

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

REF GXBCRABLP190-CE-10

Istruzioni per l'uso



Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright

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®, il logo Cepheid, GeneXpert® e Xpert® sono marchi di fabbrica di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi.

Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO IN ACCORDO ALLE PRESENTI ISTRUZIONI PER L'USO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

© 2022–2026 Cepheid.

Per una descrizione delle modifiche apportate, vedere la Sezione 26, Cronologia delle revisioni.

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

Per uso diagnostico *in vitro*.

1 Nome registrato

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

2 Nome comune o usuale

Xpert BCR-ABL Ultra p190

3 Scopo previsto

3.1 Destinazione d'uso

Il test Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190 è un test diagnostico *in vitro* per l'utilizzo su Cepheid GeneXpert[®] Dx System 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 (CML) e leucemia linfoblastica acuta (LLA) Philadelphia positiva (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] esprimenti 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.

3.2 Utilizzatore/ambiente previsto

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

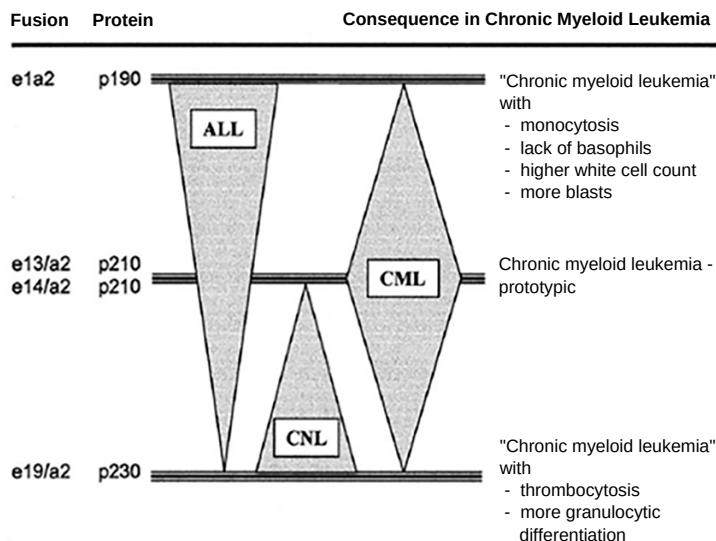
4 Riepilogo e spiegazione

Il **cromosoma Philadelphia (Ph)** è un cromosoma accorciato che deriva dalla traslocazione della parte 3 del gene ABL del cromosoma 9 sulla parte 5 del gene BCR del cromosoma 22. Il punto di rottura sul gene ABL si verifica in maniera piuttosto costante all'estremità 5 dell'esone a2, mentre il punto di rottura del gene BCR è variabile, ma si raggruppa soprattutto in 3 regioni diverse (regioni di raggruppamento dei punti di rottura o bcr). In base al punto di rottura sul cromosoma 22, segmenti di dimensioni diverse si uniscono alle sequenze della parte 3 del gene ABL. Esistono punti rottura principali (M-bcr), minori (m-bcr) e micro punti di rottura, ciascuno dei quali darà origine a trascritti di fusione dell'mRNA di dimensioni diverse.¹

Il cromosoma Ph si osserva in oltre il 95% dei pazienti con leucemia mieloide cronica (CML) e fino al 20-30% degli adulti con leucemia linfoblastica acuta (LLA) (ALL), nel 5% dei bambini con LLA (ALL) e nell'1-2% dei pazienti con leucemia mieloide acuta (LMA).¹

Nella CML, BCR-ABL p210 è presente in oltre il 95% dei pazienti e si trova inoltre anche nel 30% circa di pazienti con LLA (ALL) Philadelphia positiva (Ph+). Negli altri pazienti con LLA (ALL) Ph+ e in rari casi di CML (1-3%) è presente BCR-ABL p190. Nella CML, BCR-ABL p210 e p190 possono coesistere. Entrambe le proteine di fusione p210 e p190 mostrano una maggiore attività della tirosina fosfochinasi rispetto alla proteina p145 c-abl normale.^{1,2}

Nei pazienti con LLA (ALL) Ph+, la forma p190 viene rilevata in circa l'80% dei bambini con LLA Ph+ e nel 20-40% dei pazienti adulti con LLA (ALL) Ph+.¹ Inoltre, la frequenza del cromosoma Ph aumenta con l'età ed è presente al 10% nella fascia 15-30, al 25% nella fascia 40-49 e al 20-40% nei pazienti con LLA (ALL) che hanno superato i 50 anni.³⁻⁵



La leucemia linfoblastica acuta (LLA) (ALL) è una patologia maligna di natura ematologica in cui si verifica un accumulo di globuli bianchi (WBC) immaturi scarsamente differenziati; linfoblasti nel midollo osseo, nel sangue e in altri tessuti. ALL è classificata come tumore raro (malattia orfana numero ORPHA:513; GARD 522), con una prevalenza pari a 1,7/100.000. Negli Stati Uniti la LLA (ALL) è il tumore più comune tra i bambini dalla nascita fino ai 15 anni e rappresenta il 75% di tutti i casi di leucemia infantile.^{6, 7}

La presenza del cromosoma Ph nei pazienti con LLA (ALL) dopo la consolidazione è un predittore significativo di recidiva e si consiglia il monitoraggio. Tuttavia, al momento non sono state stabilite linee guida che definiscono la frequenza di monitoraggio dei pazienti con LLA (ALL) con le misurazioni del trascritto BCR-ABL p190 per l'identificazione del residuo minimo di malattia (MRD). La linee guida NCCN hanno definito gli intervalli per il monitoraggio di BCR-ABL p210 nei pazienti con CML, pertanto le misurazioni di BCR-ABL p190 per il monitoraggio della LLA (ALL) vengono effettuate a frequenze simili.⁵

La leucemia mieloide cronica (CML) è caratterizzata dalla presenza del cromosoma Ph; nel 95% dei casi è associata a BCR-ABL p210 e solo nell'1-3% dei casi è associata a BCR-ABL p190.^{2,3}

A differenza dello standard internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità per BCR-ABL (Standard internazionale dell'OMS) per il trascritto p210, attualmente non esiste alcun punto di riferimento internazionale da utilizzare per standardizzare il trascritto di fusione p190. Pertanto, gli attuali saggi molecolari per p190 rilevano in genere il trascritto di fusione e lo segnalano come una percentuale relativa all'espressione di un gene di controllo interno (ad es., ABL).

5 Principio della procedura

Xpert BCR-ABL Ultra p190 è un test automatizzato per la quantificazione del trascritto di BCR-ABL1 p190, espressa dal rapporto BCR-ABL p190/ABL1. Il test viene eseguito su Cepheid GeneXpert Dx System che automatizza e integra la purificazione dei campioni di analisi, l'amplificazione degli acidi nucleici e l'identificazione delle sequenze bersaglio in campioni semplici o complessi utilizzando i test di RT-PCR e di PCR annidata real-time. Il sistema comprende uno strumento, un computer e un software già installato per l'esecuzione dei test e la visualizzazione dei risultati. Il sistema richiede l'uso delle cartucce GeneXpert monouso che contengono i reagenti per RT-PCR e PCR annidata e in cui si svolgono i processi di RT-PCR e PCR annidata. Per una descrizione completa dei sistemi, consultare l'appropriato *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

La cartuccia Xpert BCR-ABL Ultra p190 comprende i reagenti per il rilevamento dei geni di fusione di BCR-ABL1 p190 che derivano da un punto di rottura minore, dalla traslocazione e1a2 e il trascritto di ABL1 come controllo endogeno nei campioni di analisi di sangue periferico. La quantità di trascritto di BCR-ABL1 p190 viene espressa come rapporto percentuale BCR-ABL1 p190/ABL1. Nel test Xpert BCR-ABL Ultra p190 ci sono due controlli, il controllo endogeno (ABL1) e il controllo per la verifica della sonda (PCC). Il controllo endogeno ABL1 normalizza il target BCR-ABL1 p190

e garantisce l'uso di una quantità sufficiente di campione di analisi nel test. Il PCC verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR e che tutti i componenti della reazione, comprese le sonde e i coloranti, siano presenti e funzionali nella cartuccia.

6 Reagenti e strumenti

6.1 Materiali in dotazione

Il kit per Xpert BCR-ABL Ultra p190 (GXBCRABLP190-CE-10) contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi del test o campioni di analisi di controllo qualità. Il contenuto del kit è il seguente:

Reagenti Xpert BCR-ABL Ultra

10 di ciascuno per kit

Proteinasi K (PK)	10 x 130 µl per flaconcino
Componente	Ingrediente del reagente
Proteinasi K	< 5%

Reagente di lisi (LY) (Cloruro di guanidinio)	10 x 5,3 ml per flaconcino
Componente	Ingrediente del reagente
Cloruro di guanidinio	25 - 50%
Urea	25 - 50%
Sodio dodecilsolfato	< 2%

Reagente di lavaggio	10 x 2,9 ml per fiala
Componente	Ingrediente del reagente
Etanolo	< 50%
Tiocianato di guanidinio	< 50%

Xpert BCR-ABL Ultra p190 Cartucce con provette di reazione integrate		10 per kit
Componente	Ingrediente del reagente	Quantità
Microsfera 1 (liofilizzata)	Enzima: Taq polimerasi DNA < 50 U/ microsfera	1 per cartuccia
	dNTP < 0,05%	
Microsfera 2 (liofilizzata)	Primer e sonde < 0,005%	1 per cartuccia
Microsfera 3 (liofilizzata)	Primer e sonde < 0,005%	1 per cartuccia
Microsfera 4 (liofilizzata)	Enzima: Taq polimerasi DNA < 50 U/ microsfera	1 per cartuccia
	dNTP < 0,05%	
Reagente di risciacquo	Cloruro di potassio < 4%	2 ml per cartuccia
	Azoturo di sodio < 0,1%	
	Polietilenglicole < 15%	
	Tween 20 < 0,2%	
Reagente di eluizione	Trizma base < 0,3%	2,5 ml per cartuccia

	Trizma cloridrato < 0,1%
	Azoturo di sodio < 0,05%

CD**1 per kit**

- File di definizione del saggio (ADF)
- Istruzione per l'importazione degli ADF nel software GeneXpert Dx
- Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)

Nota Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nei siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com nella scheda SUPPORTO (SUPPORT).

Nota Lo stabilizzatore proteico di origine bovina presente nelle microsfele di questo prodotto è stato realizzato e fabbricato esclusivamente con plasma bovino di origine statunitense. Gli animali non sono stati nutriti con proteine di ruminanti o altre proteine animali e hanno superato i test ante e post mortem. Durante la lavorazione, il materiale non è stato miscelato con altro materiale animale.

Nota Le Schede dati con i certificati di analisi e le specifiche dei lotti sono disponibili attraverso il Supporto Tecnico di Cepheid.

6.2 Materiali necessari ma non forniti

- GeneXpert Dx System (il numero di catalogo varia a seconda della configurazione): strumento GeneXpert, computer, lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.
- Per GeneXpert Dx System: software GeneXpert Dx versione 6.2 o successiva
- Stampante: se è necessaria una stampante, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid per organizzare l'acquisto di una stampante consigliata.
- Miscelatore vortex
- Microcentrifuga (1.000 x g minimo)
- Pipette e puntali per pipette con filtro per aerosol
- Provette coniche da 50 ml
- Etanolo assoluto di grado reagente

7 Conservazione e manipolazione

- Conservare il contenuto del kit Xpert BCR-ABL Ultra p190 a 2–8 °C fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo quando si è pronti per l'esecuzione del test.
- Non usare le cartucce oltre la data di scadenza.
- Il reagente di lavaggio è un liquido trasparente e incolore. Non usare il reagente di lavaggio se appare torbido o scolorito.
- Venti (20) minuti prima di iniziare la procedura, togliere il campione di analisi ematico, la cartuccia e i reagenti di preparazione del campione di analisi dal sito di conservazione per consentire loro di raggiungere la temperatura ambiente (20-30 °C).

