkki, patentit ja tekijänoikeuslausekkeet

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2022-2026 Cepheid.

Cepheid®, Cepheid-logo, GeneXpert® ja Xpert® ovat Cepheidin tavaramerkkejä, jotka on rekisteröity Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

Kaikki muut tavaramerkit ovat vastaavien omistajiensa omaisuutta.

TÄMÄN TUOTTEEN HANKINTA VÄLITTÄÄ OSTAJALLE EI SIIRRETTÄVISSÄ OLEVAN OIKEUDEN KÄYTTÄÄ SITÄ NÄIDEN KÄYTTÖOHJEIDEN MUKAAN. MITÄÄN MUITA OIKEUKSIA EI MYÖNNETÄ SUORAAN, EPÄSUORASTI TAI ESTOPPEL-PERIAATTEEN MUKAAN. TÄMÄN LISÄKSI TÄMÄN TUOTTEEN HANKINNAN YHTEYDESSÄ EI MYÖNNETÄ MITÄÄN UUELLEENMYyntioikeuksia.

©2022–2026 Cepheid.

Lue muutosten kuvaukset versiohistoriasta (Osa 26).

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

In vitro -diagnostiseen käyttöön.

1 Patentoitu nimi

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

2 Yleinen tai tavallinen nimi

Xpert BCR-ABL Ultra p190

3 Käyttötarkoitus

3.1 Käyttötarkoitus

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 -testi on diagnostinen *in vitro* -testi, jota käytetään Cepheidin GeneXpert[®] Dx System -järjestelmän kanssa BCR-ABL1 p190- ja ABL1 mRNA -transkriptien kvantitointiin Philadelphia-positiivisilta (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] kroonista myelooista leukemiaa (CML) ja akuuttia lymfoblastileukemiaa (ALL) sairastavilta potilailta otetuista perifeerisistä verinäytteistä, jotka ilmentävät BCR-ABL1-fuusiotranskriptin tyyppiä e1a2. Testissä käytetään automatisoitua ja kvantitatiivista reaaliaikaista käänteistranskriptio-polymeraasiketjureaktiota (RT-qPCR). Testillä voidaan mitata BCR-ABL1 p190 mRNA:n ja ABL1 mRNA:n välistä prosenttisuhdetta t(9;22)-positiivissa CML- tai ALL-potilaissa hoitoseurannan aikana.

Testillä ei voida tarkkailla muita t(9;22)-translokaatiosta johtuvia fuusiotranskripteja, eikä sitä ole tarkoitettu CML- tai ALL-leukemian diagnosointiin.

3.2 Kohdekäyttäjä/ympäristö

Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testi on tarkoitettu koulutettujen käyttäjien käyttöön laboratorioympäristössä.

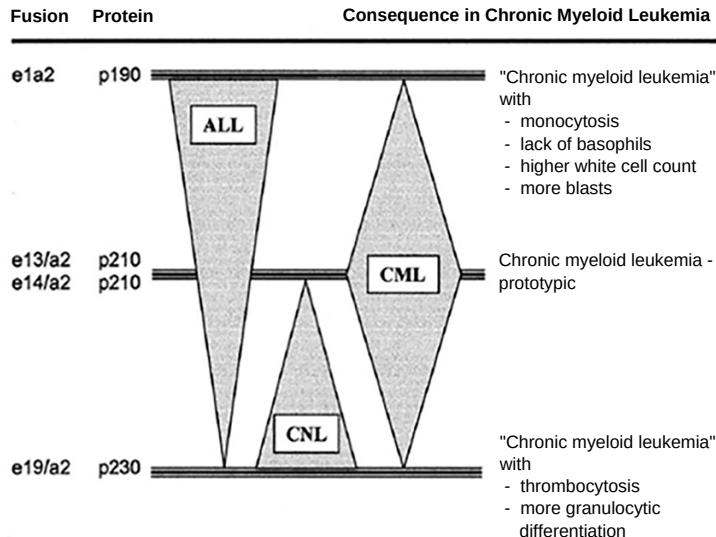
4 Yhteenveto ja selitys

Philadelphia-kromosomi (Ph) on lyhentynyt kromosomi, joka muodostuu, kun kromosomin 9 ABL-geenin sisältävä 3'-segmentti vaihtaa paikkaa kromosomin 22 BCR-geenin sisältävän 5'-segmentin kanssa. a2-eksonin 5'-segmentin päässä oleva ABL-geenin katkoskohta on melko vakio, kun taas BCR-geenin katkoskohdissa esiintyy vaihtelua. Ne klusteroituvat kuitenkin pääasiassa 3 eri alueelle (katkoskohdan klusterialueet tai bcr, Breakpoint Cluster Regions). Kromosomin 22 katkoskohdasta riippuen eri kokoiset segmentit yhdistyvät ABL-geenin 3'-sekvenssien kanssa. Katkoskohtia on huomattavia (M-bcr), vähäisiä (m-bcr) ja mikrokatkoskohtia, joista jokainen aiheuttaa eri kokoisia mRNA-fuusiotranskripteja.¹

Ph-kromosomia havaitaan yli 95 %:lla kroonista myelooista leukemiaa (CML) sairastavista potilaista ja noin 20–30 %:lla akuuttia lymfoblastileukemiaa (ALL) sairastavista aikuispotilaista, 5 %:lla ALL-lapsipotilaista ja 1–2 %:lla akuuttia myelooista leukemiaa (AML) sairastavista potilaista.¹

CML-leukemian kyseessä ollen BCR-ABL p210 -transkriptia esiintyy yli 95 %:lla potilaista. Sitä esiintyy myös noin 30 %:lla Ph-positiivisista (Ph+) ALL-potilaista. Muilla Ph+ ALL -potilailla ja harvoissa tapauksissa CML-potilailla (1–3 %) esiintyy BCR-ABL p190 -transkriptia. CML-leukemiassa voi esiintyä samanaikaisesti sekä BCR-ABL p210- että p190-proteiineja. Sekä p210- että p190-fuusioproteiinit osoittavat lisääntyneen tyrosiinifosfokinaasiaktiivisuutta verrattuna normaaliin p145 c-abl -proteiiniin.^{1,2}

Ph+ ALL -potilaiden osalta p190-muoto havaitaan noin 80 %:lla Ph+ ALL -lapsipotilaista ja 20–40 %:lla Ph+ ALL -aikuispotilaista.¹ Tämän lisäksi Ph-kromosomin esiintyvyys lisääntyy iän mukana esiintyvyyden ollessa 10 % 15–30-vuotiailla, 25 % 40–49-vuotiailla ja 20–40 % yli 50-vuotiailla ALL-potilailla.^{3–5}



Akuutti lymfoblastileukemia (ALL) on hematologinen sairaus, jossa luuytimeen, vereen ja muihin kudoksiin kerääntyy kehittymättömiä ja huonosti eriytyneitä valkosoluja (lymfoblasteja). ALL luokitellaan harvinaiseksi syöväksi (ORPHA-koodi ORPHA:513; GARD 522), jonka esiintyvyys on 1,7/100 000. Yhdysvalloissa ALL-leukemia on yleisin lapsilla esiintyvä syöpä syntymästä 15-vuotiaisiin ja se käsittää 75 % kaikista pediatriasta leukemiatapauksista.^{6, 7}

Ph-kromosomin esiintyminen ALL-potilailla konsolidoitumisen jälkeen on merkittävä syövän uusiutumisen ennustaja, ja seurantaa suositellaan. Tällä hetkellä ei kuitenkaan ole vakiintunutta ohjeistusta ALL-potilaiden seuranta-aikataulusta, jossa käytettäisiin BCR-ABL p190 -transkriptin mittauksia jäännöstaudin (MRD) havaitsemiseen. NCCN-ohjeistuksessa on tarkat ajankohdat BCR-ABL p210 -transkriptin tarkkailuun CML-potilailla, joten BCR-ABL p190 -transkriptin mittaaminen ALL-leukemian seurannassa tehdään saman aikataulun mukaan.⁵

Krooniselle myelooiselle leukemialle (CML) on ominaista Ph-kromosomin esiintyminen. > 95 % tapauksista liittyy BCR-ABL p210 -transkriptiin ja vain 1–3 % tapauksista BCR-ABL p190 -transkriptiin.^{2,3}

Maailman terveysjärjestön kansainvälisestä standardista (WHO IS) BCR-ABL:n p210-transkriptille poiketen tällä hetkellä ei ole kansainvälisiä standardeja, joita voitaisiin käyttää p190-fuusiotranskriptin standardointiin. Tästä syystä tämänhetkiset p190-molekyyliääritykset yleensä havaitsevat fuusiotranskriptin ja ilmoittavat sen prosentteina suhteessa sisäisen kontrolligeenin (esim. ABL) ilmentymiseen.

5 Toimenpiteen periaate

Xpert BCR-ABL Ultra p190 on automatisoitu testi BCR-ABL1 p190 -transkriptimäärän kvantitointiin BCR-ABL1 p190- ja ABL1-transkriptin välisenä suhteena. Testi tehdään Cepheidin GeneXpert Dx System -testillä, jossa automatisoidaan ja integroidaan yksinkertaisten tai monimutkaisten näytteiden puhdistaminen, nukleiinihappojen monistuminen ja kohdesekvenssin havaitseminen reaaliaikaisilla RT-PCR- ja sisäkkäisillä PCR-testeillä. Järjestelmä koostuu instrumentista, tietokoneesta ja valmiiksi asennetusta ohjelmistosta testien ajamista ja tulosten näyttämistä varten. Järjestelmässä on käytettävä näytekohtaisia, kertakäyttöisiä GeneXpert-kasetteja, jotka sisältävät RT-PCR- ja sisäkkäiset PCR-reagenssit ja jotka isännöivät RT-PCR- ja sisäkkäisiä PCR-prosesseja. Järjestelmän yksityiskohtainen kuvaus, ks. asianmukainen *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Xpert BCR-ABL Ultra p190 -kasetti sisältää reagenssit vähäisestä katkoskohdasta (m-bcr), e1a2-translokaatiosta, johtuvien BCR-ABL1 p190 -fuusiogeenien ja ABL1-transkriptin havaitsemiseen endogeenisenä kontrollina perifeerisissä verinäytteissä. BCR-ABL1 p190 -transkriptin määrä kvantifioidaan BCR-ABL1 p190- ja ABL1-transkriptin välisenä prosenttisuhteena. Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testi sisältää kaksi kontrollia - endogeenisen kontrollin (ABL1) ja koettimen tarkistuskontrollin (PCC). Endogeeninen ABL1-kontrolli normalisoi BCR-ABL p190 -kohteen ja varmistaa, että testissä käytettävä näytemäärä on riittävä. Koettimen tarkistuskontrolli (PCC) varmistaa reagenssin nesteytyksen, PCR-putken täyttyvän ja vahvistaa, että kaikki reaktiokomponentit, koettimet ja väriaineet mukaan lukien, ovat kasetissa ja toimivat.

6 Reagenssit ja instrumentit

6.1 Toimitetut materiaalit

Xpert BCR-ABL Ultra p190 -pakkauksen (GXBCRABLP190-CE-10) sisältämä reagenssimäärä riittää 10 testinäytteen tai laatukontrollinäytteen prosessointiin. Pakkauksessa on seuraavat:

Xpert BCR-ABL Ultra -reagenssit

10 kutakin pakkausta kohti

Proteinaasi K (PK)	10 x 130 µl pulloa kohti
Aineosa	Reagenssin ainesosa
Proteinaasi K	< 5 %

Lyysireagenssi (LY) (guanidiniumkloridi)	10 x 5,3 ml pulloa kohti
Aineosa	Reagenssin ainesosa
Guanidiniumkloridi	25–50 %
Urea	25–50 %
Natriumdodesyyilisulfaatti	< 2 %

Pesureagenssi	10 x 2,9 ml ampullia kohti
Aineosa	Reagenssin ainesosa
Etanoli	< 50 %
Guanidiinitiosyanaatti	< 50 %

Xpert BCR-ABL Ultra p190 -kasetit, joissa integroidut reaktioputket		10 pakkausta kohti
Aineosa	Reagenssin ainesosa	Määrä
Helmi 1 (pakastekuivattu)	Entsyymi: Taq-DNA-polymeraasi < 50 U/helmi	1 kasettia kohti
	dNTP:t < 0,05 %	
Helmi 2 (pakastekuivattu)	Alukkeet ja koettimet < 0,005 %	1 kasettia kohti
Helmi 3 (pakastekuivattu)	Alukkeet ja koettimet < 0,005 %	1 kasettia kohti
Helmi 4 (pakastekuivattu)	Entsyymi: Taq-DNA-polymeraasi < 50 U/helmi	1 kasettia kohti
	dNTP:t < 0,05 %	
Huuhtelureagenssi	Kaliumkloridi < 4 %	2 ml kasettia kohti
	Natriumatsidi < 0,1 %	
	Polyeteeniglykoli < 15 %	
	Tween 20 < 0,2 %	
Eluutioreagenssi	Trizma-emäs < 0,3 %	2,5 ml kasettia kohti
	Trizma-hydrokloridi < 0,1 %	

Natriumatsidi < 0,05 %

CD**1 pakkausta kohti**

- Assay Definition File (ADF, analyysin määrittelytiedosto)
- Analyysin määrittelytiedoston tuontiohjeet GeneXpert Dx -ohjelmistoon
- Käyttöohjeet (pakkausseloste)

Huomautus

Käyttöturvallisuustiedotteet (KTT) ovat saatavana verkkosivustolla www.cepheid.com tai www.cepheidinternational.com SUPPORT (TUKI) -välilehdessä.

Huomautus

Tämän valmisteen rakeissa oleva nautaperäinen proteiiniin stabilointiaine on tuotettu ja valmistettu yksinomaan Yhdysvalloista peräisin olevasta naudan plasmasta. Eläimille ei syötetty märehtijäperäisiä tai muita eläinproteiineja, ja eläimet läpäisivät testauksen ennen lopettamista ja sen jälkeen. Prosessoinnin aikana materiaalia ei sekoitettu mihinkään muuhun eläinmateriaaliin.

Huomautus

Analyysssertifikaatit ja eräkohtaiset tiedot ovat saatavana Cepheidin teknisestä tuesta.