8 Avvertenze e precauzioni

8.1 Avvertenze generali

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Tutti i campioni biologici di analisi, compresi le cartucce usate e i reagenti, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati nel rispetto delle precauzioni standard. Le linee guida relative alla manipolazione dei campioni di analisi sono disponibili negli USA presso i Centers for Disease Control and Prevention (CDC)⁹ e il Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁰

- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici di analisi, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria.
- Le caratteristiche prestazionali di questo test sono state stabilite solo con sangue raccolto in provette con EDTA. Le prestazioni di questo test con altri tipi di campioni di analisi non sono state valutate.
- L'affidabilità dei risultati dipende dall'uso di adeguate modalità di prelievo, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni di analisi. Un campione di analisi che sia stato prelevato, manipolato o conservato in modo improprio, un errore tecnico, lo scambio di campioni o la presenza di trascritto target nel campione di analisi inferiore al limite di rilevamento (LoD) del test possono produrre risultati erranei. Per evitare risultati erranei, è necessario attenersi scrupolosamente alle istruzioni riportate nel foglietto illustrativo e nel *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- L'esecuzione del test Xpert BCR-ABL Ultra p190 con intervalli della temperatura e tempi di conservazione del kit o dei campioni di analisi diversi da quelli consigliati può generare risultati erranei o non validi.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi nel rispetto delle precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali in uso presso la struttura sanitaria 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.¹¹

8.2 Campione di analisi

- Durante il trasporto dei campioni di analisi, mantenere le condizioni di conservazione corrette per garantire l'integrità dei campioni stessi (vedere Sezione 10). La stabilità dei campioni di analisi in condizioni di spedizione diverse da quelle consigliate non è stata valutata.
- Non congelare campioni di sangue intero.
- Un prelievo, una conservazione e un trasporto corretti del campione di analisi sono essenziali ai fini dell'affidabilità dei risultati.

8.3 Test/Reagente

- Non sostituire i reagenti del test Xpert BCR-ABL Ultra p190 con altri reagenti.
- Non aprire il coperchio della cartuccia Xpert BCR-ABL Ultra p190 tranne che per aggiungere il campione di analisi e il reagente di lavaggio.
- Non utilizzare una cartuccia che sia caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia cade o viene agitata dopo l'apertura del coperchio, si potrebbero ottenere risultati non validi. Non applicare l'etichetta con l'ID del campione sul coperchio o sull'etichetta del codice a barre della cartuccia.
- Non utilizzare una cartuccia che presenta l'etichetta del codice a barre danneggiata. Non utilizzare una cartuccia se la relativa provetta di reazione è danneggiata.
- Quando vengono utilizzate per l'analisi, le cartucce Xpert BCR-ABL Ultra p190 devono essere a temperatura ambiente (20 °C-30 °C).
- Ciascuna cartuccia Xpert BCR-ABL Ultra p190 monouso serve per l'esecuzione di un singolo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- Non riutilizzare i puntali per pipette.
- Non usare una cartuccia se appare umida o in caso di apparente rottura del sigillo del coperchio.
- Non utilizzare la cartuccia Xpert BCR-ABL Ultra p190 se è stato aggiunto un reagente nell'apertura errata. Non aprire le cartucce Xpert BCR-ABL Ultra p190 dopo il completamento del test.
- Assegnare un set di pipette e reagenti esclusivamente alla preparazione dei campioni di analisi.
- Indossare camice da laboratorio e guanti puliti. Cambiare i guanti tra una manipolazione e l'altra di ciascun campione di analisi.
- In caso di fuoriuscita di campione di analisi o di controlli, indossare dei guanti e assorbire la fuoriuscita con salviette di carta. Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro del laboratorio con una soluzione appena preparata di ipoclorito di sodio allo 0,5% in acqua distillata o deionizzata (diluire candeggina per uso domestico in rapporto 1:10). La concentrazione finale di candeggina attiva deve essere dello 0,5%. Quando l'area di lavoro è asciutta, pulire la superficie con etanolo al 70%. Per le apparecchiature, seguire le raccomandazioni del produttore per la loro decontaminazione. In alternativa, seguire le prassi standard della propria struttura sanitaria previste in caso di contaminazione o fuoriuscita.
- 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.

9 Pericoli chimici^{12,13}

Nota Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nei siti www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com nella scheda **SUPPORTO (SUPPORT)**.

Nota Le informazioni seguenti si applicano ai reagenti Proteinasi K, di lisi, di lavaggio e di risciacquo.

- Pittogramma di pericolo UN GHS: 
- Segnalazione: PERICOLO
- **Indicazioni di pericolo UN GHS**
 - Nocivo se ingerito H302
 - Liquido e vapore altamente infiammabili H225
 - Provoca irritazione cutanea H315
 - Provoca grave irritazione oculare H319
 - Può provocare sonnolenza o vertigini H336
 - Sospettato di provocare alterazioni genetiche H341
- **Frase di prudenza UN GHS**
 - **Prevenzione**
 - Prima dell'uso, consultare la Scheda dati di sicurezza per le istruzioni specifiche.
 - Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
 - Utilizzare dispositivi di protezione individuale: guanti, occhiali, schermo facciale e indumenti.
 - Utilizzare esclusivamente in luoghi ben ventilati.
 - Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate.
 - Evitare di respirare la nebbia, i vapori e l'aerosol.
 - Lavare accuratamente le mani dopo l'uso.
 - **Risposta**
 - In caso di INCENDIO: usare mezzi di estinzione appropriati.
 - In caso di INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.
 - In caso di malessere dell'infortunato, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
 - In caso di FUORIUSCITA: togliere immediatamente gli indumenti contaminati. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli), sciacquare/fare una doccia.
 - In caso di IRRITAZIONE DELLA PELLE: consultare un medico.
 - In caso di CONTATTO CON GLI OCCHI: togliere le eventuali lenti a contatto. Sciacquare accuratamente gli occhi per diversi minuti. Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.
 - trattamento specifico (vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso nella Scheda dati di sicurezza).
 - IN CASO di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico.
 - **Stoccaggio/Smaltimento**
 - Conservare in condizioni di refrigerazione.
 - Tenere i recipienti ben chiusi.
 - Smaltire prodotto e/o recipiente in conformità con normative locali, regionali, nazionali e/o internazionali.

10 Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

- Per il test sono necessari campioni di analisi di sangue intero raccolto in provette sottovuoto con EDTA. Prima dell'utilizzo i campioni possono essere tenuti a 2-8 °C fino a 72 ore. Il plasma non deve essere separato dalle cellule.
- Un prelievo, una conservazione e un trasporto corretti dei campioni di analisi sono essenziali per il funzionamento del test.

11 Procedura

11.1 Operazioni preliminari

Venti (20) minuti prima di iniziare la procedura, togliere il campione di analisi ematico, i reagenti di preparazione dei campioni di analisi e le cartucce dal sito di conservazione refrigerato per consentire loro di raggiungere la temperatura ambiente. Agitare brevemente il reagente Proteinasi K (PK) in una microcentrifuga.

Importante Rimuovere la cartuccia dalla confezione di cartone prima della preparazione del campione di analisi (vedere Sezione 11.2, Preparazione del campione di analisi).

Importante Avviare il test sullo strumento GeneXpert Dx entro 1 ora dall'aggiunta del campione di analisi preparato alla cartuccia.

11.2 Preparazione del campione di analisi

11.2.1 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

1. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere 100 µl di PK (Proteinasi K).
2. Accertarsi di miscelare bene il campione di sangue capovolgendo la provetta di raccolta ematica per 8 volte immediatamente prima del pipettaggio. Consultare le istruzioni del produttore per la provetta di raccolta del sangue EDTA.
3. Alla provetta già contenente Proteinasi K, aggiungere 4 ml di campione di sangue.
4. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi in un miscelatore vortex all'impostazione massima per 3 secondi.
5. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto.
6. Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla stessa provetta.

Nota Conservare il reagente di lisi residuo da utilizzare nuovamente nel Passaggio 13.

7. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi con un miscelatore vortex all'impostazione massima per 10 secondi.
8. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti.
9. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi con un miscelatore vortex all'impostazione massima per 10 secondi.
10. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti.
11. Miscelare il campione di analisi picchiando 10 volte la parte inferiore della provetta.
12. Trasferire 1 ml del lisato preparato in una nuova provetta conica da 50 ml.

Nota È possibile utilizzare il lisato rimanente per un nuovo test. Conservare il lisato residuo a 2-8 °C per un massimo di 4 ore oppure conservarlo a -20 °C o a una temperatura inferiore fino a 24 settimane.

13. Aggiungere 1,5 ml del reagente di lisi (LY) messo da parte in precedenza dal Passaggio 6 alla nuova provetta conica contenente lisato.
14. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi con un miscelatore vortex all'impostazione massima per 10 secondi.
15. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 10 minuti.
16. Aggiungere 2 ml di etanolo assoluto di grado reagente (fornito dall'utente) alla stessa provetta conica.
17. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi con un miscelatore vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Mettere da parte.
18. Gettare gli eventuali reagenti PK o LY rimasti.

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

1. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere 100 µl di PK (Proteinasi K).

2. Accertarsi di miscelare bene il campione di sangue capovolgendo la provetta di raccolta ematica per 8 volte immediatamente prima del pipettaggio. Consultare le istruzioni del produttore per la provetta di raccolta del sangue EDTA.
3. Alla provetta già contenente Proteinasi K, aggiungere 50 µl di campione di analisi ematico.
4. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi in un miscelatore vortex all'impostazione massima per 3 secondi.
5. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto.
6. Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla stessa provetta.
7. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi con un miscelatore vortex all'impostazione massima per 10 secondi.
8. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti.
9. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi con un miscelatore vortex all'impostazione massima per 10 secondi.
10. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti.
11. Aggiungere 2 ml di etanolo assoluto di grado reagente (fornito dall'utente) alla stessa provetta conica.
12. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi con un miscelatore vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Mettere da parte.
13. Gettare gli eventuali reagenti PK o LY rimasti.

11.3 Preparazione della cartuccia

Per aggiungere il campione di analisi alla cartuccia Xpert BCR-ABL Ultra p190:

1. Rimuovere la cartuccia dalla confezione di cartone.
2. Controllare che la cartuccia non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.
3. Sollevare il coperchio della cartuccia e trasferire l'intero contenuto della fiala di reagente di lavaggio (1) nella camera del reagente di lavaggio (apertura piccola). Vedere la Figura 1.
4. Pipettare l'intero contenuto del campione di analisi preparato nella camera per il campione (apertura grande). Vedere la Figura 1.

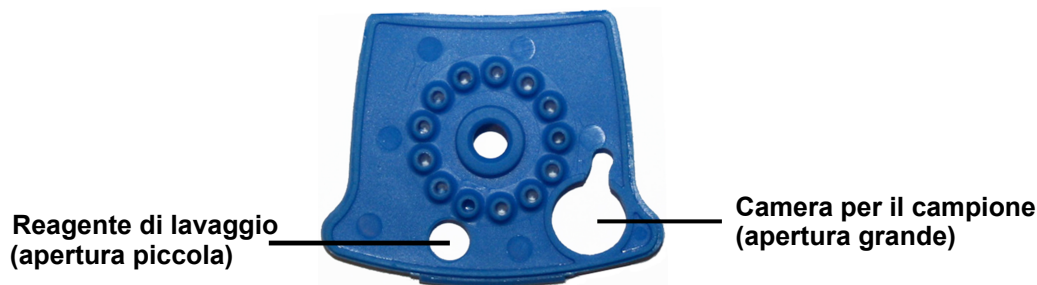


Figura 1. Cartuccia Xpert BCR-ABL Ultra p190 (vista dall'alto)

5. Chiudere il coperchio della cartuccia. Accertarsi che il coperchio sia bloccato in posizione. Avviare il test (vedere la Sezione 11.4, Avvio del test).

11.4 Avvio del test

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per le istruzioni dettagliate, vedere la *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Importante

Prima di iniziare il test, assicurarsi che lo strumento stia eseguendo il software GeneXpert Dx versione 6.2 o superiore e che nel software sia stato importato il File di definizione del saggio (ADF) corretto.

Nota

I passaggi da seguire possono variare se l'amministratore del sistema modifica il flusso di lavoro predefinito del sistema.

1. Accendere lo strumento GeneXpert:

Se si utilizza lo strumento GeneXpert Dx, accendere prima lo strumento GeneXpert Dx e poi il computer. Il software GeneXpert si avvia automaticamente. Se non si avvia, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software GeneXpert Dxsul desktop di Windows®.

2. Connettersi al software del sistema di strumentazione GeneXpert usando il proprio nome utente e la password.

3. Nella finestra del **sistema GeneXpert**, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (GeneXpert Dx). Viene visualizzata la finestra **Crea analisi (Create Test)**. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID paziente (Scan Patient ID Barcode)**.
4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) o digitarlo. Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e in tutti i rapporti. Verrà visualizzata la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID campione (Scan Sample ID Barcode)**.
5. Eseguire la scansione dell'ID campione (Sample ID) o digitarlo. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del campione sarà associato ai risultati del test e riportato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e su tutti i rapporti. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre della cartuccia (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).

Nota

Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia, ripetere il test con una cartuccia nuova. Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il File di definizione del saggio (ADF) non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il File di definizione del saggio (ADF) non è stato caricato nel sistema. Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)**. Se richiesto, digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.
8. Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
9. Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
10. Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo. Quindi rimuovere la cartuccia.
11. Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori dei rifiuti di campioni di analisi attenendosi alla prassi standard della struttura sanitaria.

12 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencate le procedure principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate sulla visualizzazione e la stampa dei risultati, consultare il *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona **Visualizza risultati (View Results)**.
2. Una volta completato il test, fare clic sul pulsante **Rapporto (Report)** nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** per visualizzare e/o generare un file di rapporto in formato PDF.

13 Controllo qualità

Ciascun test include un controllo endogeno (ABL) e un controllo per la verifica della sonda (PCC).

Controllo endogeno ABL — Il controllo Endogeno ABL verifica che con il test venga utilizzato un campione di analisi sufficiente. Inoltre, questo controllo rileva l'inibizione del test di PCR real time associata al campione di analisi. L'ABL si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione assegnati.

Controllo per la verifica della sonda (PCC) — Prima che inizi la reazione PCR, il sistema GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsfere, il riempimento delle provette di reazione e se tutti i componenti di reazione sono funzionanti nella cartuccia. Il PCC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.

14 Interpretazione dei risultati

Gli output quantitativi di Xpert BCR-ABL Ultra p190 vengono forniti come rapporto percentuale di BCR-ABL1 p190/ABL1. Gli esempi dei risultati possibili e delle interpretazioni sono illustrati nella Tabella 1.

Tabella 1. Possibili risultati del test Xpert BCR-ABL Ultra p190 e interpretazione

Verifica della sonda*	Ct di ABL*	Ct di e1a2*	Risultato del test Xpert BCR-ABL Ultra p190	Note
AMMESSO	AMMESSO	POS	BCR-ABL p190 RILEVATO [#,## %] (BCR-ABL p190 DETECTED [#,##%])	Viene riportato il valore del rapporto percentuale calcolato. Vedere la Figura 2.
			BCR-ABL p190 RILEVATO [Inferiore al LoD; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%]).	Il rapporto percentuale calcolato è inferiore al limite di rilevamento e non è riportato. Vedere la Figura 3.
			BCR-ABL p190 RILEVATO [Sopra il LoQ superiore] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])	Il rapporto percentuale calcolato è superiore al limite di quantificazione e non è riportato. Vedere la Figura 4.
		NEG	BCR-ABL p190 NON RILEVATO [Trascritto ABL sufficiente] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])	Il Ct di e1a2 è pari a zero o superiore alla soglia di accettazione. Vedere la Figura 5.
		NON VALIDO (INVALID)	NON VALIDO [Trascritto BCR-ABL p190 troppo alto] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcript])	Il Ct di e1a2 è inferiore alla soglia di accettazione.
	RESPINTO	POS, NEG o NON VALIDO (INVALID)	NON VALIDO [Nessun trascritto ABL]	Il valore Ct di ABL è zero. ABL non rilevato. Vedere la Figura 6.
			NON VALIDO [Trascritto ABL insufficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Il Ct di ABL è superiore alla soglia di accettazione. Vedere la Figura 7.
			NON VALIDO [Trascritto ABL troppo alto] (INVALID [Too high ABL transcript])	Il Ct di ABL è inferiore alla soglia di accettazione.
		NON VALIDO (INVALID)	NON VALIDO [Trascritti di BCR-ABL p190 e ABL troppo alti] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])	Entrambi i valori di Ct e1a2 e ABL sono inferiori alle soglie di accettazione. Vedere la Figura 8.
RESPINTO	AMMESSO (PASS) o RESPINTO (FAIL)	POS, NEG o NON VALIDO (INVALID)	ERRORE (ERROR)	Il controllo per la verifica della sonda non ha soddisfatto i criteri di accettazione. Vedere la Figura 9.
* Per i dettagli, consultare la scheda Risultati degli analiti nel software del sistema GeneXpert Dx				

Nota

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; Efficienza (*E*) e Fattore di scala (*SF*) sono i valori specifici del lotto:

Rapporto percentuale = $\text{Efficienza}^{\Delta\text{Ct}} \times \text{Fattore di scala} \times 100$

Nota

Utilizzando i valori Efficienza e Fattore di scala, la quantificazione di BCR-ABL1 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.

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

Per un risultato “**BCR-ABL p190 RILEVATO [###]% (BCR-ABL p190 DETECTED [###]%)**”, BCR-ABL p190 è rilevabile con un Ct BCR-ABL p190 maggiore o uguale a “8” e minore o uguale al valore di cut-off di “32” e un Ct ABL maggiore o uguale a “8” e minore o uguale a “18”.

Esempio: Ct di ABL = 11,4; Ct di BCR-ABL p190 = 15,6; $\Delta Ct = -4,2$
 $E_{\Delta Ct}$ specifica del lotto = 2,05; $SF = 1,76$
 Rapporto % = $2,05^{(-4,2)} \times 100 \times 1,76 = 8,63\%$

Risultato: **BCR-ABL p190 RILEVATO [8,63%] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])**. Vedere la Figura 2.

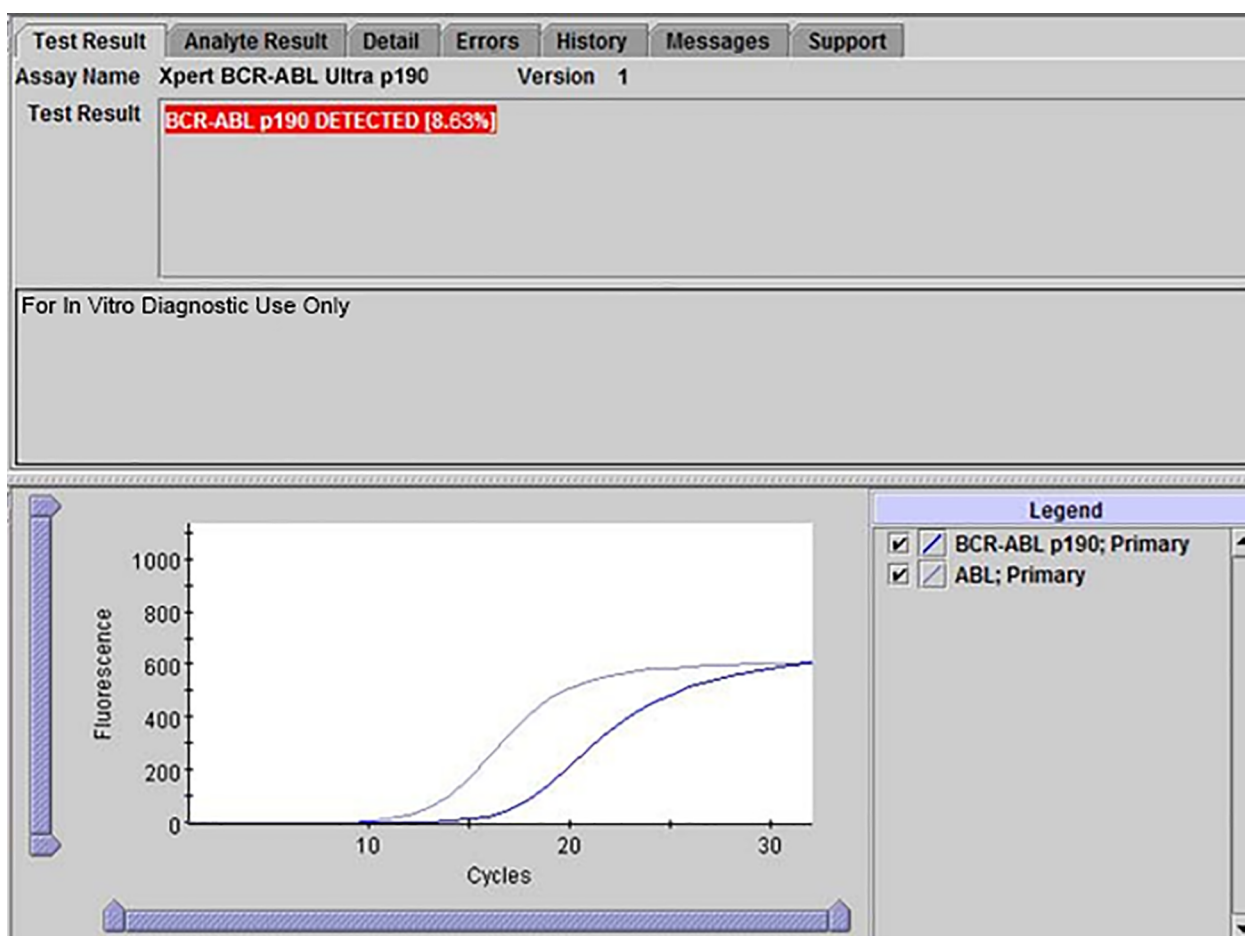


Figura 2. Finestra di visualizzazione dei risultati di GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 RILEVATO [8,63%] (BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%])

14.2 BCR-ABL p190 RILEVATO [Inferiore al LoD; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

BCR-ABL p190 rilevato a un livello <0,0065%.

Per un risultato “**BCR-ABL p190 RILEVATO [Inferiore al LoD; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**”, BCR-ABL p190 è rilevabile con un Ct BCR-ABL p190 maggiore o uguale a “8” e minore o uguale al cut-off di “32” e un Ct ABL maggiore o uguale a “8” e minore o uguale a “18”.

Esempio: Ct di ABL = 10,1; Ct di BCR-ABL p190 = 24,8; $\Delta Ct = -14,8$
 $E_{\Delta Ct}$ specifica del lotto = 2,05; $SF = 1,76$
 Rapporto % = $2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044\%$, inferiore al LoD dello 0,0065% definito dal test

Risultato: **BCR-ABL p190 RILEVATO [Inferiore al LoD; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])**. Vedere Figura 3.