6.2 Tarvittavat materiaalit, joita ei toimiteta

- GeneXpert Dx System (tuotenumero vaihtelee kokoonpanon mukaan): GeneXpert-laite, tietokone, viivakoodinlukija ja käyttöopas.
- GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx -ohjelmistoversio 6.2 tai uudempi
- Tulostin: Jos tulostinta tarvitaan, ota yhteyttä Cepheidin tekniseen tukeen suositellun tulostimen hankinnan järjestämiseksi.
- Koeputkiravistelijä.
- Mikrosentrifugi (vähintään 1 000 x G)
- Pipetit ja aerosolisuodatinpipettien kärjet
- 50 ml:n kartioputket
- Reagenssilaatuinen absoluuttinen etanoli

7 Varastoiminen ja käsitleminen

- Säilytä Xpert BCR-ABL Ultra p190 -pakkauksen sisältöä 2–8 °C:ssa etikettiin merkittyyn viimeiseen käyttöpäivään saakka.
- Kasetin kantta ei saa avata, ennen kuin testi voidaan suorittaa.
- Viimeisen käyttöpäivän ohittaneita kasetteja ei saa käyttää.
- Pesureagenssi on kirkasta, väritöntä nestettä. Sameaa tai värjäytynyttä pesureagenssia ei saa käyttää.
- Ota verinäyte, kasetti ja näytteen valmistelureagenssit säilytyksestä kaksikymmentä (20) minuuttia ennen toimenpiteen aloittamista ja anna niiden tasaantua huoneenlämpöön (20–30 °C).

8 Varoitukset ja varotoimet

8.1 Yleistä

- *In vitro* -diagnostiseen käyttöön.
- Kaikkia biologisia näytteitä käytetyt kasetit ja reagenssit mukaan lukien on käsiteltävä tartuntavaarallisina aineina. On usein mahdollista tietää, mitkä näytteet ovat tartuntavaarallisia, joten kaikkia biologisia näytteitä on käsiteltävä yleisten varotoimenpiteiden mukaisesti. Näytteiden käsittelyohjeistus on saatavana Yhdysvaltain taudinhallinta- ja estämiskeskuksesta (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁹ ja CLSI-instituutista (Clinical and Laboratory Standards Institute).¹⁰
- Kemikaalien kanssa työskennellessä ja biologisia näytteitä käsiteltäessä on noudatettava laitoksen asettamia turvallisuustoimenpiteitä.
- Tämän testin suorituskykyominaisuudet on määritetty vain EDTA-putkiin otetuilla verinäytteillä. Tämän testin suorituskykyä ei ole arvioitu millään muulla näytetyypeillä tai näytteillä.

- Luotettavien tulosten saaminen edellyttää asianmukaista näytteenottoa, kuljetusta, säilytystä ja prosessointia. Ohjeiden vastainen näytteenotto, käsittely, säilytys, tekniset virheet, näytteiden sekoittuminen ja testin toteamisrajan (LoD) alapuolinen kohdetranskriptin määrä näytteessä voivat aiheuttaa virheellisiä testituloksia. Pakkausselosteen ohjeita ja *GeneXpert Dx System Operator Manual* -käyttöopasta on noudatettava huolellisesti virheellisten tulosten välttämiseksi.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin tekeminen pakkauksen tai näytteen suositellun lämpötila-alueen ja ajan ulkopuolella saattaa tuottaa virheellisiä tuloksia.
- Biologisia näytteitä, siirtolaitteita ja käytettyjä kasetteja on pidettävä tartuntavaarallisina aineita. Niiden käsittelyssä on noudatettava yleisiä varotoimenpiteitä. Käytetyt kasetit ja käyttämättömät reagenssit on hävitettävä asianmukaisesti laitoksen ympäristön suojelua koskevien jätteenkäsittelytoimenpiteiden mukaisesti. Nämä materiaalit voivat olla kemiallista vaarallista jätettä ja voivat edellyttää erityisiä kansallisia tai alueellisia hävitystoimenpiteitä. Jos kansalliset tai alueelliset säännökset eivät anna selvää ohjeistusta asianmukaisesta hävittämisestä, biologiset näytteet ja käytetyt kasetit on hävitettävä WHO:n (Maailman terveysjärjestön) lääkinnällisen jätteen käsittelyä ja hävittämistä koskevan ohjeistuksen mukaan.¹¹

8.2 Näyte

- Näytteiden kuljettamisen aikana on ylläpidettävä asianmukaisia varastointiolosuhteita näytteen eheyden varmistamiseksi (ks. Osa 10). Näytteen stabiiliteettia muissa kuin suositelluissa kuljetusolosuhteissa ei ole arvioitu.
- Kokoverinäytteitä ei saa pakastaa.
- Näytteen asianmukainen ottaminen, varastoiminen ja kuljettaminen ovat oleellisen tärkeitä oikeiden tulosten kannalta.

8.3 Testi/reagenssi

- Xpert BCR-ABL Ultra p190 -reagensseja ei saa korvata muilla reagensseilla.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testikasetin kannen saa avata vain, kun näytettä ja pesureagenssia lisätään.
- Sellaista kasettia ei saa käyttää, joka on pudotettu sen jälkeen, kun se on poistettu pakkauksesta.
- Kasettia ei saa ravistaa. Kasetin ravistaminen tai pudottaminen kasetin kannen avaamisen jälkeen voi aiheuttaa kelpaamattomia tuloksia. Näytteen tunnistetarraa ei saa asettaa kasetin kanteen tai kasetin viivakooditarraan.
- Kasettia ei saa käyttää, jos sen viivakooditarra on vaurioitunut. Kasettia ei saa käyttää, jos sen reaktioputki on vaurioitunut.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 -kasettien on oltava huoneenlämpöisiä (20–30 °C), kun niitä käytetään testaamiseen.
- Jokaista näytekohtaista Xpert BCR-ABL Ultra p190 -kasettia käytetään yhden testin prosessointiin. Prosessoituja kasetteja ei saa käyttää uudelleen.
- Pipettikärkiä ei saa käyttää uudelleen.
- Kasettia ei saa käyttää, jos se näyttää märältä tai jos kannen tiiviste näyttää rikkoutuneelta.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 -kasettia ei saa käyttää, jos reagenssia on lisätty väärään aukkoon. Xpert BCR-ABL Ultra p190 -kasetteja ei saa avata testin valmistumisen jälkeen.
- Varaa yksi pipetti- ja reagenssisarja pelkästään näytteen valmisteluun.
- Laboratoriotakkien ja käsineiden on oltava puhtaita. Käsineet on vaihdettava jokaisen näytteen käsittelemisen välillä.
- Jos näytettä tai kontrollia roiskuu, ime roiskunut neste paperipyyhkeillä käsineet kädessä. Kaikki laboratorion työtasot on puhdistettava ja desinfioitava huolellisesti juuri valmistellulla liuoksella, joka sisältää tislattua tai deionisoitua veteen sekoitettua 0,5-prosentista natriumhypokloriittia (laimenna valkaisuaine suhteessa 1:10). Lopullisen aktiivisen klooripitoisuuden on oltava 0,5 %. Kun työalue on kuivunut, pyyhy pinnat 70-prosenttisella etanolilla. Laitteiston kyseessä ollen on noudatettava valmistajan suosituksia laitteiston dekontaminaation suhteen. Vaihtoehtoisesti on noudatettava laitoksen vakiotoimenpiteitä kontaminaatio- tai roiskumistilanteessa.
- Käytetyt kasetit saattavat sisältää mahdollisesti tartuntavaarallisia materiaaleja sekä monistettua PCR-kohdetta/-kohteita. Älä avaa tai yritä muuttaa mitään kasetin osaa hävittämistä varten.

9 Kemialliset vaarat^{12,13}

Huomautus

Käyttöturvallisuustiedotteet (KTT) ovat saatavana verkkosivustolla www.cepheid.com tai www.cepheidinternational.com **SUPPORT** (TUKI) -välilehdessä.

Huomautus

Seuraavat tiedot koskevat proteinaasia K:ta sekä lyysi-, pesu- ja huuhtelureagensseja.

- YK:n GHS-järjestelmän varoitusmerkki: 
- Huomiosana: VAARA
- **YK:n GHS-järjestelmän vaaralausekkeet**
 - Haitallista nieltynä H302
 - Helposti syttyvä neste ja höyry H225
 - Ärsyttää ihoa H315
 - Ärsyttää voimakkaasti silmiä H319
 - Saattaa aiheuttaa uneliaisuutta ja huimausta H336
 - Epäillään aiheuttavan perimävaurioita H341
- **YK:n GHS-järjestelmän turvalausekkeet**
 - **Ennaltaehkäisy**
 - Käyttöä edeltävät erityisohjeet ovat käyttöturvallisuustiedotteessa.
 - Lue varoitukset huolellisesti ennen käsittelyä.
 - Käytä henkilönsuojaimia: suojakäsineitä, silmiensuojainta, kasvonsuojainta ja suojavaatetusta.
 - Käytä vain tiloissa, joissa on hyvä ilmanvaihto.
 - Suojaa lämmöltä, kipinöiltä, avotulelta ja/tai kuumilta pinnoilta.
 - Vältä sumun, höyryn tai suihkeen hengittämistä.
 - Pese kädet huolellisesti käsittelyn jälkeen.
 - **Pelastustoimenpiteet**
 - TULIPALON sattuessa: Käytä palon sammuttamiseen asianmukaista ainetta.
 - Jos kemikaalia on HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja pidä tätä lepoasennossa, jossa on helppo hengittää.
 - Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin, jos ilmenee pahoinvointia.
 - Jos kemikaalia LÄIKKYY: Riisu kontaminoitunut vaatetus välittömästi. Jos kemikaalia joutuu iholle tai hiuksiin: huuhto/suihkuta vedellä.
 - Jos ilmenee IHOÄRSYTYSTÄ: Hakeudu lääkäriin.
 - Jos kemikaalia joutuu SILMIIN: Poista piilolinssit, jos niitä käytetään. Huuhtelee silmiä huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Jos silmä-ärsytys jatkuu: Hakeudu lääkäriin.
 - Erityishoito: käyttöturvallisuustiedotteessa on lisätietoa ensihoitotoimenpiteistä.
 - Altistumisen tapahduttua tai jos epäillään altistumista: Hakeudu lääkäriin.
 - **Varastointi/hävittäminen**
 - Säilytettävä jääkaapissa.
 - Säilytä tiiviisti suljettuna.
 - Hävitä sisältö ja/tai säiliö paikallisten, alueellisten, kansallisten ja/tai kansainvälisten säännösten mukaan.

10 Näytteen ottaminen, kuljettaminen ja varastointi

- Testiin tarvitaan EDTA-vakuumputkiin otettuja kokoverinäytteitä. Näytteitä voidaan säilyttää enintään 72 tuntia 2–8 °C:ssa ennen käyttöä. Plasmaa ei saa erottaa soluista.
- Näytteen asianmukainen ottaminen, säilyttäminen ja kuljettaminen ovat erittäin tärkeitä testin toiminnan kannalta.

11 Toimenpide

11.1 Ennen käyttöä

Ota verinäyte, näytteen valmistelureagenssit ja kasetit jääkaappisäilytyksestä kaksikymmentä (20) minuuttia ennen toimenpiteen aloittamista ja anna niiden tasaantua huoneenlämpöön. Sentrifugoi proteinaasi K:ta (PK) hetken ajan mikrosentrifugissa.

Tärkeää Ota kasetti pahvipakkauksesta ennen näytteen valmisteleminen. (Ks. Osa 11.2, Näytteen valmisteleminen.)

Tärkeää Aloita testi GeneXpert Dx -instrumentilla 1 tunnin sisällä siitä, kun valmisteltu näyte on lisätty kasettiin.

11.2 Näytteen valmisteleminen

11.2.1 Näytteen valmisteleminen, jos valkosolumäärä on tuntematon, tai näytteessä on alle 30 miljoonaa valkosolua/ml

1. Lisää 100 µl PK:ta (proteinaasi K) uuteen 50 ml:n kartioputkeen.
2. Varmista, että verinäyte on hyvin sekoitettu kääntämällä verinäyteputkea 8 kertaa ylösalaisin välittömästi ennen pipetointia. Kunkin EDTA-verinäyteputken valmistaja toimittaa kyseisen putken ohjeet.
3. Lisää 4 ml verinäytettä putkeen, jossa on jo proteinaasi K:ta.
4. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 3 sekuntia.
5. Inkuboi huoneenlämmössä 1 minuutin ajan.
6. Lisää samaan putkeen 2,5 ml lyysireagenssia (LY).

Huomautus Ota jäljelle jäänyt lyysireagenssi talteen, jotta sitä voidaan käyttää uudelleen vaiheessa 13.

7. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia.
8. Inkuboi huoneenlämmössä 5 minuuttia.
9. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia.
10. Inkuboi huoneenlämmössä 5 minuuttia.
11. Sekoita näyte napauttamalla putken pohjaa 10 kertaa.
12. Siirrä uuteen 50 ml:n kartioputkeen 1 ml valmistettua lysaattia.

Huomautus Jäljelle jäänyttä lysaattia voidaan käyttää uudelleentestaukseen. Säilytä jäljelle jäänyttä lysaattia 2–8 °C:ssa korkeintaan 4 tuntia tai –20 °C:ssa tai alhaisemmassa lämpötilassa enintään 24 viikkoa.

13. Lisää lysaattia sisältävään uuteen kartioputkeen 1,5 ml aiemmassa vaiheessa 6 talteen otettua lyysireagenssia (LY).
14. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia.
15. Inkuboi huoneenlämmössä 10 minuuttia.
16. Lisää samaan kartioputkeen 2 ml reagenssilaatuista absoluuttista etanolia (käyttäjän hankkima).
17. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia. Laita sivuun.
18. Hävitä kaikki jäljelle jäänyt PK- tai LY-reagenssi.

11.2.2 Yli 30 miljoonaa valkosolua/ml sisältävän näytteen valmisteleminen

1. Lisää 100 µl PK:ta (proteinaasi K) uuteen 50 ml:n kartioputkeen.
2. Varmista, että verinäyte on hyvin sekoitettu kääntämällä verinäyteputkea 8 kertaa ylösalaisin välittömästi ennen pipetointia. Kunkin EDTA-verinäyteputken valmistaja toimittaa kyseisen putken ohjeet.
3. Lisää 50 µl verinäytettä putkeen, jossa on jo proteinaasi K:ta.
4. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 3 sekuntia.
5. Inkuboi huoneenlämmössä 1 minuutin ajan.
6. Lisää samaan putkeen 2,5 ml lyysireagenssia (LY).

7. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia.
8. Inkuboi huoneenlämmössä 5 minuuttia.
9. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia.
10. Inkuboi huoneenlämmössä 5 minuuttia.
11. Lisää samaan kartioputkeen 2 ml reagenssilaatuista absoluuttista etanolia (käyttäjän hankkima).
12. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia. Laita sivuun.
13. Hävitä kaikki jäljelle jäänyt PK- tai LY-reagenssi.

11.3 Kasetin valmisteleminen

Näytteen lisääminen Xpert BCR-ABL Ultra p190 -kasettiin:

1. Ota kasetti pahvipakkauksesta.
2. Tarkasta kasetti vaurion varalta. Vaurioitunutta kasettia ei saa käyttää.
3. Nosta kasetin kansi ja siirrä pesureagenssiampullin (1) koko sisältö pesureagenssisäiliöön (pieni aukko). Ks. Kuva 1.
4. Pipetoi valmisteltu näyte kokonaisuudessaan näytesäiliöön (suuri aukko). Ks. Kuva 1.



Kuva 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 -kasetti (kuva ylhäältä)

5. Sulje kasetin kansi. Varmista, että kansi napsahtaa kunnolla paikalleen. Aloita testi (ks. Osa 11.4, Testin aloittaminen).

11.4 Testin aloittaminen

Tässä osassa kuvataan testiajojen perusvaiheet. Katso tarkemmat ohjeet *GeneXpert Dx System Operator Manual* -oppaasta.

Tärkeää Varmista ennen testin aloittamista, että instrumentissa käytetään GeneXpert Dx -ohjelmistoversiota 6.2 tai sitä uudempaa versiota ja että ohjelmistoon on tuotu oikea analyysin määrittelytiedosto.

Huomautus Noudattamasi vaiheet voivat olla erilaisia, jos järjestelmänvalvoja on muuttanut järjestelmän oletustyönkulkua.

1. Käynnistä GeneXpert-instrumentti:
GeneXpert Dx -instrumenttia käytettäessä ensin kytketään päälle GeneXpert Dx -instrumentti ja sen jälkeen tietokone. GeneXpert -ohjelmisto käynnistyy automaattisesti. Jos näin ei käy, kaksoisnapsauta GeneXpert Dx -ohjelmiston pikakuvaketta Windows®-työpöydällä.
2. Kirjautu sisään GeneXpert-instrumenttijärjestelmän ohjelmistoon käyttäjänimellä ja salasanalla.
3. Valitse **GeneXpert System** (GeneXpert-järjestelmä) -ikkunasta **Create Test** (Luo testi) (GeneXpert Dx). Näyttöön avautuu **Create Test** (Luo testi) -ikkuna. **Scan Patient ID barcode** (Skannaa potilastunnisteen viivakoodi) -valintaikkuna avautuu.
4. Skannaa tai kirjoita Patient ID (Potilastunniste). Varmista Patient ID (Potilastunniste) -kohdan oikeinkirjoitus. Patient ID (Potilastunniste) liitetään testituloksiin. Se näytetään **View Results** (Näytä tulokset) -ikkunassa ja kaikissa raporteissa. **Scan Sample ID barcode** (Skannaa näytetunnisteen viivakoodi) -valintaikkuna avautuu.
5. Skannaa tai kirjoita Sample ID (Näytetunniste). Varmista Sample ID (Näytetunniste) -kohdan oikeinkirjoitus. Sample ID (Näytetunniste) liitetään testituloksiin. Se näytetään **View Results** (Näytä tulokset) -ikkunassa ja kaikissa raporteissa. **Scan Cartridge Barcode** (Skannaa kasetin viivakoodi) -valintaikkuna avautuu.
6. Skannaa kasetissa oleva viivakoodi. Ohjelmisto käyttää viivakoodin tietoja ja täyttää automaattisesti seuraavien kenttien tiedot: Select Assay (Valitse määrittäminen), Reagent Lot ID (Reagenssierän tunnistus), Cartridge SN (Kasetin sarjanro) ja Expiration Date (Viimeinen käyttöpäivä).

Huomautus

Jos kasetin viivakoodia ei voida skannata, toista testi uudella kasetilla. Jos olet skannannut kasetin viivakoodin ohjelmistoon eikä analyysin määrittelytiedosto ole saatavilla, avautuva näyttö osoittaa, että analyysin määrittelytiedostoa ei ole ladattu järjestelmään. Jos tällainen näyttö ilmestyy, ota yhteys Cepheidin tekniseen tukeen.

7. Valitse **Start Test** (Aloita testi). Kirjoita tarvittaessa salasana esiin tulevaan valintaikkunaan.
8. Avaa vihreällä vilkkuvalla valolla varustettu instrumenttimoduulin luukku ja lataa kasetti.
9. Sulje luukku. Testi käynnistyy ja vihreä valo lakkaa vilkkumasta. Kun testi on valmis, valo sammuu.
10. Odota, kunnes järjestelmä avaa luukun lukon ennen moduulin luukun avaamista. Poista sitten kasetti.
11. Hävitä käytetyt kasetit viemällä ne asianmukaiseen jättesäiliöön laitoksen yleisten käytäntöjen mukaisesti.

12 Tulosten näyttäminen ja tulostaminen

Tässä osassa luetellaan kaikki tulosten näyttämisen ja tulostamisen perusvaiheet. Yksityiskohtaiset tulosten näyttämisen- ja tulostamisohjeet, ks. *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Näytä tulokset valitsemalla kuvake **View Results** (Näytä tulokset).
2. Kun testi on tehty, näytä tulokset ja/tai laadi PDF-raporttitiedosto valitsemalla **Report** (Raportti) -painike **View Results** (Näytä tulokset) -ikkunasta.

13 Laadunvalvonta

Jokainen testi sisältää endogeenisen kontrollin (ABL) ja koettimen tarkistuskontrollin (PCC).

Endogeeninen ABL-kontrolli — Endogeeninen ABL-kontrolli varmistaa, että testissä käytetään riittävä määrä näytettä. Lisäksi tämä kontrolli havaitsee reaaliaikaisen PCR-testin näytteeseen liittyvän inhibition. ABL-kontrolli läpäistään, jos se täyttää määritetyt hyväksymiskriteerit.

Koettimen tarkistuskontrolli (PCC) — Ennen PCR-reaktion aloittamista GeneXpert-järjestelmä mittaa fluoresenssisignaalin koettimista ja monitoroi helmen nesteytystä, reaktioputken täyttymistä ja tarkistaa, ovatko kaikki kasetin reaktiokomponentit toiminnallisia. Koettimen tarkistuskontrolli (PCC) läpäistään, jos se täyttää määritetyt hyväksymiskriteerit.

14 Tulosten tulkitseminen

Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin kvantitatiiviset tulokset esitetään BCR-ABL1 p190- ja ABL1-transkriptin välisenä prosenttisuhteena. Taulukko 1 antaa esimerkkejä mahdollisista tuloksista ja niiden tulkinnoista.

Taulukko 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190, mahdolliset tulokset ja tulkinta

Koettimen tarkistus*	ABL Ct*	e1a2 Ct*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testitulos	Huomautukset
PASS (LÄPÄISTY)	PASS (LÄPÄISTY)	POS	BCR-ABL p190 DETECTED [##.## %] (BCR-ABL p190 HAVAITU [##.## %])	Laskettu %-suhde raportoidaan. Ks. Kuva 2.
			BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%] (BCR-ABL p190 HAVAITU [toteamisrajan alapuolella; < 0,0065 %])	Laskettu %-suhde toteamisrajan alapuolella eikä sitä raportoida. Ks. Kuva 3.

Koettimen tarkistus*	ABL Ct*	e1a2 Ct*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testitulos	Huomautukset	
			BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ] (BCR-ABL p190 HAVAITTU [ylemmän määrittysrajan yläpuolella])	Laskettu %-suhde on määrittysrajan yläpuolella, eikä sitä raportoida. Ks. Kuva 4.	
		NEG	BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (BCR-ABL p190:tä EI HAVAITTU [ABL-transkripti riittävä])	e1a2 Ct on nolla tai hyväksymisrajan yläpuolella. Ks. Kuva 5.	
		INVALID (VIRHEELLINEN)	INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript] (VIRHEELLINEN [BCR-ABL p190 -transkripti liian korkea])	e1a2 Ct on hyväksymisrajan alapuolella.	
	FAIL (EI LÄPÄISTY)	POS, NEG tai INVALID (VIRHEELLINEN)	INVALID [No ABL transcript] (VIRHEELLINEN [ei ABL-transkriptiä])	ABL Ct -arvo on nolla. ABL-arvoa ei havaittu. Ks. Kuva 6.	
			INVALID [Insufficient ABL transcript] (VIRHEELLINEN [ABL-transkripti riittämätön])	ABL Ct on hyväksymisrajan yläpuolella. Ks. Kuva 7.	
			INVALID [Too high ABL transcript] (VIRHEELLINEN [ABL-transkripti liian korkea])	ABL Ct on hyväksymisrajan alapuolella.	
		INVALID (VIRHEELLINEN)	INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts] (VIRHEELLINEN [BCR-ABL p190- ja ABL-transkriptit liian korkeat])	Sekä e1a2- että ABL Ct -arvot ovat hyväksymisrajojen alapuolella. Ks. Kuva 8.	
	FAIL (EI LÄPÄISTY)	PASS (LÄPÄISTY) tai FAIL (EI LÄPÄISTY)	POS, NEG tai INVALID (VIRHEELLINEN)	ERROR (VIRHE)	Koetintarkistus ei täyttänyt hyväksymiskriteerejä. Ks. Kuva 9.
	* Yksityiskohtaiset tiedot ovat GeneXpert Dx -järjestelmän ohjelmiston Analyte Results (Analyttitulokset) -välilehdellä				

GeneXpert-järjestelmät laskevat tulokset automaattisesti testin tuottamien *syklin kynnysarvojen* (Ct) ja valmistusprosessin aikana määritettyjen eräkohtaisten parametrien perusteella. Ohjelmisto soveltaa seuraavaa algoritmia, jossa ΔCt-arvon (Delta Ct) tulos on ABL Ct miinus BCR-ABL p190 Ct, ja tehokkuus (E) ja skaalauskerroin (SF) ovat eräkohtaisia arvoja:

Prosenttisuhde = Tehokkuus(ΔCt) x skaalauskerroin x 100

Huomautus

Huomautus

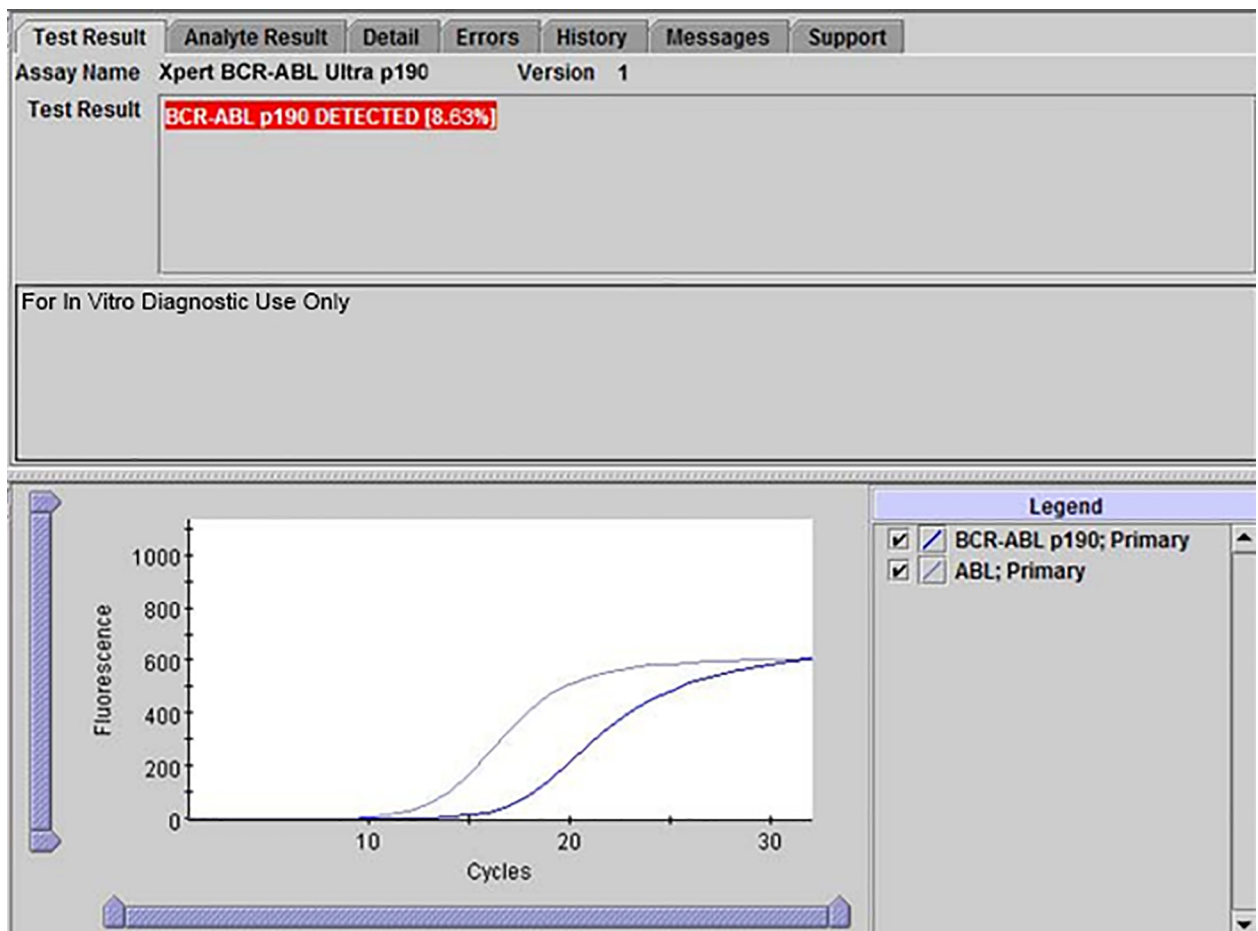
Tehokkuuden ja skaalauskerroimen arvoilla kalibroidaan BCR-ABL1 p190 (e1a2)- ja ABL1-transkriptien kvantitointi primaaristandardien kopioiden lukumäärän perusteella. Ne koostuvat synteettisen BCR-ABL p190- ja ABL1 RNA:n *in vitro* transkriptoidusta RNA:sta (IVT-RNA). Tehokkuuden ja skaalauskerroimen arvot on integroitu jokaisen kasetin viivakoodiin. Eräkohtaiset tiedot ovat saatavana Cepheidin teknisestä tuesta.

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

Jos tulos on ”BCR-ABL p190 DETECTED [#.##]” (BCR-ABL p190 HAVAITTU [#.##] %), BCR-ABL p190 on havaittavissa ja BCR-ABL p190 Ct on vähintään 8 ja enintään raja-arvon 32 suuruinen, ja ABL Ct on vähintään 8 ja enintään 18.

Esimerkki: ABL Ct = 11,4; BCR-ABL p190 Ct = 15,6; $\Delta Ct = -4,2$
 Eräkohtainen $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $\%$ -suhde = $2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63 \%$

Tulos: BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%] (BCR-ABL p190 HAVAITTU [8,63 %]). Ks. Kuva 2.



Kuva 2. GeneXpert Dx Tulosten näyttöikkuna: BCR-ABL p190 DETECTED [8.63 %] (BCR-ABL p190 HAVAITTU [8,63 %])

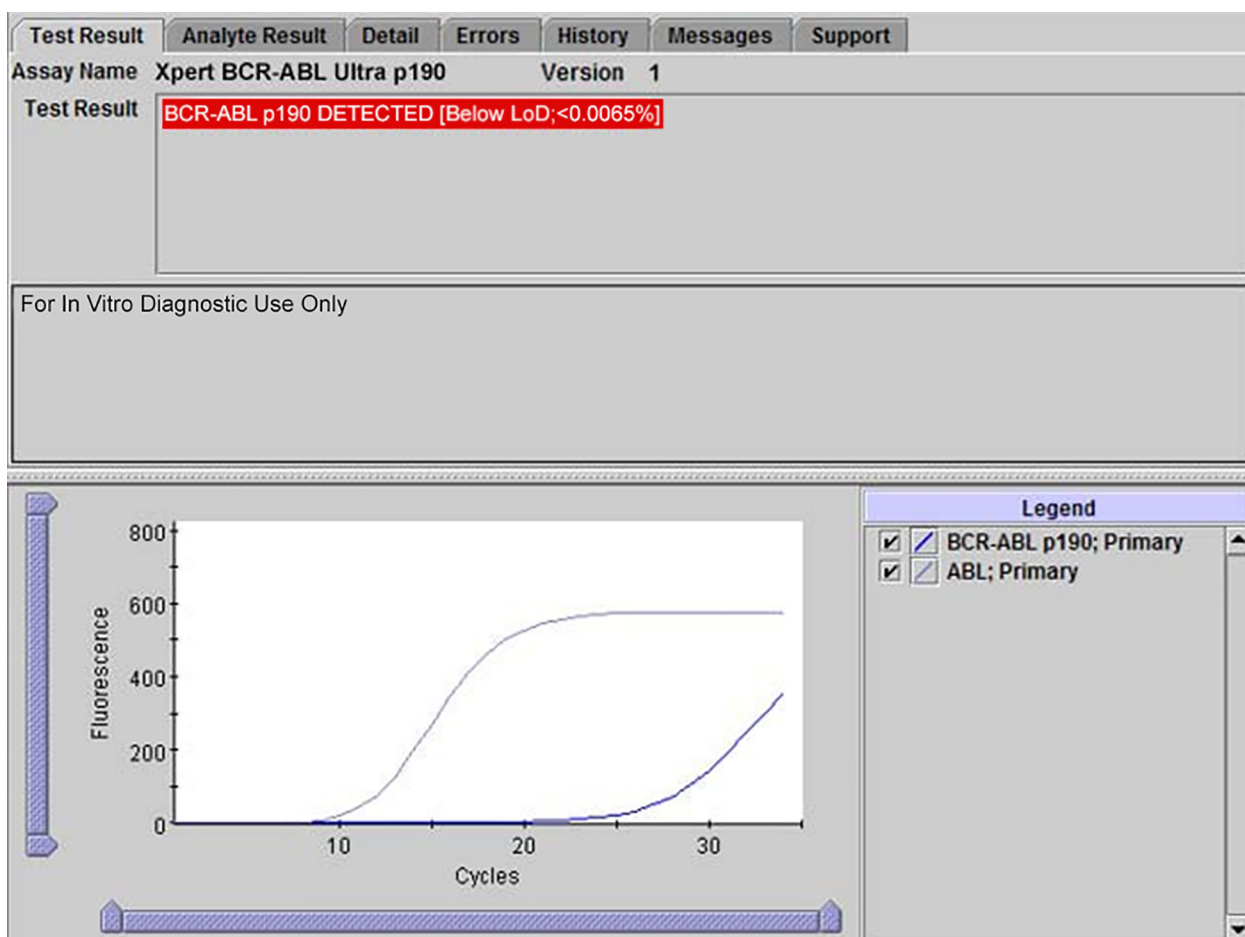
14.2 BCR-ABL p190 HAVAITTU [havaitsemisrajan alapuolella; <0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

BCR-ABL p190 on havaittu <0,0065 %:n tasolla.

Jos tulos on **BCR-ABL p190 HAVAITTU [havaitsemisrajan alapuolella; <0,0065 %]** (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%]), BCR-ABL p190 on havaittavissa ja BCR-ABL p190 Ct on vähintään 8 ja enintään raja-arvo 32, ja ABL Ct on vähintään 8 ja enintään 18.

Esimerkki: ABL Ct = 10,1; BCR-ABL p190 Ct = 24,8; $\Delta Ct = -14,8$
 Eräspesifinen $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $\%$ -suhde = $2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044 \%$ on pienempi kuin testin määritetty havaitsemisraja 0,0065 %

Tulos: **BCR-ABL p190 HAVAITTU [havaitsemisrajan alapuolella; <0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%]).** Ks. Kuva 3.



Kuva 3. GeneXpert Dx Tulosten näyttöikkuna: BCR-ABL p190 HAVAITTU [havaitsemisrajan alapuolella; <0,0065 %] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

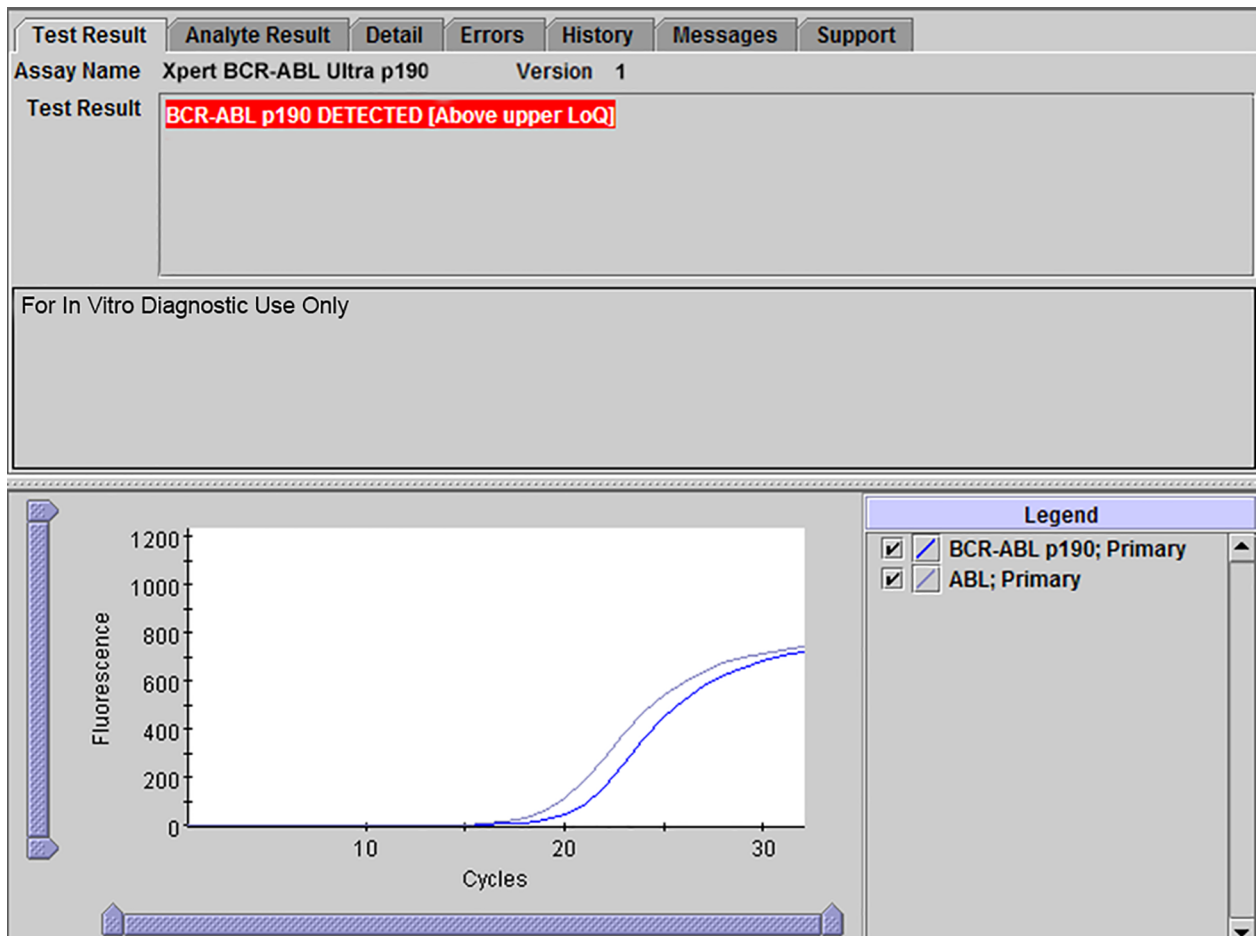
14.3 BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ] (BCR-ABL p190 HAVAITU [ylemmän määrittäsrajan yläpuolella])

BCR-ABL p190 on havaittu > 25 %:n tasolla.

Jos tulos on **BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ]** (BCR-ABL p190 HAVAITU [ylemmän määrittäsrajan yläpuolella]), BCR-ABL p190 on havaittavissa ja BCR-ABL p190 Ct on vähintään 8 ja enintään raja-arvon 32 suuruinen, ja ABL Ct on vähintään 8 ja enintään 18.

Esimerkki: ABL Ct = 17,2; BCR-ABL p190 Ct = 18,7; $\Delta Ct = -1,6$
 Eräkohtainen $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $\%$ -suhde = $2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6 \%$ on suurempi kuin testille määritetty ylempi määrittäsraja 25 %

Tulos: **BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ]** (BCR-ABL p190 HAVAITU [ylemmän määrittäsrajan yläpuolella]). Ks. Kuva 4.



Kuva 4. GeneXpert Dx Tulosten näyttöikkuna: BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ] (BCR-ABL p190 HAVAITU [ylemmän määrittäsrajan yläpuolella])

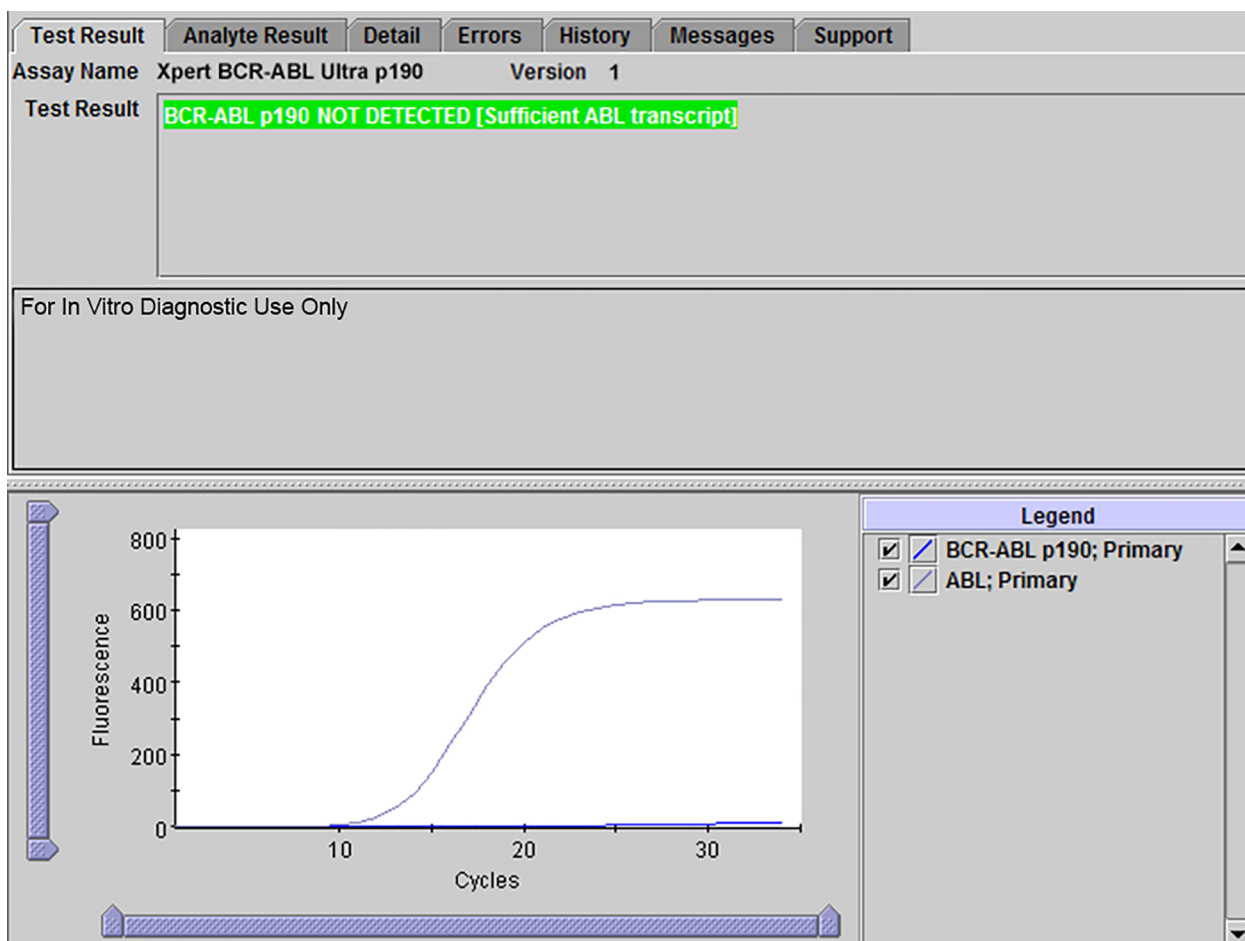
14.4 BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (BCR-ABL p190:tä EI HAVAITTU [ABL-transkripti riittävä])

BCR-ABL p190:tä ei havaittu ja BCR-ABL p190 Ct on yhtä suuri kuin 0 tai raja-arvoa 32 suurempi ja ABL Ct on suurempi kuin 8 ja enintään 18.