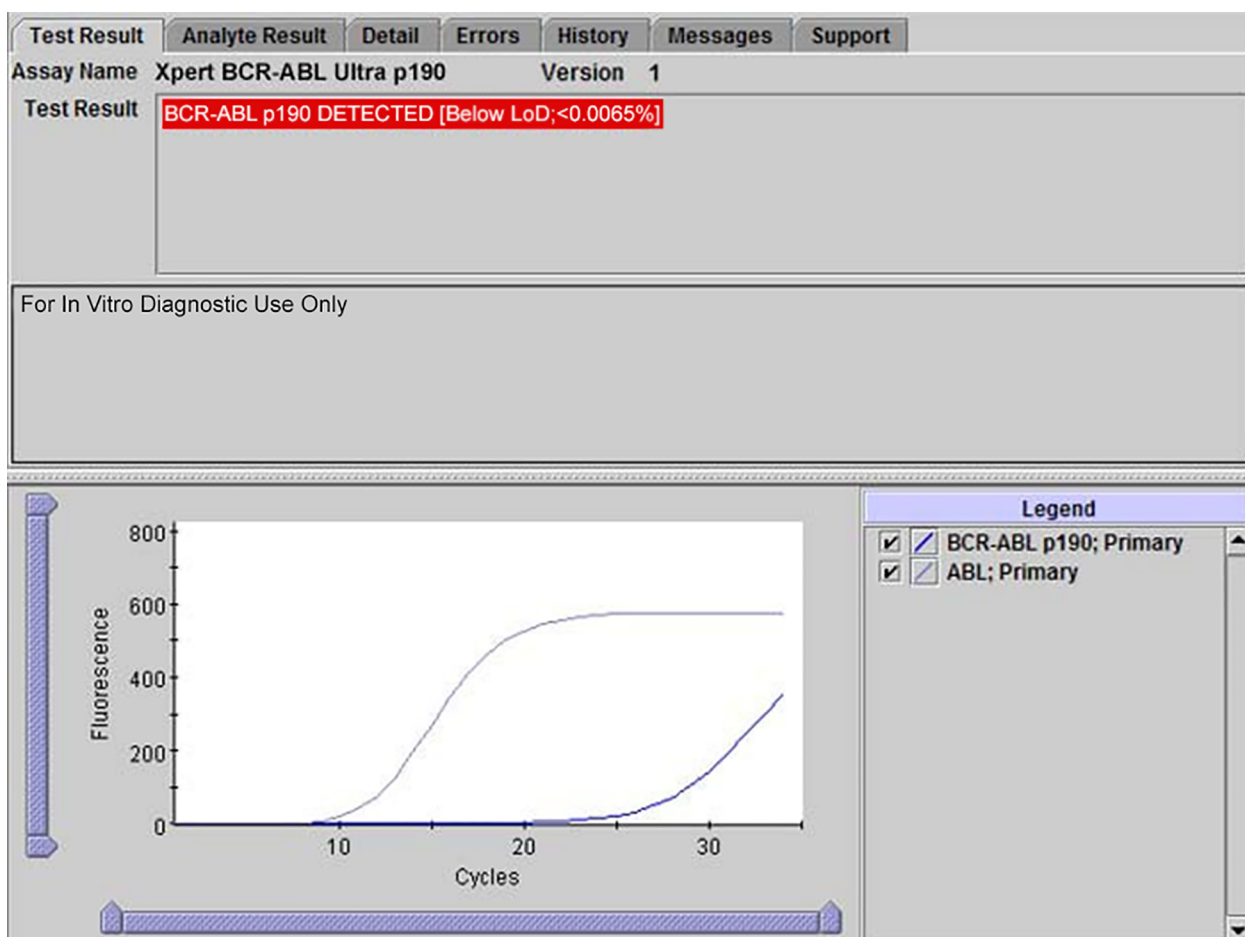


Figura 3. Finestra di visualizzazione dei risultati di GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 RILEVATO [Inferiore al LoD; <0,0065%] (BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%])

14.3 BCR-ABL p190 RILEVATO [Sopra il LoQ superiore] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

BCR-ABL p190 rilevato a un livello > 25%.

Per un risultato “**BCR-ABL p190 RILEVATO [Sopra il LoQ superiore] (DETECTED [Above upper LoQ])**”, BCR-ABL p190 è rilevabile con un Ct BCR-ABL p190 maggiore o uguale a “8” e minore o uguale al cut-off di “32” e Ct ABL maggiore o uguale a “8” e minore o uguale a “18”.

- Esempio:

Ct di ABL = 17,2; Ct di BCR-ABL p190 = 18,7; ΔCt = -1,6
E_{ΔCt} specifica del lotto = 2,05; SF = 1,76
Rapporto % = 2,05^(-1,6) x 100 x 1,76 = 56,6%, maggiore del LoQ superiore del 25% definito dal test
- Risultato:

BCR-ABL p190 RILEVATO [Sopra il LoQ superiore] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ]). Vedere la Figura 4.

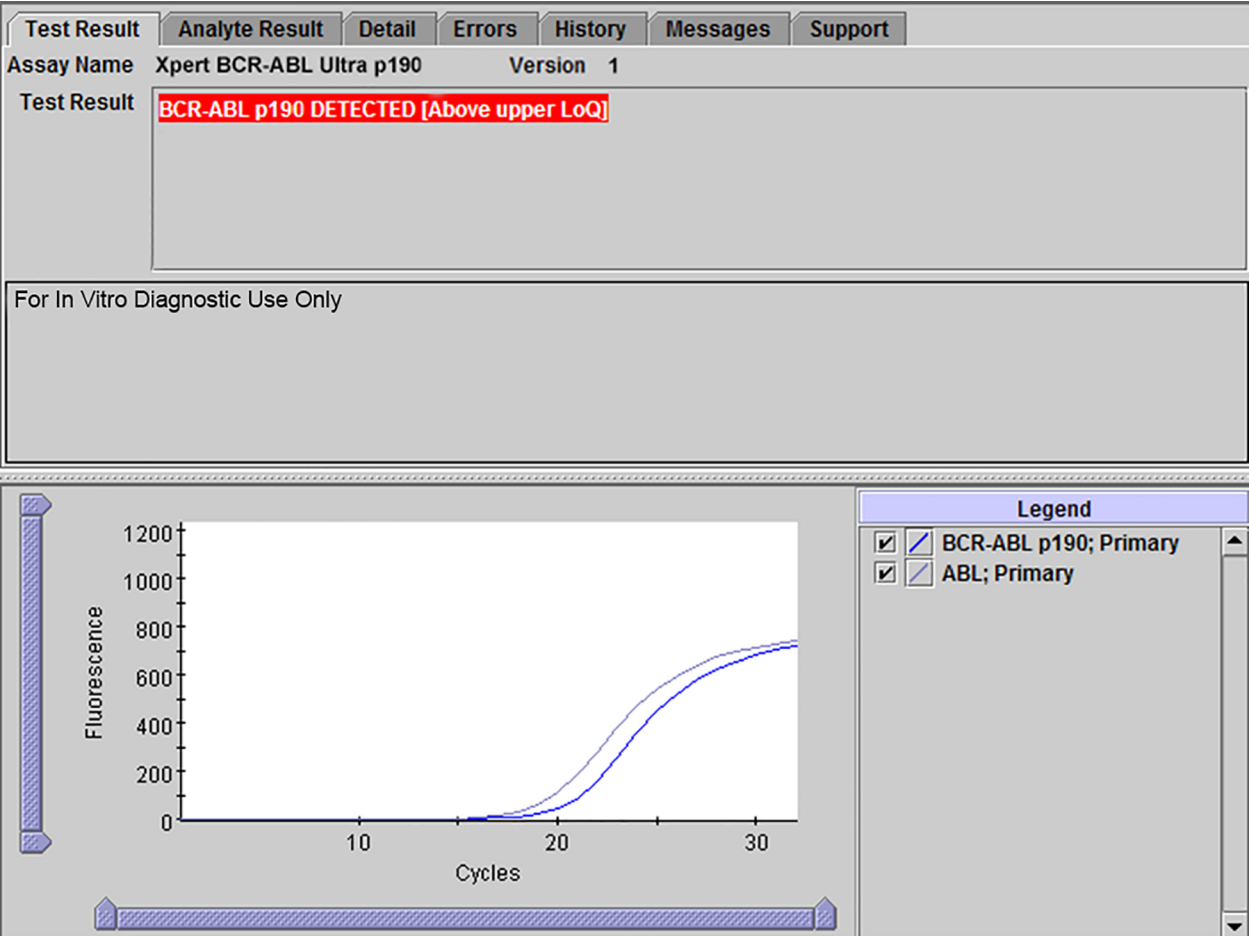


Figura 4. Finestra di visualizzazione dei risultati di GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 RILEVATO [Sopra il LoQ superiore] (BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ])

14.4 BCR-ABL p190 NON RILEVATO [Trascritto ABL sufficiente] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 non è stato rilevato con il Ct di BCR-ABL p190 uguale a “0” o maggiore del cut-off di “32” e il Ct di ABL maggiore di “8” e minore o uguale a “18”.

Quando BCR-ABL p190 non è rilevabile con Ct BCR-ABL p190 uguale a “0” o maggiore del cut-off di “32”, il software GeneXpert cerca innanzitutto il Ct di ABL per confermare se il Ct di ABL è maggiore o uguale a “8” e minore o uguale a “18” e garantire la presenza di “Trascritto ABL sufficiente (Sufficient ABL Transcript)”. Vedere la Tabella 2.

Esempio: Ct di BCR-ABL p190 = 0; Ct di ABL = 11,6 è inferiore a “18”.

Risultato: **BCR-ABL p190 NON RILEVATO [Trascritto ABL sufficiente] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**. Vedere la Figura 5.

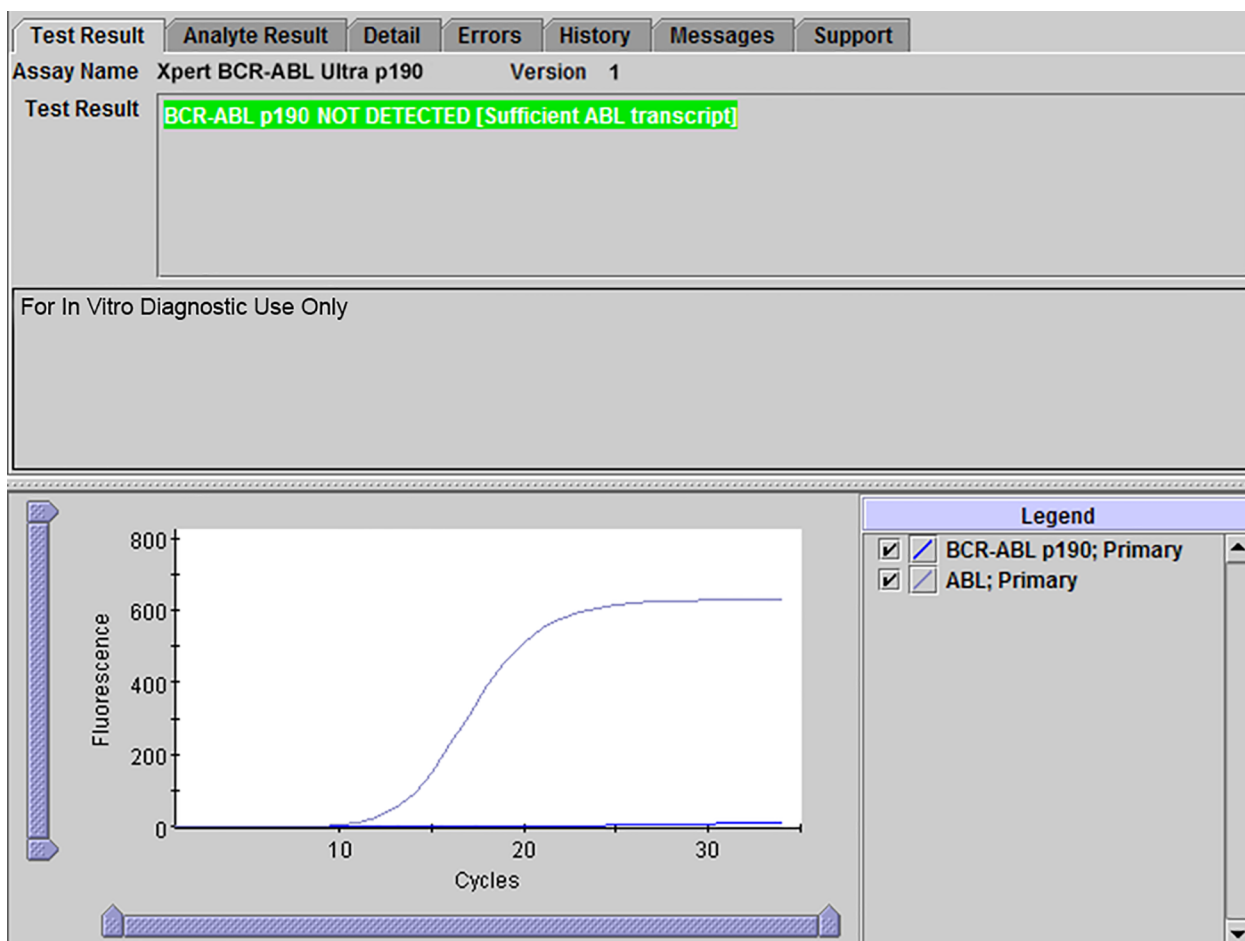


Figura 5. Finestra di visualizzazione dei risultati di GeneXpert Dx: BCR-ABL p190 NON RILEVATO [Trascritto ABL sufficiente] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

14.5 NON VALIDO [Nessun trascritto ABL] (INVALID [No ABL transcript])

BCR-ABL p190 non è stato rilevato con Ct di ABL uguale a “0”.