Kun BCR-ABL p190 ei ole havaittavissa ja BCR-ABL p190 Ct on yhtä suuri kuin 0 tai raja-arvoa 32 suurempi, GeneXpert -ohjelmisto etsii aluksi ABL Ct -arvon vahvistaakseen, että ABL Ct on vähintään 8 ja enintään 18. Näin voidaan varmistaa, että ABL-transkripti on riittävä (Sufficient ABL transcript). Ks. Taulukko 2.

Esimerkki: BCR-ABL p190 Ct = 0; ABL Ct = 11,6 on alle 18.

Tulos: **BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]** (BCR-ABL p190:tä EI HAVAITTU [ABL-transkripti riittävä]). Ks. Kuva 5.



Kuva 5. GeneXpert Dx Tulosten näyttöikkuna: BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (BCR-ABL p190:tä EI HAVAITTU [ABL-transkripti riittävä])

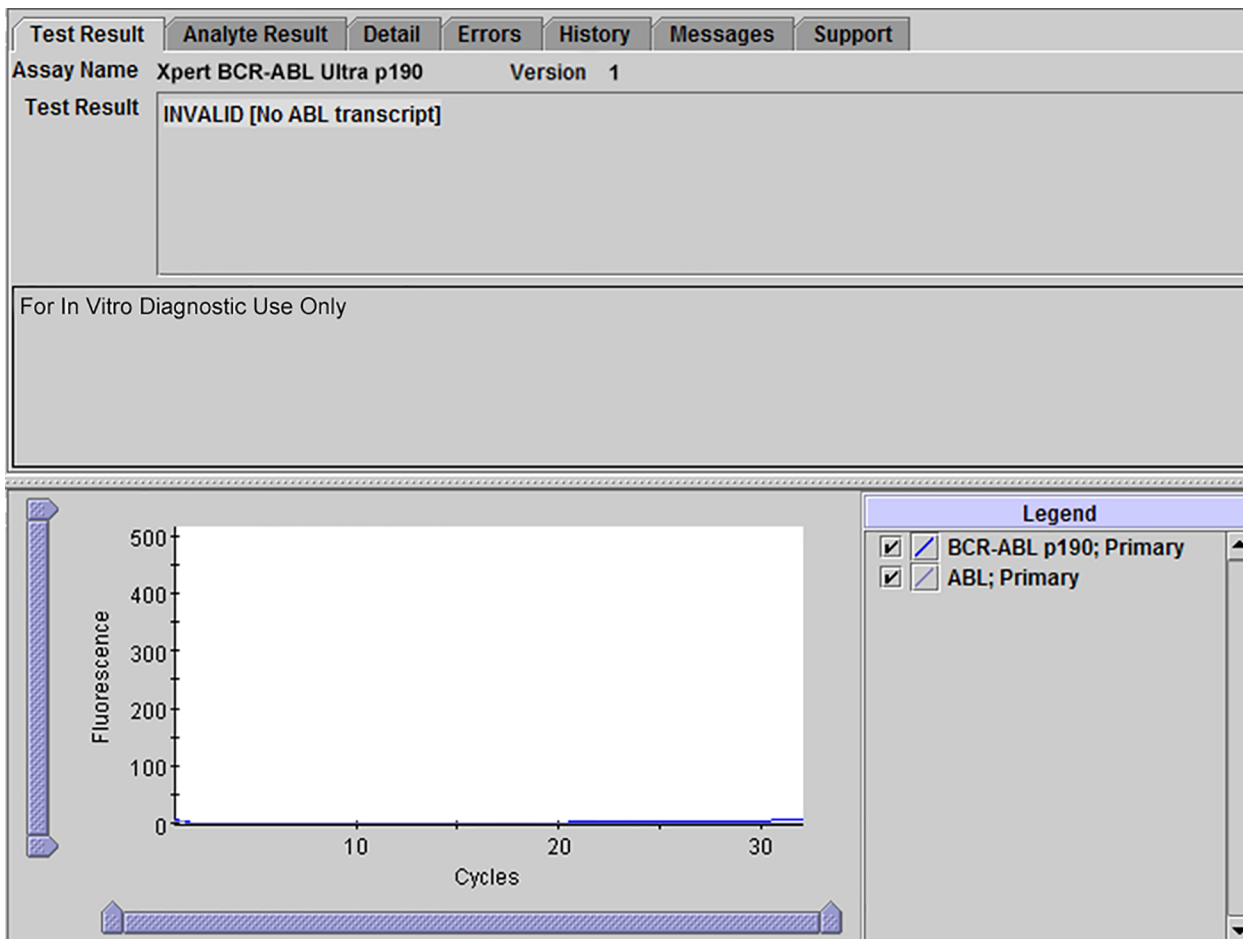
14.5 MITÄTÖN [ei ABL-transkriptia] (INVALID [No ABL transcript])

BCR-ABL p190:tä ei havaittu ja ABL Ct yhtäsuuri kuin 0.

Kun BCR-ABL p190 joko havaitaan tai ei havaita, GeneXpert -ohjelmisto etsii aluksi ABL Ct:n ja vahvistaa onko ABL Ct enintään 18 ja varmistaa näin ollen että ABL-transkripti oli riittävä (Sufficient ABL transcript). Ks. Osa 16, Vianmääritysopas.

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

Tulos: MITÄTÖN [ei ABL-transkriptia] (INVALID [No ABL transcript]). Ks. Kuva 6.



**Kuva 6. GeneXpert Dx Tulosten näyttöikkuna: MITÄTÖN
[ei ABL-transkriptia] (INVALID [No ABL transcript])**

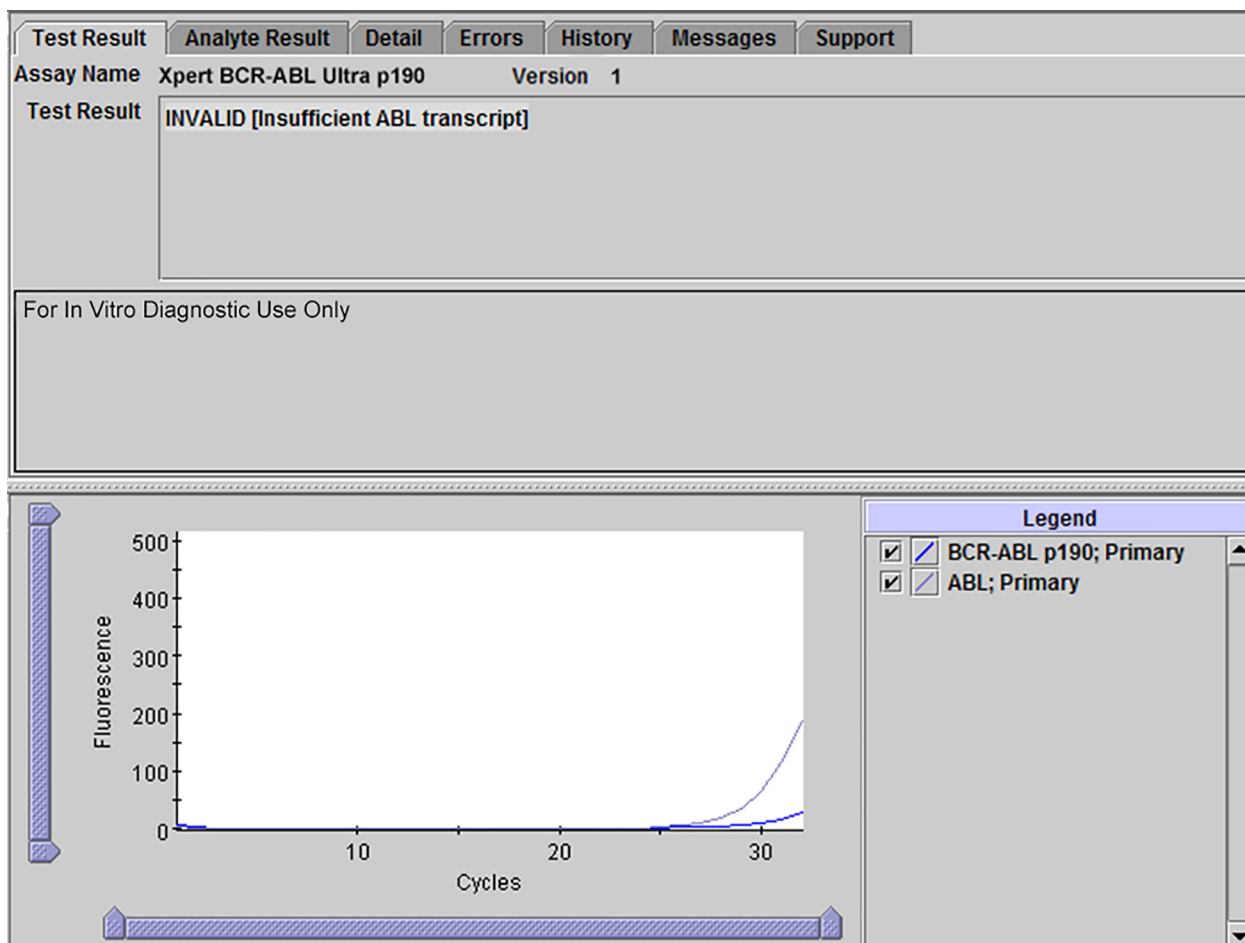
14.6 INVALID [Insufficient ABL transcript] (VIRHEELLINEN [ABL-transkripti riittämätön])

BCR-ABL p190:tä ei havaittu ja ABL Ct on yli 18.

Kun BCR-ABL p190 joko havaitaan tai ei havaita, GeneXpert -ohjelmisto etsii aluksi ABL Ct -arvon vahvistaakseen, onko ABL Ct enintään 18. Näin voidaan varmistaa, että ABL-transkripti on riittävä (Sufficient ABL transcript). Ks. Osa 16, Vianmääritysopas.

Esimerkki: BCR-ABL p190 Ct = 31,2; ABL Ct = 28 on yli 18.

Tulos: **INVALID [Insufficient ABL transcript]** (VIRHEELLINEN [ABL-transkripti riittämätön]). Ks. Kuva 7.



Kuva 7. GeneXpert Dx Tulosten näyttöikkuna: INVALID [Insufficient ABL transcript] (VIRHEELLINEN [ABL-transkripti riittämätön])

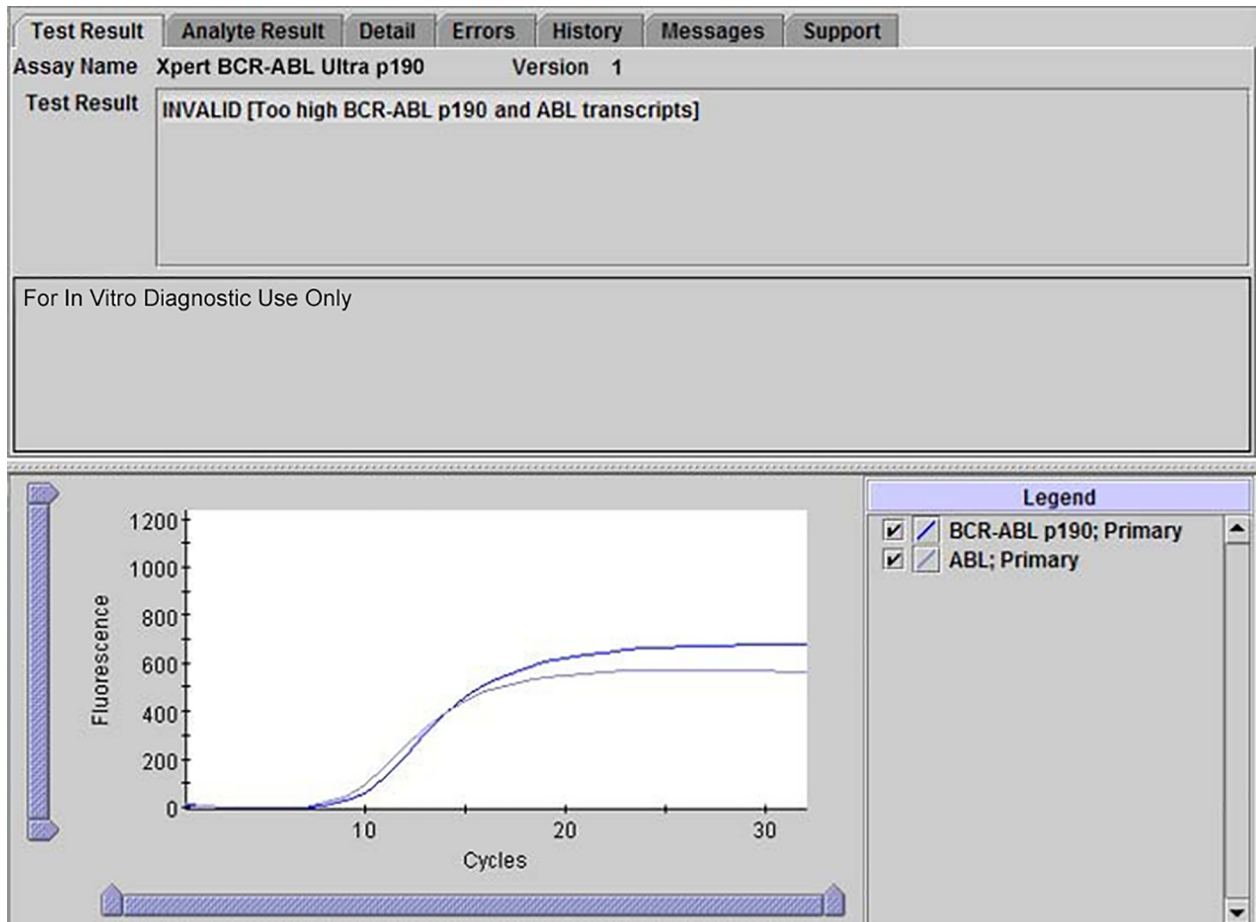
14.7 MITÄTÖN [BCR-ABL p190- ja ABL-transkriptit liian korkeat] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

BCR-ABL p190 havaittiin ja sekä BCR-ABL p190- että ABL Ct-arvot alle 8.

Kun BCR-ABL p190 joko havaitaan tai ei havaita, GeneXpert -ohjelmisto etsii aluksi ABL Ct:n ja vahvistaa onko ABL Ct enintään 18 ja varmistaa näin ollen että ABL-transkripti oli riittävä (Sufficient ABL transcript). Ks. Osa 16, Vianmääritysopas.

Esimerkki: BCR-ABL p190 Ct = 7,9; ABL Ct = 7,6 on alle 8.

Tulos: **MITÄTÖN [BCR-ABL p190- ja ABL-transkriptit liian korkeat] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts]).** Ks. Kuva 8.



Kuva 8. GeneXpert Dx Tulosten näyttöikkuna: MITÄTÖN [BCR-ABL p190- ja ABL-transkriptit liian korkeat] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

14.8 ERROR (VIRHE)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Messages	Support
Assay Name	Xpert BCR-ABL Ultra p190		Version 1			
Test Result	ERROR					
For In Vitro Diagnostic Use Only						
<No Data Available>						

Kuva 9. GeneXpert Dx Tulosten näyttöikkuna: ERROR (VIRHE)

15 Rajoitukset

- Tuote on tarkoitettu vain diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.
- Testiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi ulkoisten kalibraattoreiden kanssa.
- Testiä ei ole tarkoitettu päätöksentekoon TKI-hoidon lopettamisesta eikä hoidon lopettamisen jälkeiseen tarkkailuun.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin suorituskky arvioitiin vain näissä käyttöohjeissa annetuilla menetelmillä. Näihin menetelmiin tehdyt muutokset voivat muuttaa testin suorituskkyä.
- Tämä tuote on validoitu EDTA-putkiin otetuilla verinäytteillä.
- Hyttymisenestoaineena ei saa käyttää hepariinia, sillä se voi estää PCR-reaktion.
- Natriumsitraatti-, leukosyyttikerros- ja luuydinnäytetyyppejä ei ole validoitu.
- Ohjeiden vastainen näytteenotto, käsittely tai säilytys tai näytesekaannus voivat aiheuttaa virheellisiä testituloksia. Käyttöohjeita on noudatettava erittäin tarkasti virheellisten tulosten välttämiseksi.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testi on tarkoitettu vain p190 BCR-ABL -fuusiotranskriptin e1a2 havaitsemiseen. Kykyä havaita muita kuin näissä käyttöohjeissa kuvattuja fuusiotranskriptejä ei ole arvioitu. Testi ei havaitse huomattavia katkoskohtia (M-bcr) tai mikrokatoskohtia, mikroleektioita eikä mutaatioita.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testiä ei ole tarkoitettu havaitsemaan translokaatioita e13a2/b2a2 ja e14a2/b3a2 (p210) ja e19a2 (p230), eikä muita vähäisiä translokaatioita, joita voi esiintyä leukemiatilaiden perifeerisissä verinäytteissä.
- Joidenkin erittäin korkeita valkosoluarvoja (yli 30 miljoonaa solua/ml) sisältävien näytteiden osalta Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testi voi antaa tulokseksi **INVALID** (VIRHEELLINEN) (tyyppi 2) näytteessä olevan liiallisen BCR-ABL p190- tai ABL-tason johdosta. Lisätietoa, ks. Taulukko 2.
- Joidenkin erittäin alhaisia ABL-transkriptitasoja tai alle 150 000 valkosolua/ml sisältävien näytteiden tulokseksi voidaan antaa **INVALID** (VIRHEELLINEN) (tyyppi 1). Määrittämätön tulos ei sulje pois erittäin alhaisten leukemiasolutasojen esiintymistä potilaassa.
- CML p230 -transkripti, jonka mikrokatoskohta on e19a2, voi saada aikaan testin toteamisrajan (0,0065 %) alittavan positiivisen BCR-ABL-tuloksen, kun testataan korkeilla kohdetasoilla (> 3,52 logaritmiyksikköä toteamisrajan yläpuolella).

- Alukkeen tai koettimen sitoutuvilla alueilla olevat mutaatiot tai polymorfismit voivat vaikuttaa uusien tai tuntemattomien varianttien havaitsemiseen, mikä saattaa aiheuttaa virheellisen negatiivisen tuloksen.
- Joidenkin potilaiden, joiden BCR-ABL1-transkriptitasot ovat erittäin alhaiset (eli alle toteamisrajan 0,0065 %), tulokseksi voidaan antaa **BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]** (BCR-ABL p190:tä EI HAVAITTU [ABL-transkripti riittävä]). Havaitsematta jäänyt tulos ei tästä syystä sulje pois alhaisten leukemiasolutasojen esiintymistä potilaassa.
- Testi on validoitu käyttöön GeneXpert Dx System -järjestelmän kanssa (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

16 Vianetsintäopas

Taulukko 2. Vianetsintäopas

Testitulos	Mahdollisia syitä	Ehdotuksia
MITÄTÖN (INVALID)	Tyyppi 1: Endogeenisen ABL-kontrollin häiriö: • Huono näytteen laatu • RT-PCR:n estyminen • Jos ABL:n Ct >18 ja/tai päätepiste <200	• Tarkista näytteen laatu (esim. näytteen varastointiedellytykset ylitetty, mukaan lukien aika ja lämpötila). • Uusi testi alkuperäisellä näytteellä (jos saatavissa) tai talteen otetulla lysaatilla ja uudella kasetilla, toimenpideohjeet ks. Osa 17.1, Uusintatestitoimenpide testituloksen VIRHE (ERROR) tai MITÄTÖN (INVALID) (tyyppi 1) kyseessä ollen.
	Tyyppi 2: BCR-ABL-transkriptitasoa ei voida määrittää, koska näytteessä on liikaa BCR-ABL p190- ja/tai ABL-transkriptejä (Ct <8).	Uusi testi alkuperäisellä näytteellä (jos saatavissa) tai talteen otetulla lysaatilla ja uudella kasetilla, toimenpideohjeet ks. Osa 17.2, Uusintatestitoimenpide testituloksen VIRHE (ERROR) (koodi 2008) tai MITÄTÖN (INVALID) (tyyppi 2) kyseessä ollen.
VIRHE (ERROR) (koodi 2008)	Paine ylittää raja-arvon (virheviesti 2008)	• Tarkista näytteen laatu • Tarkista rajusti koholla oleva WBC-tulos • Uusi testi alkuperäisellä näytteellä (jos saatavissa) tai talteen otetulla lysaatilla ja uudella kasetilla, toimenpideohjeet ks. Osa 17.2, Uusintatestitoimenpide testituloksen VIRHE (ERROR) (koodi 2008) tai MITÄTÖN (INVALID) (tyyppi 2) kyseessä ollen.
VIRHE (ERROR) (koodi 5006, 5007, 5008 ja 5009 ^a)	Koettimen tarkistushäiriö	Uusi testi alkuperäisellä näytteellä (jos saatavissa) tai talteen otetulla lysaatilla ja uudella kasetilla, toimenpideohjeet ks. Osa 17.1, Uusintatestitoimenpide testituloksen VIRHE (ERROR) tai MITÄTÖN (INVALID) (tyyppi 1) kyseessä ollen.
EI TULOSTA (NO RESULT)	Tiedonkeruuhäiriö Esimerkiksi käyttäjä pysäytti meneillään olevan testin tai sähkökatkos esiintyi.	Uusi testi alkuperäisellä näytteellä (jos saatavissa) tai talteen otetulla lysaatilla ja uudella kasetilla, toimenpideohjeet ks. Osa 17.1, Uusintatestitoimenpide testituloksen VIRHE (ERROR) tai MITÄTÖN (INVALID) (tyyppi 1) kyseessä ollen.

^a Tämä ei ole kattava VIRHE (ERROR) -koodien luettelo.

17 Testien uusinnat

17.1 Uusintatestitoimenpide testituloksen VIRHE (ERROR) tai MITÄTÖN (INVALID) (tyyppi 1) kyseessä ollen

Sellaisten näytteiden testi on uusittava, joiden tulos on **VIRHE (ERROR)** tai **MITÄTÖN (INVALID)** validin Ct-raja-arvon (Ct >18) ylittävän ABL-kynnysarvon tai kynnysasetuksen alittavan päätepisteen (<200) johdosta. Lue myös Taulukko 2.

1. Mittaa verinäytteen määrä:

- Jos verinäytettä on saatavana *riittävästi*, uusi testi alkuperäisellä verinäyteputkella, toimenpide ks. Osa 11.2.1.
- TAI -
- Jos verinäytettä *ei ole riittävästi*, uusi testi käyttämällä Osa 11.2.1 vaiheessa 12 talteen otettua lysaattia.
 - a. Jos Osa 11.2.1 vaiheessa 12 talteen otettu lysaatti säilytettiin pakastettuna, anna sen sulaa huoneenlämmössä.
 - b. Varmista, että lysaatti on sekoittunut hyvin, sekoittamalla näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia, ja anna kuplien asettua asettamalla se sivuun 3 minuutiksi. Siirry vaiheeseen 2.

2. Siirrä uuteen 50 ml:n kartioputkeen 1 ml talteen otettua lysaattia.

3. Lisää lysaatin sisältävään uuteen kartioputkeen 1,5 ml lyysireagenssia (LY).

4. Nouda kohdan Osa 11.2.1 vaiheita 14–17 lopullisen lysaatin valmistamiseksi.

5. Avaa kasetti kantta nostamalla ja siirrä pesureagenssiampullin (1) koko sisältö pesureagenssisäiliöön (pieni aukko). Ks. Kuva 1.

6. Pipetoi valmisteltu näyte kokonaisuudessaan näytesäiliöön (suuri aukko). Ks. Kuva 1.

7. Sulje kasetin kansi. Aloita testi (ks. Osa 11.4).

17.2 Uusintatestitoimenpide testituloksen VIRHE (ERROR) (koodi 2008) tai MITÄTÖN (INVALID) (tyyppi 2) kyseessä ollen

Testaa näytteet uudelleen, jos BCR-ABL- ja/tai ABL-transkriptitasot ovat validin Ct-vähimmäisraja-arvon (Ct <8) alapuolella ja/tai kun paineraja ylitetään. Lue myös Taulukko 2.

1. Lisää 100 µl PK:ta (proteinaasi K) uuteen 50 ml:n kartioputkeen.

2. Mittaa verinäytteen määrä:

- Jos verinäytettä on saatavana *riittävästi*, uusi testi alkuperäisellä verinäyteputkella. Varmista, että verinäyte on hyvin sekoitettu kääntämällä verinäyteputkea 8 kertaa ylösalaisin välittömästi ennen pipetointia. Siirry vaiheeseen 3.
- TAI -
- Jos verinäytettä *ei ole riittävästi*, testi voidaan uusiksi käyttämällä Osa 11.2.1 vaiheessa 12 talteen otettua lysaattia.
 - a. Jos Osa 11.2.1 vaiheessa 12 talteen otettu lysaatti säilytettiin pakastettuna, anna sen sulaa huoneenlämmössä ennen käyttöä. Jos jääkaapissa säilytettyä lysaattia käytetään, anna sen tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä.
 - b. Varmista, että lysaatti on sekoittunut hyvin, sekoittamalla näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 10 sekuntia, ja anna kuplien asettua asettamalla se sivuun 3 minuutiksi. Siirry vaiheeseen 3.

3. Lisää jo proteinaasia K sisältävään putkeen 50 µl alkuperäistä verinäytettä, jos saatavana, tai 80 µl (Osa 11.2.1) vaiheessa 12 talteen otettua lysaattia.

4. Sekoita näytettä koeputkiravistelijalla maksimiasetuksella yhtäjaksoisesti 3 sekuntia.

5. Inkuboi huoneenlämmössä 1 minuutin ajan.

6. Nouda vaiheita 6–13 Osa 11.2.2 lopullisen lysaatin valmistelussa.

7. Avaa kasetti kantta nostamalla ja siirrä pesureagenssiampullin (1) koko sisältö pesureagenssisäiliöön (pieni aukko). Ks. Kuva 1.

8. Pipetoi valmisteltu näyte kokonaisuudessaan näytesäiliöön (suuri aukko). Ks. Kuva 1.

9. Sulje kasetin kansi. Aloita testi (ks. Osa 11.4).

18 Odotusarvot

Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin vaihteluväli kattaa tärkeät kliiniset KML- ja ALL-leukemian monitorointipäätöksiin vaikuttavat tekijät. Odotusarvot ilmaistaan BCR-ABL p190 -lähetti-RNA:n (e1a2) ja ABL-lähetti-RNA:n välisenä prosenttisuhteena ja vaihteluväli on 0,0065–25 %. Tämän vaihteluvälin alittavat mittaukset raportoidaan havaitsemattomina tai havaitsemisrajan (LoD) alittavina arvoina. Tämän vaihteluvälin ylittävät mittaukset raportoidaan kvantitointirajan (LoQ) ylittävinä arvoina. Yksityiskohtaiset tiedot, ks. Osa 14.