Quando BCR-ABL p190 viene rilevato o non rilevato, il software GeneXpert cerca innanzitutto il Ct di ABL per confermare se il Ct di ABL è minore o uguale a “18” e garantire la presenza di “Trascritto ABL sufficiente (Sufficient ABL transcript)”. Fare riferimento a Sezione 16, Guida alla risoluzione dei problemi.

Esempio: Ct di BCR-ABL p190 = 0; Ct ABL = 0.

Risultato: **NON VALIDO [Nessun trascritto ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Vedere Figura 6.

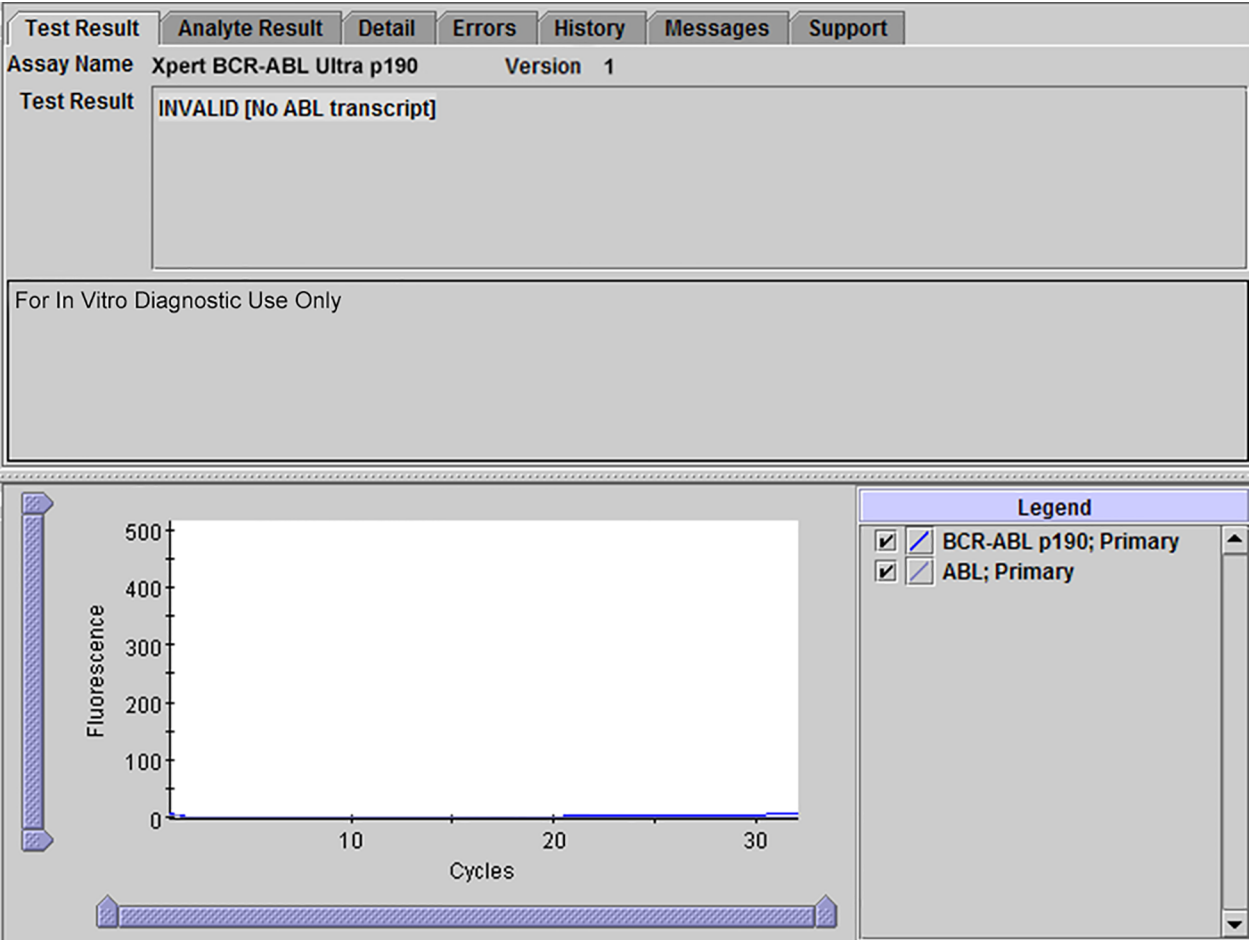


Figura 6. Finestra di visualizzazione dei risultati di GeneXpert Dx:
NON VALIDO [Nessun trascritto ABL] (INVALID [No ABL transcript])

14.6 NON VALIDO [Trascritto ABL insufficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL p190 non è stato rilevato con il Ct di ABL maggiore di “18”.

Quando BCR-ABL p190 viene rilevato o non rilevato, il software GeneXpert cerca innanzitutto il Ct di ABL per confermare se il Ct di ABL è minore o uguale a “18” e garantire la presenza di “Trascritto ABL sufficiente (Sufficient ABL transcript)”. Fare riferimento a Sezione 16, Guida alla risoluzione dei problemi.

Esempio: Ct di BCR-ABL p190 = 31,2; Ct di ABL = 28 è maggiore di “18”.

Risultato: **NON VALIDO [Trascritto ABL insufficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).**
Vedere la Figura 7.

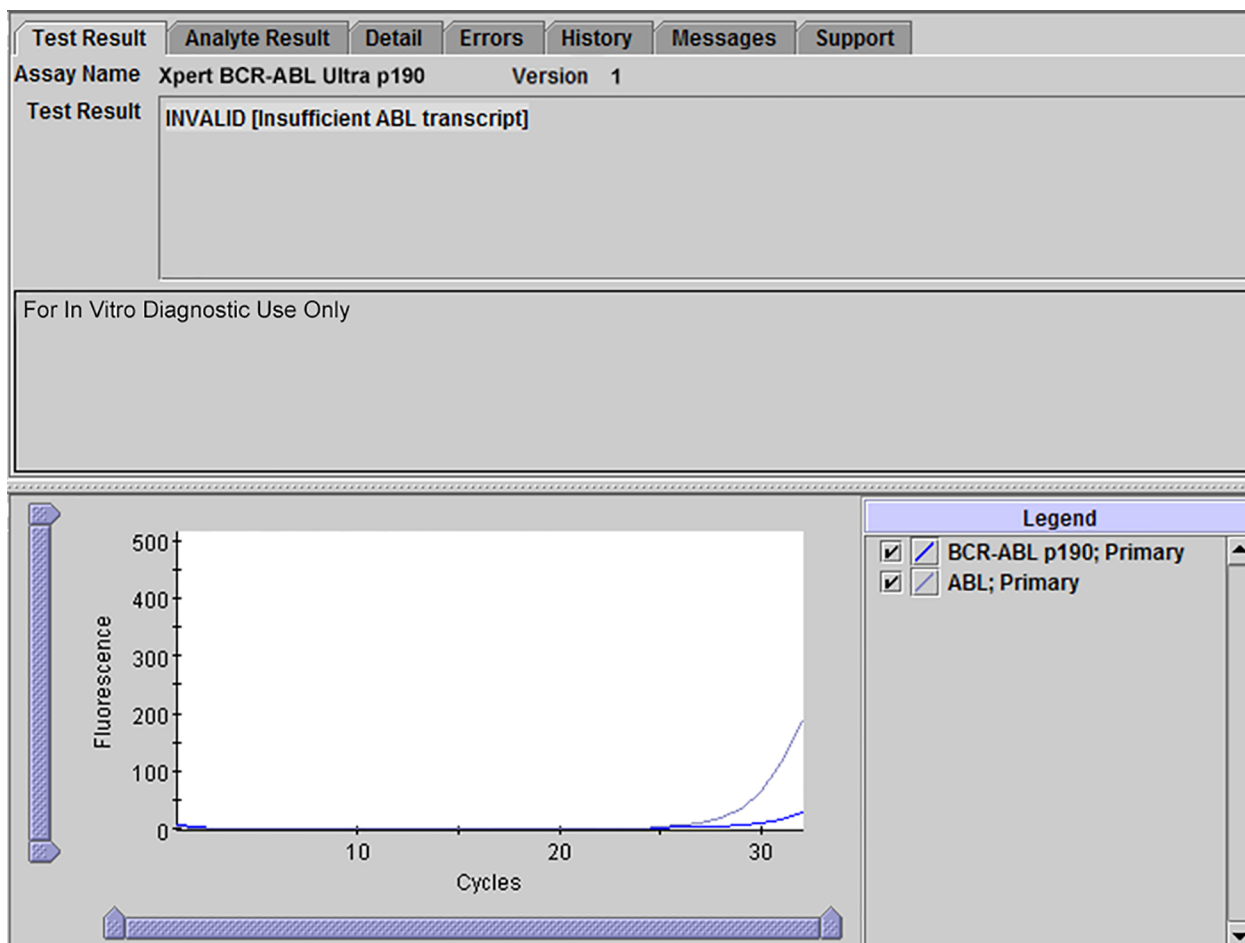


Figura 7. Finestra di visualizzazione dei risultati di GeneXpert Dx: NON VALIDO [Trascritto ABL insufficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

14.7 NON VALIDO [Trascritti di BCR-ABL p190 e ABL troppo alti] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

BCR-ABL p190 è stato rilevato con il Ct di BCR-ABL p190 e il Ct di ABL inferiori a “8”.

Quando BCR-ABL p190 viene rilevato o non rilevato, il software GeneXpert cerca innanzitutto il Ct di ABL per confermare se il Ct di ABL è minore o uguale a “18” e garantire la presenza di “Trascritto ABL sufficiente (Sufficient ABL transcript)”. Fare riferimento a Sezione 16, Guida alla risoluzione dei problemi.

- Esempio:** Ct di BCR-ABL p190 = 7,9; Ct di ABL = 7,6 è inferiore a “8”.
- Risultato:** **NON VALIDO [Trascritti di BCR-ABL e ABL troppo alti] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts]).** Vedere Figura 8.

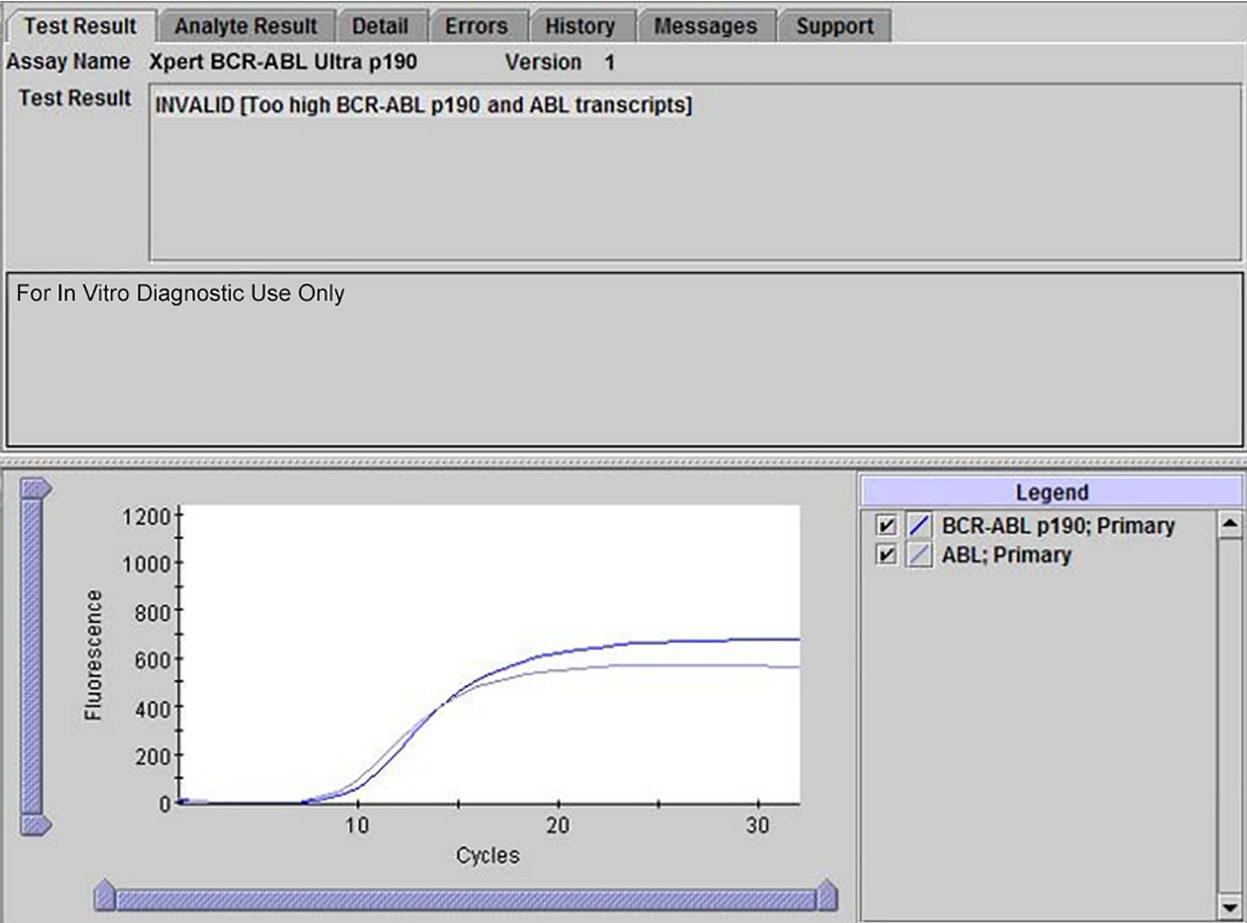


Figura 8. Finestra di visualizzazione dei risultati di GeneXpert Dx: NON VALIDO [Trascritti di BCR-ABL p190 e ABL troppo alti] (INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts])

14.8 ERRORE (ERROR)

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>						

Figura 9. Finestra di visualizzazione dei risultati di GeneXpert Dx: ERRORE (ERROR)

15 Limitazioni

- 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 tramite 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 (NaCitrato).
- 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 previsto per rilevare le 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. Vedere Tabella 2 per ulteriori informazioni.
- 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 di BCR-ABL1 (cioè inferiori a LoD 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 su GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

16 Guida alla risoluzione dei problemi

Tabella 2. Guida alla risoluzione dei problemi

Risultato dell'analisi	Possibili cause	Suggerimenti
NON VALIDO (INVALID)	Tipo 1: Errore del controllo endogeno dell'ABL: • scarsa qualità del campione di analisi • Inibizione RT-PCR • Se Ct ABL >18 e/o endpoint <200	• Controllare la qualità del campione di analisi (ad esempio, se è stato superato il requisito di conservazione del campione, compresi il tempo e la temperatura). • Ripetere l'analisi con il campione di analisi originale (se disponibile) o con lisato messo da parte in precedenza e una nuova cartuccia seguendo la procedura descritta nella Sezione 17.1, Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) o NON VALIDO (INVALID) (Tipo 1).
	Tipo 2: Il livello di trascritto di BCR-ABL non può essere determinato a causa del campione di analisi contenente trascritti di BCR-ABL p190 e/o ABL in eccesso (Ct <8)	Ripetere l'analisi con il campione di analisi originale (se disponibile) o con lisato messo da parte in precedenza e una nuova cartuccia seguendo la procedura descritta nella Sezione 17.2, Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) (Codice 2008) o NON VALIDO (INVALID) (Tipo 2).
ERRORE (Codice 2008) (ERROR [Code 2008])	Superamento del limite di pressione (messaggio di errore 2008)	• Verificare la qualità del campione di analisi • Verificare la presenza di un conteggio di globuli bianchi esageratamente elevato • Ripetere l'analisi con il campione di analisi originale (se disponibile) o con lisato messo da parte in precedenza e una nuova cartuccia seguendo la procedura descritta nella Sezione 17.2, Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) (Codice 2008) o NON VALIDO (INVALID) (Tipo 2).
ERRORE (Codice 5006, 5007, 5008 e 5009) (ERROR [Code 5006, 5007, 5008 and 5009])^{a)}	Errore nella verifica della sonda	Ripetere l'analisi con il campione di analisi originale (se disponibile) o con lisato messo da parte in precedenza e una nuova cartuccia seguendo la procedura descritta nella Sezione 17.1, Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) o NON VALIDO (INVALID) (Tipo 1).

Risultato dell'analisi	Possibili cause	Suggerimenti
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	Errore nella raccolta dei dati. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test che era in esecuzione oppure si è verificata un'interruzione di alimentazione.	Ripetere l'analisi con il campione di analisi originale (se disponibile) o con lisato messo da parte in precedenza e una nuova cartuccia seguendo la procedura descritta nella Sezione 17.1, Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) o NON VALIDO (INVALID) (Tipo 1).

^a Questo non è un elenco completo dei codici di ERRORE.

17 Ripetizioni del test

17.1 Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) o NON VALIDO (INVALID) (Tipo 1)

Sottoporre nuovamente a test i campioni di analisi con risultati **ERRORE (ERROR)** o **NON VALIDO (INVALID)** a causa del ciclo soglia ABL (Ct) che supera il cut-off Ct valido massimo (Ct >18) o con endpoint al di sotto della soglia impostata (<200). Fare anche riferimento alla Tabella 2.

1. Misurazione del volume del campione di analisi ematico:

- Se è disponibile un campione di analisi ematico di volume *sufficiente*, ripetere l'analisi dalla provetta di raccolta del campione di analisi ematico originale seguendo la procedura descritta nella Sezione 11.2.1.

-OPPURE-

- Se è disponibile un campione di analisi ematico *insufficiente*, è possibile ripetere il test con il lisato messo da parte dal Passaggio 12 della Sezione 11.2.1.
 - Se il lisato messo da parte dal Passaggio 12 della Sezione 11.2.1 viene conservato congelato, scongelare a temperatura ambiente prima dell'uso.
 - Accertarsi che il lisato sia ben mescolato miscelando ininterrottamente per 10 secondi il campione di analisi in un miscelatore vortex all'impostazione massima e metterlo da parte per 3 minuti affinché le bolle scompaiano. Andare al Passaggio 2.

- Trasferire 1 ml del lisato messo da parte in una nuova provetta conica da 50 ml.
- Aggiungere 1,5 ml di reagente di lisi (LY) alla nuova provetta conica contenente il lisato.
- Seguire i Passaggi 14-17 nella Sezione 11.2.1 per preparare il lisato finale.
- Aprire la cartuccia sollevandone il coperchio e trasferire l'intero contenuto della fiala di reagente di lavaggio (1) nella camera del reagente di lavaggio (con apertura piccola). Vedere la Figura 1.
- Pipettare l'intero contenuto del campione di analisi preparato nella camera per il campione (apertura grande); vedere la Figura 1.
- Chiudere il coperchio della cartuccia. Avviare il test (vedere la Sezione 11.4).

17.2 Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) (codice 2008) o NON VALIDO (INVALID) (tipo 2)

Analizzare nuovamente i campioni di analisi con livelli di trascritto di BCR-ABL e/o ABL inferiori al cut-off Ct minimo valido (Ct <8) e/o quando viene superato il limite di pressione. Fare anche riferimento alla Tabella 2.

1. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere 100 µl di PK (Proteinasi K).

2. Misurazione del volume del campione di analisi ematico:

- Se è disponibile un campione di analisi ematico *sufficiente*, ripetere l'analisi dalla provetta di raccolta del campione di analisi ematico originale. Accertarsi di miscelare bene il campione di sangue capovolgendo la provetta di raccolta ematica per 8 volte immediatamente prima del pipettaggio. Andare al Passaggio 3.

-OPPURE-

- Se è disponibile un campione di analisi ematico *insufficiente*, è possibile ripetere il test con il lisato messo da parte dal Passaggio 12 della Sezione 11.2.1.

- a. Se il lisato messo da parte dal Passaggio 12 della Sezione 11.2.1 viene conservato congelato, scongelare a temperatura ambiente prima dell'uso. Se si utilizza il lisato refrigerato, lasciar stabilizzare a temperatura ambiente prima dell'uso.
 - b. Accertarsi che il lisato sia ben mescolato miscelando ininterrottamente per 10 secondi il campione di analisi in un miscelatore vortex all'impostazione massima e metterlo da parte per 3 minuti affinché le bolle scompaiano. Andare al Passaggio 3.
3. Alla provetta già contenente Proteinasi K, aggiungere 50 µl di campione di analisi ematico originale, se disponibile, o 80 µl di lisato residuo dal Passaggio 12 della Sezione 11.2.1.
 4. Miscelare ininterrottamente il campione di analisi in un miscelatore vortex all'impostazione massima per 3 secondi.
 5. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto.
 6. Seguire i Passaggi 6-13 nella Sezione 11.2.2 per preparare il lisato finale.
 7. Aprire la cartuccia sollevandone il coperchio e trasferire l'intero contenuto della fiala di reagente di lavaggio (1) nella camera del reagente di lavaggio (con apertura piccola). Vedere la Figura 1.
 8. Pipettare l'intero contenuto del campione di analisi preparato nella camera per il campione (apertura grande). Vedere la Figura 1.
 9. Chiudere il coperchio della cartuccia. Avviare il test (vedere la Sezione 11.4).

18 Valori attesi

L'intervallo di Xpert BCR-ABL Ultra p190 copre i principali punti di decisione per il monitoraggio di CML e LLA. I valori attesi sono espressi come rapporto percentuale dell'mRNA (e1a2) di BCR-ABL p190 rispetto all'mRNA di ABL e sono compresi tra lo 0,0065% e il 25%. Le misurazioni al di sotto di tale intervallo vengono indicate come non rilevate o inferiori al limite di rilevamento (LoD), mentre quelle al di sopra di tale intervallo vengono indicate come superiori al limite di quantificazione (LoQ). Per i dettagli, fare riferimento alla Sezione 14.