19 Kliininen suorituskyky

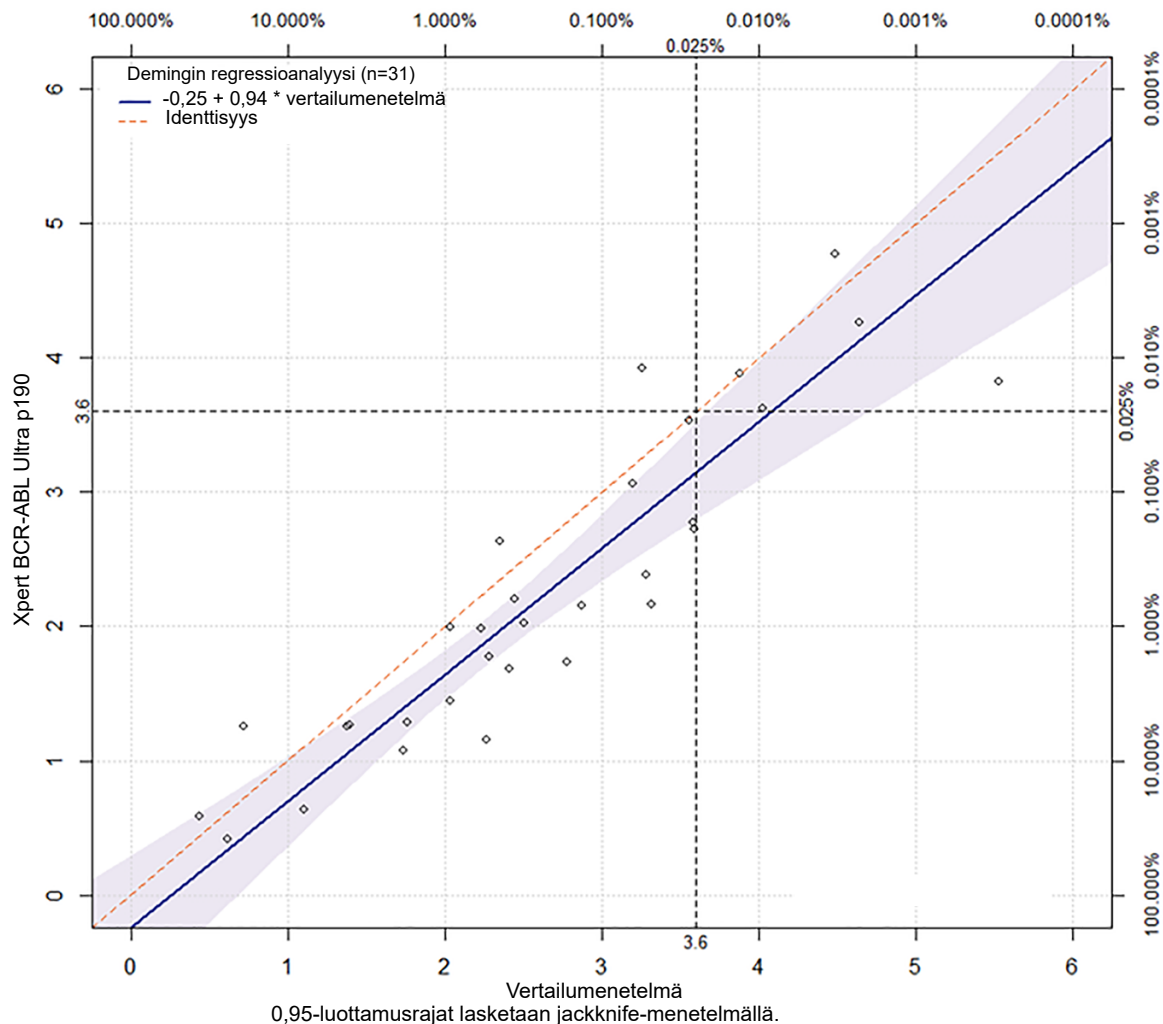
Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin kliininen suorituskyky arvioitiin kolmessa laitoksessa Yhdysvalloissa osana kliinistä monikeskustutkimusta. Tutkimuksessa käytettiin perifeerisiä EDTA-verinäytteitä (PB), jotka otettiin prospektiivisesti akuuttia lymfoblastileukemiaa (ALL) ja kroonista myelooista leukemiaa (KML) sairastavilta potilailta hoitoseurannan aikana. Tämän lisäksi tutkimuksessa tutkittiin jäännösnäytteitä, joita oli säilytetty pakastettuina kliinisinä lysaatteina ja jotka valmisteltiin saman potilasväestön perifeerisistä EDTA-verinäytteistä. Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin suorituskykyä verrattiin molekyyli testiin, joka havaitsee ja kvantifioi mRNA-transkriptit p190:n osalta [t(9;22)(q34;q11)] positiivisiksi CML- ja ALL-potilaiksi ilmaisemalla BCR-ABL1-fuusiotranskriptin tyyppin e1a2 ja joka käyttää ABL-transkriptia endogeenisenä mRNA-kontrollitranskriptina.

Yhteensä 47 näytettä otettiin mukaan tähän tutkimukseen. Näistä 47 näytteestä 9 näytteessä RNA oli < 100 ng/ml, ja ne suljettiin pois analyysistä. Yhteensä 9 näytettä suljettiin pois, joten lopulliseen tietojoukkoon sisällytettiin 38 näytettä. On tärkeää ottaa huomioon, että kaikki pois suljetut 9 näytettä tuottivat validit Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testitulokset.

Tähän tutkimukseen otettujen 38 näytteen osalta potilailta kerättiin ikä- ja sukupuolietiedot. Näytteet saatiin 25 mieheltä (65,8 %) ja 13 naiselta (34,2 %). Kaikki näytteet olivat potilailta, joiden ikä oli 20–88 vuotta keskimääräisen iän ollessa 54,5 vuotta. Kaksikymmentäkolme (61 %) näytettä otettiin potilailta, joilla oli diagnosoitu ALL-leukemia, ja 15 (39 %) näytettä otettiin potilailta, joilla oli diagnosoitu KML-leukemia.

Yhteensä 38 kelpoisesta näytteestä seitsemän (7) näytettä suljettiin pois Demingin regressioanalyysistä, sillä niiden tulos oli negatiivinen vähintään yhden testin osalta. Demingin regressioanalyysiin sisällytettiin kolmekymmentäyksi näytettä, joiden molemmat testit olivat kvantitatiivisten vaihteluvälien sisällä.

Demingin regressioanalyysin prosenttisuhteen (PR) tulokset osoittivat hyvää korrelaatiota Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin ja vertailumenetelmän mittausten välillä mitä prosenttisuhteen mittaukseen tulee. Leikkauspiste oli 0,01 ja kulmakerroin 1,08; molemmat täyttivät hyväksymiskriteerit. Pearsonin r oli 0,814. Log-reduktio (LR) tehtiin prosenttisuhteen tietojakauman normalisoimiseksi. Demingin regressioanalyysi tehtiin käyttämällä LR-mittauksia, ja seuraava Kuva 10 esittää tulokset.



Kuva 10. Demingin regressio - LR

Kuva 10 osoittaa huomattavaa korrelaatiota Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin ja vertailumenetelmän testim välillä Log-reduktio-mittausten suhteen. Demingin regressioanalyysin kulmakerroin on 0,94 ja leikkauspiste -0,25. Demingin regressioanalyysin tulokset log-reduktio-arvojen osalta täyttivät myös hyväksymiskriteerit leikkauspisteen ja kulmakertoimen suhteen. Yleinen korrelaatio (Pearson) $r=0,904$ oli korkea.

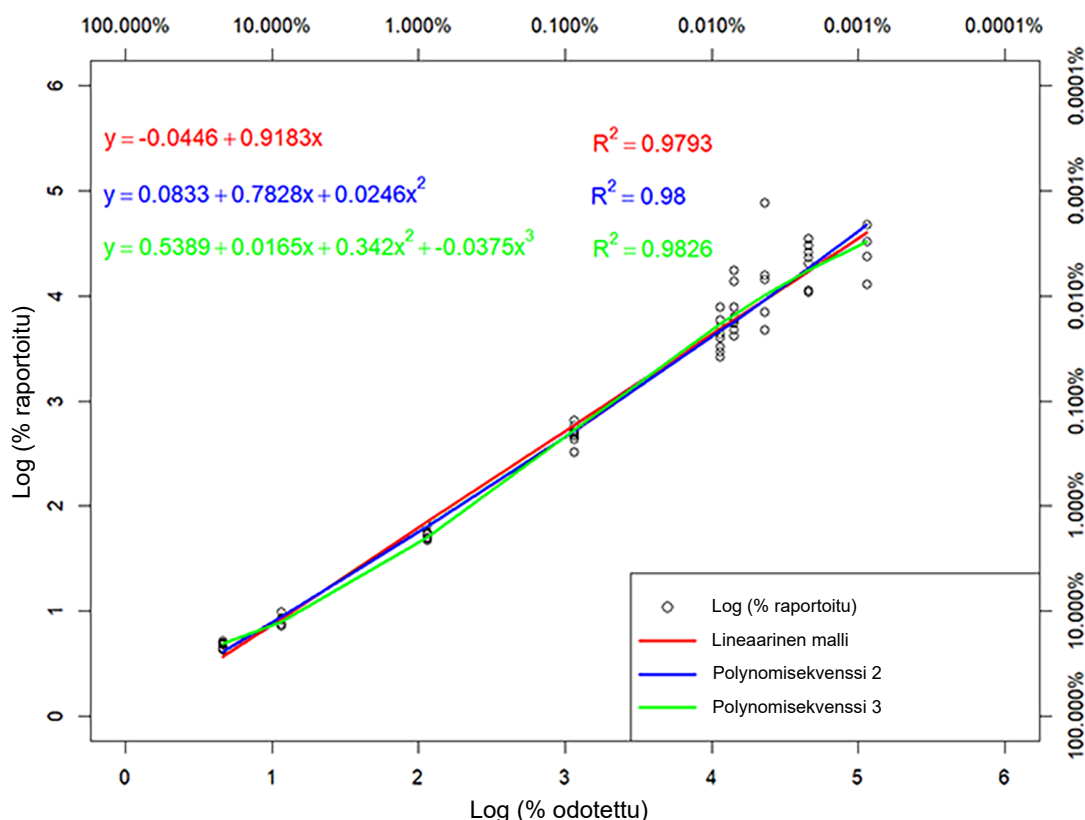
Positiivinen ennakoitu harha 0,01 prosentuaalisessa raportoinnissa (LR: -0,39) sekä jakauma osoittavat, että useimmat näytteet mittaavat korkeampaa p190-transkriptin pitoisuutta Xpert-testillä vertailutestimenetelmään verrattuna. Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testi osoitti huomattavaa korrelaatiota vertailumenetelmän kanssa (0,904) ja harha oli alhaista log-reduktio-mittauksia käyttämällä. Tässä tutkimuksessa havaittu määrittämättömien prosentti oli 0 % ja myös määrittämättömien hyväksymiskriteeri ≤ 5 % täytettiin. Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testi osoitti hyväksyttävää yhdenmukaisuutta vertailumenetelmän kanssa, kuten Demingin regressioanalyysin kulmakerroin ja leikkauspiste osoittavat.

20 Analyttinen suorituskyky

20.1 Lineaarisuus/dynaaminen vaihteluväli

Lineaarisuus arvioitiin vähäisen katkoskohdan (m-bcr) e1a2 osalta käyttämällä kokonais-RNA:ta ALL SUP-B15 -solulinjasta. BCR-ABL p190 -transkriptin kokonais-RNA laimennettiin taustalysoatilla, joka valmistettiin ALL-negatiivisesta kliinisestä näytteestä noin kohdevaihteluväleille 25–0,001 % (LR [logaritminen vähennys] 0,60 – LR5). Paneelinäytteet negatiivinen taso mukaan lukien testattiin kahdella testipakkauserällä 4 rinnakkaisnäytteenä pakkauserää kohti.

Testaus ja tilastolliset analyysit tehtiin CLSI-ohjeistuksen asiakirjan EP06-A mukaan. Lineaariset regressioanalyysit tehtiin ensimmäisen, toisen ja kolmannen asteen polynomien osalta. e1a2-katkoskohdan tulos katsottiin lineaariseksi, jos polynomiregressiokertoimet olivat merkityksettämiä (p-arvot > 0,05). Seuraava Kuva 11 esittää lineaarisen regressiokäyrän.



Kuva 11. e1a2-katkoskohdan transkriptin lineaariset regressiokäyrät

Taulukko 3 esittää arvioitua lineaarisen mallin regression leikkauskohdat, kulmakertoimet ja R²-arvot.

Taulukko 3. Lineaarisen mallin regressiokertoimet

Katkoskohta	Leikkauskohta	Kulmakerroin	R²
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Yhdessä tiedot tukevat lineaarisuushavaintoa likimäärin välillä 25 %/LR 0,60 ja 0,001 %/LR 5 keskihajonnan ollessa enintään 0,26. Raportoitava vaihteluväli ulottuu lineaarisuusrajasta 25 %/LR0,6 määrittäysrajaan 0,0065 %/LR4,19.

20.2 Analytyttinen herkkyys (havaitsemisraja, kvantitointiraja, nollanäyteraja)

e1a2-transkriptin katkoskohdan havaitsemisraja (LoD) arvioitiin testaamalla positiivisten kliinisten ALL-näytteiden sarjalaimennuksia [$>10\%$]. Laimennusten tiedot yhdistettiin ja havaitsemisraja arvioitiin probittiregressioanalyysillä. Analyysin tuloksena e1a2-transkriptin katkoskohdan havaitsemisrajaksi arvioitiin 0,0070 %.

Havaitsemisraja vahvistettiin soveltamalla CLSI-ohjeistuksen asiakirjassa EP17-A2 kuvattua ei-parametrin menetelmää (Taulukko 4). Kolme ainutlaatuista ALL-positiivista, e1a2-transkriptin katkoskohtaa edustavaa näytettä laimennettiin 0,0065 %:n kohdetasolle. Kaksisataaviisitoista rinnakkaisnäytettä testattiin 4 käyttäjän toimesta 3 testipakkauserällä 3 päivän aikana.

Taulukko 4. Vahvistettu havaitsemisraja (%)

Katkoskohta	Positiiviset/ rinnakkaisnäytteet	Positiivisten %	Keskimääräinen %-suhde
e1a2	206/215	96,0 %	0,0065 %

Xpert BCR-ABL Ultra p190 e1a2-transkriptin havaitsemisraja on 0,0065 %.