19 Prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche del test Xpert BCR-ABL Ultra p190 sono state valutate presso tre strutture sanitarie negli Stati Uniti come parte di uno studio clinico multicentrico. Lo studio è stato condotto utilizzando campioni di analisi di sangue periferico (SP) in EDTA raccolti in maniera prospettica da pazienti con leucemia linfoblastica acuta (LLA) e leucemia mieloide cronica (LMC) durante il monitoraggio del trattamento. Inoltre, lo studio ha incluso i campioni di analisi residui conservati come lisati clinici congelati che sono stati preparati da sangue periferico (SP) in EDTA proveniente dalla stessa popolazione di pazienti. Le prestazioni del test Xpert BCR-ABL Ultra p190 sono state confrontate con un test molecolare che rileva e quantifica i trascritti di mRNA per la p190 [t(9;22)(q34;q11)] dei pazienti positivi a LMC e LLA esprimente il trascritto di fusione BCR-ABL1 di tipo e1a2 e che utilizza ABL come trascritto di mRNA del controllo endogeno.

In questo studio è stato arruolato un totale di 47 campioni di analisi; di questi 47, 9 avevano un RNA che ha prodotto <100 ng/ml e sono stati esclusi dall'analisi. È stato escluso un totale di 9 campioni di analisi; 38 sono stati inclusi nel set di dati finale. È importante notare che tutti i 9 campioni di analisi esclusi hanno prodotto risultati validi del test Xpert BCR-ABL Ultra p190.

Per i 38 campioni di analisi arruolati in questo studio sono stati raccolti età e sesso. I campioni di analisi sono stati prelevati da 25 maschi (65,8%) e 13 femmine (34,2%). Tutti i campioni di analisi provenivano da pazienti di età compresa tra 20 e 88 anni con una media di 54,5 anni. Ventitré (61%) campioni di analisi sono stati prelevati da pazienti a cui è stata diagnosticata la LLA e 15 (39%) da pazienti con diagnosi di LMC.

Dei 38 campioni di analisi idonei, sette (7) sono stati esclusi dalla regressione di Deming in quanto erano risultati negativi ad almeno uno dei test. Nell'analisi della regressione di Deming sono stati inclusi trentuno campioni di analisi con intervalli quantitativi di entrambi i test.

I risultati di tale analisi del rapporto percentuale (RP) mostrano una buona correlazione tra Xpert BCR-ABL Ultra p190 e le misurazioni del metodo comparatore per quanto riguarda la misurazione del RP. L'intercetta era di 0,01 e la pendenza era di 1,08; entrambe hanno soddisfatto i criteri di accettazione. La R di Pearson era di 0,814. È stata effettuata una riduzione logaritmica (RL) per normalizzare la distribuzione dei dati del RP. L'analisi della regressione di Deming con le misurazioni della RL è stata eseguita e presentata nella Figura 10 di seguito.

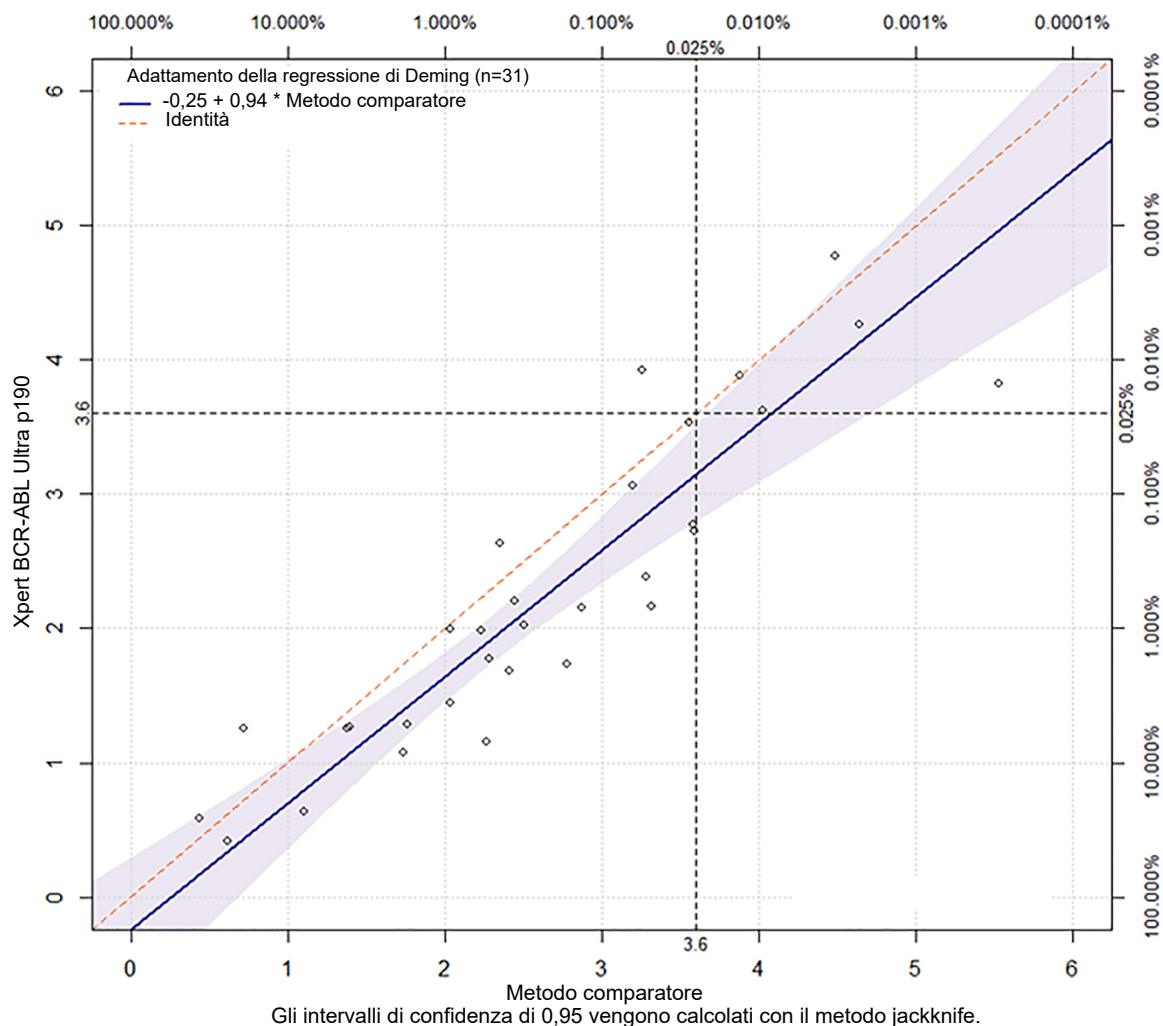


Figura 10. Regressione di Deming per la RL

La Figura 10 mostra un'elevata correlazione tra Xpert BCR-ABL Ultra p190 e i test con metodo comparatore per le misurazioni della RL. La regressione di Deming ha una pendenza di 0,94 e un'intercetta di -0,25. Pertanto anche per i valori della RL per i risultati della regressione di Deming soddisfano i criteri di accettazione per l'intercetta e la pendenza. La correlazione complessiva (R di Pearson = 0,904) era elevata.

Il bias positivo previsto di 0,01 in percentuale (RL: -0,39) e la distribuzione indicano che, per la maggior parte dei campioni di analisi, il test Xpert misura concentrazioni più elevate del trascritto p190 rispetto al comparatore. Il test Xpert BCR-ABL Ultra p190 ha mostrato la correlazione elevata di 0,904 con il comparatore e aveva un bias basso utilizzando le misurazioni della RL. Il tasso dei risultati indeterminati osservato nel presente studio era di 0%; sono stati inoltre soddisfatti i criteri di accettazione di $\leq 5\%$ dei risultati indeterminati. Il test Xpert BCR-ABL Ultra p190 ha mostrato una concordanza accettabile con il comparatore, come dimostrato dalla pendenza e dall'intercetta nell'analisi della regressione di Deming.

20 Prestazioni analitiche

20.1 Intervallo di linearità/dinamico

La linearità è stata valutata per il punto di rottura minore, e1a2, utilizzando l'RNA totale dalla linea cellulare SUP-B15 di LLA. L'RNA totale dei trascritti BCR-ABL p190 è stato diluito in un lisato di background preparato da campioni di analisi clinici LLA-negativi a intervalli target compresi tra ~25% e 0,001% (RL [riduzione logaritmica] da 0,60 a RL5). I componenti del pannello, compreso il livello negativo, sono stati testati su due lotti di kit del test in replicati di 4 per lotto di kit.

I test e le analisi statistiche sono stati condotti in conformità con la norma CLSI EP06-A. Le analisi di regressione lineare sono state eseguite con polinomi di primo, secondo e terzo grado. Il risultato per il punto di rottura e1a2 è stato considerato lineare se i coefficienti di regressione polinomiale non erano significativi (valori $p > 0,05$). La curva di regressione lineare viene mostrata nella Figura 11 seguente.

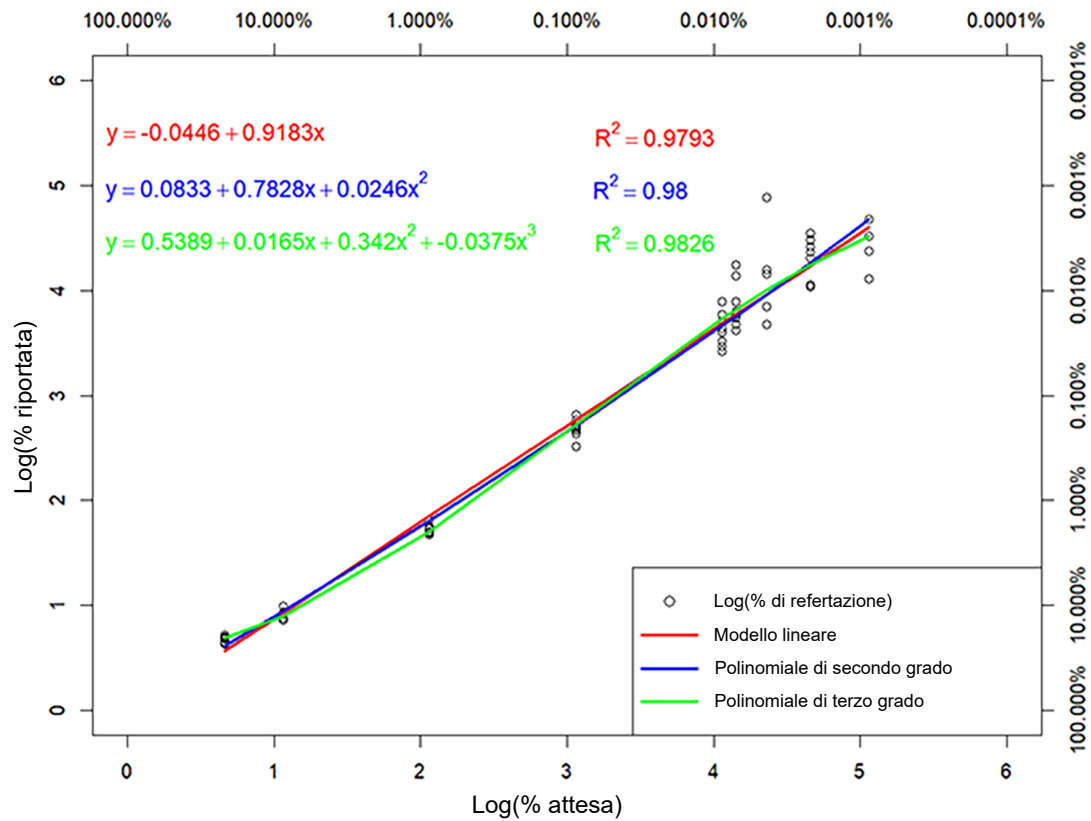


Figura 11. Curve di regressione lineare per il trascritto di punti di rottura e1a2

Le intercette, pendenze e valori R2 della regressione stimati dal modello lineare sono mostrati nella Tabella 3.