Kvantitointiraja (LoQ) arvioitiin havaitsemisraja-analyyseista ja lineaarisuustutkimuksista saaduilla tiedoilla. BCR-ABL p190/ABL-suhteen arvioiden keskimääräinen ja keskihajontaprosentti laskettiin rinnakkaisnäytteiden osalta tasoilla, jotka vastasivat vähintään havaitsemisrajaa ja joiden positiivisuus oli vähintään 95 %. Kvantitointiraja raportoidaan alhaisimpana luotettavasti kvantitoituna BCR-ABL p190/ABL-suhteen prosenttina, joka täyttää tarkkuustavoitteen havaitsemalla e1a2-transkriptin vähintään 95 prosentin varmuudella ja jonka log-reduktion keskihajonta on $\leq 0,36$ log-yksikköä. Testin kvantitointirajaa rajoittaa testin havaitsemisraja; tästä syystä kvantitointirajan määritettiin olevan sama kuin havaitsemisraja eli 0,0065 %. Tulokset arvioitiin myös keskihajonnan hyväksymiskriteerejä vastaan ($\leq 0,36$ log-yksikköä), ja ne olivat hyväksytyjen kriteerien sisällä.

Nollanäyterajan (LoB) osalta tehtiin tutkimus, jossa arvioitiin suurin BCR-ABL p190/ABL-suhteen prosentti, joka todennäköisesti havaitaan $\geq 95\%$:ssa p190-negatiivisia EDTA-kokoverinäytteitä. Testin nollanäyteraja määritettiin 387 validista tietopisteestä sensuroimattomassa ei-parametrisessä analyysissä, kuten CLSI-ohjeistuksen asiakirjassa EP17-A2 kuvataan, ja nollanäyterajaksi arvioitiin 0,00032 % BCR-ABL p190/ABL.

20.3 Analytyttinen spesifisyys

Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin analytyttinen spesifisyys arvioitiin testaamalla kahdeltakymmeneltä (20) terveeltä luovuttajalta (ei KLM- tai ALL-leukemiaa) saadut EDTA-kokoverinäytteet. Jokainen näyte testattiin neljänä kappaleena.

BCR-ABL p190 -signaali havaittiin yhdessä näytteessä 80 rinnakkaisnäytteestä, mikä osoitti, että Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin analytyttinen spesifisyys BCR-ABL p190 -transkriptin osalta on 98,8 %.

20.4 Näytteiden välinen kontaminaatio

Tutkimuksessa osoitettiin, että näytekohtaiset, itsessään kaiken sisältävät, peräkkäin samassa moduulissa ajatut GeneXpert-kasetit estävät näytteiden välisen kontaminaation. Tässä tutkimuksessa negatiiviset näytteet ajettiin samassa GeneXpert-moduulissa erittäin korkeiden positiivisten näytteiden jälkeen. Tutkimuksessa käsiteltiin **NEGATIIVINEN (NEGATIVE)** normaali EDTA-näyte (ALL-negatiivinen veri) samassa GeneXpert-moduulissa välittömästi erittäin **POSITIIVISEN (POSITIVE)** näytteen jälkeen (simuloitu ALL-positiivinen veri), jossa SUP-B15-soluja lisättiin ALL-negatiiviseen vereen, jotta pitoisuusprosentiksi saatiin $\geq 10\%$. Testiasetelma toistettiin 10 kertaa kunkin näytteen osalta alkaen ja lopettaen negatiivisella näytteellä, kahdella GeneXpert-moduulilla. Tuloksena saatiin 21 negatiivista ja 20 positiivista näytettä moduulia kohti. Kaikkien kahdenkymmenen BCR-ABL p190 -positiivisen näytteen tulos oli oikea **BCR- ABL p190 HAVAITTU [### %] (BCR-ABL p190 DETECTED [###%])**, kun taas kaikkien kahdenkymmenen BCR-ABL p190 -negatiivisen näytteen tulos oli oikea **BCR- ABL p190:tä EI HAVAITTU [ABL-transkripti riittävä] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

20.5 Mahdollisesti häiriöitä aiheuttavat aineet

Tutkimuksessa arvioitiin viisi mahdollisesti EDTA-kokoverinäytteissä esiintyvää ainetta, jotka voivat haitata Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin suorituskykyä. Testatut yhdisteet ja tasot (ks. Taulukko 5) perustuivat CLSI-ohjeistuksen asiakirjaan EP07-A2. Häiriöitä aiheuttavia aineita testattiin ALL EDTA -kokoverinäytteillä, lisättynä ALL SUP-B15 -soluilla, jotka edustivat kolmea tasoa ja viittä näytettä tasoa kohti: $> 1\%$, 0,1–0,02 % ja negatiivinen. Testikontrollit sisälsivät SUP-B15-

soluja EDTA-kokoverinäytteessä vastaavalla BCR-ABL p190 -transkriptitasolla ilman häiriöitä aiheuttavaa ainetta. Kukin ALL-näyte testattiin viiden erillisen häiriöitä aiheuttavan aineen esiintymisen ja puuttumisen osalta 4 rinnakkaisnäytteenä testiolosuhdetta kohti.

Aineen katsottiin olevan häiriöitä aiheuttamaton, jos sen esiintyessä keskimääräinen todettu prosenttisuhde oli 3-kertaisen vaihteluvälin sisällä kontrolliin verrattuna.

Mitään kliinisesti merkittävää haittaavaa vaikutusta Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testiin ei havaittu minkään tässä tutkimuksessa arvioidun häiriöitä aiheuttavan aineen suhteen. Vaikka joissakin testiolosuhteissa havaittiin jonkin verran vaihtelevuutta ja tilastollisesti merkittäviä eroja (p -arvo $< 0,05$), testi- ja kontrolliolosuhteiden raportoidut prosenttisuhdet olivat hyväksytyn 3-kertaisen vaihteluvälin sisällä.

Taulukko 5. Xpert BCR-ABL Ultra p190-testillä testatut mahdollisesti häiriöitä aiheuttavat aineet

Häiriöitä aiheuttavat aineet	Testattu pitoisuus
Konjugoimaton bilirubiini	20 mg/dl
Kokonaiskolesteroli	500 mg/dl
Triglyseridit, yhteensä (lipidit)	3 000 mg/dl
Hepariini	3 500 U/l
EDTA (pieni näyte)	900 mg/dl

21 Toistettavuus ja tarkkuus

Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin toistettavuus ja tarkkuus arvioitiin monikeskustutkimuksessa CLSI-ohjeistuksen asiakirjan EP05-A3 (Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline) ja CLSI-ohjeistuksen asiakirjan EP15-A3 (User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline) mukaan.

Taulukko 6 näyttää tutkimukseen kuuluvan ja sitä varten valmistellun viiden näytteen paneelin.

Taulukko 6. Xpert BCR-ABL Ultra p190 -testin toistettavuuspaneeli

Näyttenro	Paneelin kuvaus	Havaittu BCR-ABL p190- / ABL -taso (prosenttisuhde)
1	LR1: e1a2	Noin 10 %
2	LR2: e1a2	Noin 1 %
3	LR3: e1a2	Noin 0,1 %
4	LR3.7: e1a2	Noin 0,02 %
5	Negatiivinen	Ei havaittu

Kaksi eri käyttäjää testasi kaikki viisi paneelinäytettä kahdesti kaksi kertaa päivässä kuutena eri päivänä kolmessa eri tutkimuskeskuksessa. Kolmea Xpert BCR-ABL Ultra p190 -pakkauserää käytettiin ja kukin käyttäjä käytti testauksessa yhtä erää (3 tutkimuskeskusta x 2 käyttäjää x 3 erää x 2 päivää (2 päivän testit kasettierää kohti) x 2 ajoa x 2 rinnakkaisnäytettä = 144 rinnakkaisnäytettä/paneelinäyte).

Taulukko 7. Keskihajonta ja variaatiokerroin (VK) ja prosenttisuhde (PR)

Paneelinäyte	N	Keskiarvo	Tutkimuskeskus		Käytt.		Erä		Päivä		Ajo		Testin sisäinen		Yhteensä	
			KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)
LR1: e1a2 (suhde noin 10 %)	144	14,04	0,20	1,44	0,00	0,00	3,14	22,35	0,55	3,94	0,00	0,00	1,63	11,60	3,58	25,53
LR2: e1a2 (suhde noin 1 %)	144	1,65	0,14	8,58	0,00	0,00	0,61	36,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32	19,35	0,70	42,45
LR3: e1a2 (suhde noin 0,1 %)	144	0,16	0,01	6,15	0,00	0,00	0,08	50,18	0,01	5,26	0,00	0,00	0,04	24,42	0,09	56,39
LR3.7: e1a2 (suhde noin 0,02 %)	143 ^a	0,03	0,00	6,60	0,00	0,00	0,02	62,48	0,00	11,43	0,00	0,00	0,01	43,56	0,02	77,30

^a Yhden näytteen tulos oli määrittämätön sekä testissä että uusintatestissä.

Kvantitatiiviset arvot ilmoittavan prosenttisuhteen kokonaisvariaatiokerroin (VK %) vaihteli positiivisten näytteiden osalta välillä 25,53–77,30. PR-raportointiarvojen varianssikomponentti ei ylittänyt 50 prosenttia testin kokonaisvariانسista seuraavien tekijöiden osalta: tutkimuskeskusten välinen, käyttäjien välinen, päivien välinen ja ajojen välinen. Keskimääräisen PR-kvantitatiivisen arvon varianssianalyysi antoi samanlaisia tuloksia.

Taulukko 8. Logaritmisen vähennyksen (LR) keskihajonta ja variaatiokerroin (VK)

Paneelinäyte	N	Keskiarvo	Tutkimuskeskus		Käytt.		Erä		Päivä		Ajo		Testin sisäinen		Yhteensä	
			KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)	KH	VK (%)
LR1: e1a2 (suhde noin 10 %)	144	0,86	0,01	1,47	0,00	0,00	0,10	11,17	0,02	2,53	0,00	0,00	0,05	5,87	0,11	26,17
LR 2: e1a2 (suhde noin 1 %)	144	1,81	0,03	1,93	0,00	0,00	0,15	8,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	3,64	0,17	40,75
LR 3: e1a2 (suhde noin 0,1 %)	144	2,84	0,03	1,06	0,00	0,00	0,22	7,60	0,01	0,51	0,00	0,00	0,09	3,34	0,24	59,16
LR 3.7: e1a2 (suhde noin 0,02 %)	143 ^a	3,66	0,04	1,19	0,00	0,00	0,27	7,26	0,04	1,12	0,03	0,86	0,19	5,06	0,33	88,68

^a Yhden näytteen tulos oli määrittämätön sekä testissä että uusintatestissä.

Kvantitatiiviset arvot ilmoittavan LR:n kokonaisvariaatiokerroin (VK %) vaihteli positiivisten näytteiden osalta välillä 26,17–88,68.

22 Viitteet

1. Faderl S. et al. Clinical Significance of Cytogenic Abnormalities in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*. 1998; 91 (11): 3995-4019.
2. Dushyant, V. et al. Chronic myeloid leukemia (CML) with p190 BCR-ABL: analysis and characteristics, outcomes and prognostic significance. *Blood*. 2009; 114: 2232-2235.
3. Moorman, A. V. et al. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115:206-214.
4. Burmeister T. et al. Patient's age and BCR-ABL frequency in adult B-precursor ALL: A retrospective analysis from the GMALL study group. *Blood*. 2008; 112:918-919.
5. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology Acute Lymphoblastic Leukemia v2.2019.
6. Leukemia - Acute Lymphocytic Leukemia (ALL). National Cancer Institute | Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/aly1.html>
7. Bondi, A., Chiesa, R. Citterio, C., Conter, V., Rizzari, C., Sala, A. Acute lymphoblastic leukemia. *Orphanet encyclopedia*. Elokuu 2007. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=513.
8. White H. E. et al. Establishment of the First World Health Organization international genetic reference panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood*. 2010; 116:e111-e117.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (katso viimeisin painos). <https://www.cdc.gov/labs/bmbi/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (viimeisin painos).
11. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.
13. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26. maaliskuuta 2012) (29 C.F.R., osa 1910, alaluku Z).

23 Cepheidin pääkonttorin sijainti

Konsernin pääkonttori

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Puhelin: + 1 408 541 4191
Faksi: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

24 Tekninen tuki

Seuraavien tietojen on oltava käsillä ennen yhteydenottoa Cepheidin tekniseen tukeen:

- tuotteen nimi
- eränumero
- Instrumentin sarjanumero
- virheviestit (jos niitä on)
- ohjelmistoversio ja soveltuissa tapauksissa tietokoneen huoltotunnisteen numero.

Yhdysvallat

Puhelin: + 1 888 838 3222

Sähköposti: techsupport@cepheid.com

Ranska

Puhelin: + 33 563 825 319

Sähköposti: support@cepheideurope.com

Kaikkien Cepheidin teknisen tuen toimipisteiden yhteystiedot ovat saatavilla verkkosivustoltamme osoitteesta www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

25 Symbolien taulukko

Symboli	Merkitys
	Tuotenumero
	CE-merkintä – Euroopan yhdenmukaisuus
	<i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinällinen laite
	Eräkoodi
	Ei saa käyttää uudelleen
	Viimeinen käyttöpäivä
	Varoitus
	Lue käyttöohjeet
	Valmistaja
	Valmistusmaa
	Sisältää riittävästi <i>n</i> testiin
	Kontrolli
	Lämpötilarajoitus
	Biologiset riskit
	Tulenarat nesteet
	Lisääntymis- ja elinmyrkyllisyys
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä
	Valtuutettu edustaja Sveitsissä
	Maahantuoja

Symboli	Merkitys
Country of Origin: Sweden	Alkuperämaa: Ruotsi
Country of Origin: USA	Alkuperämaa: Yhdysvallat



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Puhelin: + 1 408 541 4191

Faksi: + 1 408 541 4192



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



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



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



26 Versiohistoria

Muutosten kuvaus: 302-6673-FI-versiosta D versioon E

Osio	Muutosten kuvaus
Tavaramerkki, patentit ja tekijänoikeuslausekkeet	Tekijänoikeusvuosi päivitetty.
Toimitetut materiaalit	Selvennettiin tuotteessa käytetyn proteiinistabilisaattorin eläinperäinen alkuperä.

Osio	Muutosten kuvaus
Laadunvalvonta	Näytteen prosessointikontrollin kuvaus päivitetty.
Cepheidin pääkonttorin sijainti	Euroopan pääkonttorin osoite poistettu.
Symbolien taulukko	Symbolit päivitetty standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti, alkuperämaasymbolit lisätty Yhdysvalloille ja Ruotsille ja Euroopan yhteisön valtuutetun edustajan osoite päivitetty.