Tabella 3. Coefficienti di regressione dal modello lineare

Punto di rottura	Intercetta	Pendenza	R ²
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Collettivamente, i dati supportano un'osservazione di linearità da ~25%/RL 0,60 a 0,001%/RL5 con una DS massima di 0,26. L'intervallo refertabile si estende dai limiti di linearità a 25%/RL0,6 al LoQ a 0,0065%/RL4,19.

20.2 Sensibilità analitica (Limite di rilevamento, Limite di quantificazione, Limite del bianco)

Il limite di rilevamento (LoD) per il punto di rottura e1a2 è stato stimato analizzando le diluizioni seriali dei campioni clinici di analisi positivi alla LLA [$>10\%$]. I dati tra diluizioni sono stati compilati e il LoD è stato stimato utilizzando l'analisi di regressione probit. L'analisi risultante ha prodotto un LoD stimato di 0,0070% per il punto di rottura e1a2.

Il LoD è stato verificato adattando il metodo non parametrico descritto nelle linee guida CLSI, EP17-A2 (Tabella 4). Tre campioni clinici di analisi unici positivi a LLA che rappresentano il punto di rottura e1a2 sono stati diluiti a un livello target di 0,0065%. 215 replicati sono stati testati da 4 operatori in 3 lotti di kit di test nell'arco di 3 giorni.

Tabella 4. Limite di rilevamento verificato in %

Punto di rottura	Positivi/replicati	% di positivi	Rapporto % medio
e1a2	206/215	96,0%	0,0065%

Il LoD di Xpert BCR-ABL Ultra p190 per e1a2 è 0,0065%.

Il limite di quantificazione (LoQ) è stato stimato con i dati ottenuti dagli studi sul LoD e di linearità. La media e la deviazione standard per i valori % BCR-ABL p190/ABL sono state calcolate per i replicati a livelli uguali al LoD o maggiori con positività maggiore o uguale al 95%. Il LoQ è indicato come la segnalazione minima percentuale di BCR-ABL p190/ABL che può essere quantificata in modo affidabile, soddisfacendo l'obiettivo di precisione che consiste nella rilevazione del trascritto e1a2 con una positività maggiore o pari al 95%, con una deviazione standard dalla riduzione logaritmica (RL) di $\leq 0,36$ RL. Il LoQ del test è vincolato dal LoD del test; pertanto, il LoQ è stato determinato come uguale al LoD, 0,0065%. I risultati sono stati valutati anche rispetto ai criteri di accettazione della deviazione standard (DS) della RL di $\leq 0,36$ ed erano compresi nei criteri di accettazione.

È stato condotto uno studio sul limite del bianco (LoB) per stimare la probabilità di rilevamento del rapporto percentuale più elevato di BCR-ABL p190/ABL nel $\geq 95\%$ di campioni di analisi di sangue intero con EDTA p190-negativi. Il LoB del test è stato determinato da 387 punti dati validi in un'analisi non parametrica non censurata, come descritto in CLSI EP17-A2, per stimare un LoB di BCR-ABL p190/ABL di 0,00032%.

20.3 Specificità analitica

La specificità analitica di Xpert BCR-ABL Ultra p190 è stata valutata analizzando campioni di analisi di sangue intero in EDTA di venti (20) donatori sani (non CML e non LLA). Ogni campione è stato analizzato in quadruplicato.

Il segnale di BCR-ABL p190 è stato rilevato in uno degli 80 replicati: ciò dimostra che la specificità analitica del test Xpert BCR-ABL Ultra p190 per il trascritto di BCR-ABL p190 era del 98,8%.

20.4 Contaminazione da carry-over

È stato condotto uno studio per dimostrare che le cartucce chiuse monouso GeneXpert impediscono la contaminazione da carry-over da cartucce eseguite sequenzialmente nello stesso modulo. Per dimostrare quest'ipotesi i campioni di analisi negativi sono stati esaminati dopo campioni di analisi altamente positivi nello stesso modulo GeneXpert. Questo studio consisteva nel trattamento di un campione di analisi normale EDTA **NEGATIVO (NEGATIVE)** (sangue LLA-negativo) nello stesso modulo GeneXpert immediatamente dopo un campione altamente **POSITIVO (POSITIVE)** (sangue LLA-positivo simulato) con cellule SUP-B15 addizionate al sangue LLA-negativo per produrre $\geq 10\%$. Lo schema di analisi è stato ripetuto 10 volte per ogni campione di analisi, iniziando e terminando con uno negativo, su due moduli GeneXpert e ha prodotto 21 negativi e 20 positivi per modulo. Tutti i venti campioni di analisi BCR-ABL p190 positivi sono stati segnalati correttamente come **BCR-ABL p190 RILEVATO [###%] (BCR-ABL p190 DETECTED [###%])**, mentre tutti i ventuno campioni di analisi BCR-ABL p190 negativi sono stati segnalati correttamente come **BCR-ABL p190 NON RILEVATO [Trascritto ABL sufficiente] (BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**.

20.5 Sostanze potenzialmente interferenti

Questo studio ha valutato cinque sostanze che possono essere presenti nei campioni di analisi di sangue intero in EDTA e possono interferire con le prestazioni del test Xpert BCR-ABL Ultra p190. I composti e i livelli testati (vedere la Tabella 5) si basavano sulle linee guida del documento CLSI EP07-A2. Le sostanze interferenti sono state analizzate nel background di campioni di analisi di sangue intero in EDTA con LLA creati appositamente con cellule SUP-B15 con

LLA che rappresentano tre livelli con cinque campioni di analisi per livello: > 1%, 0,1-0,02% e Negativo. I controlli dei test consistevano in cellule SUP-B15 in sangue intero in EDTA al rispettivo livello di trascritto di BCR-ABL p190 senza la sostanza interferente. Ciascun campione di analisi LLA è stato testato in assenza e in presenza delle cinque sostanze interferenti individuali a 4 replicati per condizione.

Una sostanza è stata considerata non interferente se in sua presenza la media del rapporto % osservata era entro la differenza tripla rispetto al controllo.

Non sono stati osservati effetti inibitori clinicamente significativi sul test Xpert BCR-ABL Ultra p190 con le sostanze interferenti valutate in questo studio. Benché siano state osservate alcune variabilità e differenze statisticamente significative (valore $p < 0,05$) in alcune condizioni testate, i rapporti % segnalati per le condizioni del test e di controllo rientravano nell'intervallo accettabile della differenza tripla.

Tabella 5. Sostanze potenzialmente interferenti analizzate con Xpert BCR-ABL Ultra p190

Sostanze interferenti	Concentrazione analizzata
Bilirubina non coniugata	20 mg/dl
Colesterolo totale	500 mg/dl
Trigliceridi totali (lipidi)	3000 mg/dl
Eparina	3500 U/l
EDTA (prelievo breve)	900 mg/dl

21 Riproducibilità e precisione

La riproducibilità e la precisione del test Xpert BCR-ABL Ultra p190 sono state valutate in uno studio multicentrico in conformità con la norma CLSI EP05-A3, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline" e CLSI EP15-A3, "User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline".

Tabella 6 mostra il pannello di cinque campioni di analisi preparati e inclusi nel presente studio.

Tabella 6. Pannello di riproducibilità per Xpert BCR-ABL Ultra p190

Campione di analisi n.	Descrizione del pannello	Livello BCR-ABL p190/ABL rilevato (rapporto percentuale)
1	RL1: e1a2	~10%
2	RL2: e1a2	~1%
3	RL3: e1a2	~0.1%
4	RL3,7: e1a2	~0,02%
5	Negativo	Non rilevato

Ciascuno dei cinque componenti del pannello è stato analizzato in duplicato due volte al giorno in sei giorni diversi da due diversi operatori in tre siti diversi. Sono stati utilizzati tre lotti di kit Xpert BCR-ABL Ultra p190 e ciascun operatore ha eseguito i test con un lotto (3 siti x 2 operatori x 3 lotti x 2 giorni (2 giorni di analisi per lotto delle cartucce) x 2 sessioni x 2 replicati = 144 replicati/componente del pannello).

Tabella 7. Deviazione standard e coefficiente di variazione (CV) con il rapporto percentuale (PR)

Componente del pannello	N	Media	Centro		Op		Lotto		Giorno		Sessione		All'interno del test		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
RL1: e1a2 (rapporto ~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
RL2: e1a2 (rapporto ~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
RL3: e1a2 (rapporto ~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
RL3,7: e1a2 (rapporto ~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 Un campione ha prodotto un risultato indeterminato dopo il test e la sua ripetizione.

Il totale del coefficiente di variazione (CV%) del rapporto percentuale che segnala i valori quantitativi per i campioni positivi era compreso tra 25,53 e 77,30. Il componente della varianza per i valori che hanno segnalato il PR non ha superato il 50% della varianza totale del test per i seguenti fattori: laboratorio vs laboratorio, operatore vs operatore, giorno vs giorno e sessione vs sessione. L'analisi della varianza del valore quantitativo medio del PR ha prodotto risultati simili.

Tabella 8. Deviazione standard e coefficiente di variazione (CV) della riduzione logaritmica (RL)

Componente del pannello	N	Media	Centro		Op		Lotto		Giorno		Sessione		All'interno del test		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
RL1: e1a2 (rapporto ~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
RL 2: e1a2 (rapporto ~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
RL 3: e1a2 (rapporto ~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
RL 3,7: e1a2 (rapporto ~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 Un campione di analisi ha prodotto un risultato indeterminato dopo il test e la sua ripetizione.

La percentuale totale del coefficiente di variazione (CV) di RL che segnala i valori quantitativi per i campioni positivi era compresa tra 26,17 e 88,68.

22 Riferimenti bibliografici

1. Faderl S. et al. Clinical Significance of Cytogenetic 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*. August 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 (consultare l'ultima edizione). <https://www.cdc.gov/labs/bmbi/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (fare riferimento all'ultima edizione).
11. Health-care Waste. Organizzazione Mondiale della Sanità. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
12. REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le Direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.
13. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

23 Ubicazione della sede centrale Cepheid

Sede globale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

24 Assistenza tecnica

Prima di contattare il Supporto Tecnico di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

- Nome del prodotto
- Numero di lotto
- Numero di serie dello strumento
- Messaggi di errore (se presenti)
- Versione del software e, se pertinente, codice riportato sull'etichetta di servizio (Service Tag) del computer

Stati Uniti d'America

Telefono: + 1 888 838 3222

E-mail: techsupport@cepheid.com

Francia

Telefono: + 33 563 825 319

E-mail: support@cepheideurope.com

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Supporto tecnico di Cepheid sono disponibili sul sito web:
www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

25 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Marchio CE - Conformità europea
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Codice lotto
	Non riutilizzare
	Data di scadenza
	Attenzione
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Produttore
	Paese di produzione
	Contenuto sufficiente per <i>n</i> test
	Controllo
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Liquidi infiammabili
	Tossicità riproduttiva e per organi
	Mandatario nella Comunità Europea
	Mandatario in Svizzera
	Importatore

Simbolo	Significato
Country of Origin: Sweden	Paese di origine: Svezia
Country of Origin: USA	Paese di origine: Stati Uniti d'America



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefono: + 1 408 541 4191

Fax: + 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 Cronologia delle revisioni

Descrizione delle modifiche: 302-6673-IT, da Rev. D a Rev. E

Sezione	Descrizione delle modifiche
Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright	Anno di copyright aggiornato.
Materiali in dotazione	Chiarita l'origine animale dello stabilizzatore proteico utilizzato nel prodotto.

Sezione	Descrizione delle modifiche
Controllo qualità	Aggiornata la descrizione del controllo per il trattamento dei campioni.
Sede centrale di Cepheid	Rimosso l'indirizzo della sede centrale europea.
Tabella dei simboli	Aggiornati i simboli secondo la norma EN ISO 15223-1:2021, aggiunti i simboli del Paese di origine per gli USA e la Svezia e aggiornato l'indirizzo del Rappresentante autorizzato nella Comunità europea.