

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

REF GXBCRABLP190-CE-10

Bruksanvisning



Varumärken, patent och upphovsrättsmeddelanden

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-logotypen, GeneXpert® och Xpert® är varumärken som tillhör Cepheid, registrerade i USA och andra länder.

Alla andra varumärken tillhör respektive ägare.

VID KÖPET AV DENNA PRODUKT ÖVERFÖRS DEN ICKE-ÖVERLÅTBARA RÄTTIGHETEN TILL KÖPAREN ATT ANVÄNDA PRODUKTEN I ENLIGHET MED DENNA BRUKSAVISNING. INGA ANDRA RÄTTIGHETER ÖVERFÖRS UTTRYCKLIGEN, UNDERFÖRSTÅTT ELLER GENOM ESTOPPEL. VIDARE ÖVERFÖRS INGA RÄTTIGHETER TILL ÅTERFÖRSÄLJNING I SAMBAND MED KÖPET AV PRODUKTEN.

© 2022–2026 Cepheid.

Se Avsnitt 26, Revisionshistorik för en beskrivning av ändringarna.

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

För *in vitro*-diagnostisk användning.

1 Egendomsskyddat namn

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190

2 Gångse beteckning

Xpert BCR-ABL Ultra p190

3 Avsett syfte

3.1 Avsedd användning

Xpert[®] BCR-ABL Ultra p190-testet är ett *in vitro*-diagnostiskt test för användning på Cepheid GeneXpert[®] Dx System för kvantifiering av BCR-ABL1 p190- och ABL1 mRNA-transkript i perifera blodprover från diagnostiserade Philadelphia-positiva patienter (Ph+) [t(9;22)(q34;q11)] med kronisk myeloid leukemi (KML) och akut lymfoblastisk leukemi (ALL) som uttrycker BCR-ABL1-fusionstranskript typ e1a2. Vid testet används en automatiserad, kvantitativ, omvänd transkriptaspolimeraskedjereaktion i realtid (RT-qPCR) i avsikt att mäta det procentuella förhållandet hos BCR-ABL1 p190 mRNA kontra ABL1 mRNA hos t(9;22)-positiva KML- eller ALL-patienter under uppföljning av behandlingen.

Testet övervakar inte andra fusionstranskript som härrör från t(9;22) och är inte avsett för diagnosen KML eller ALL.

3.2 Avsedd användare/miljö

Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet är avsett att användas av utbildade användare i laboratoriemiljö.

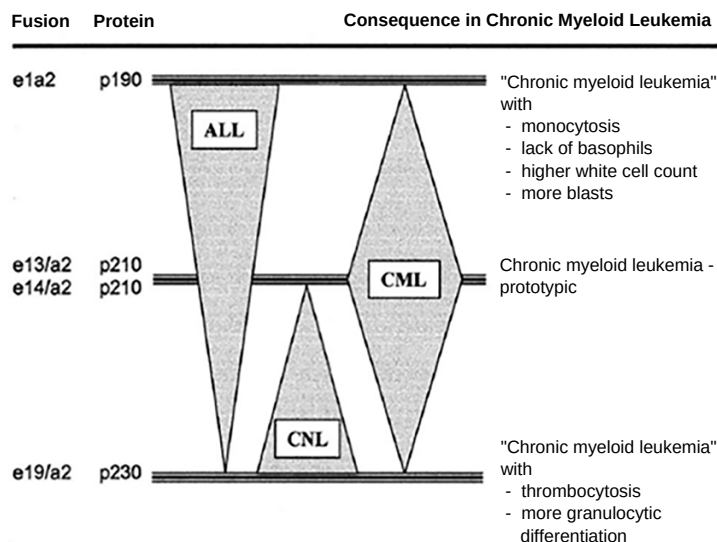
4 Sammanfattning och förklaring

Philadelphiakromosom (Ph) i är en förkortad kromosom som är resultatet av translokation av 3'-delen av ABL-genen på kromosom 9 till 5'-delen av BCR-genen på kromosom 22. Brytpunkten på ABL-genen förekommer ganska konstant i 5'-ändan av exon a2 medan brytpunkterna för BCR-genen varierar, men de är huvudsakligen klustrade i 3 olika områden (brytpunktsklusterområde, eller Breakpoint Cluster Region, BCR). Beroende på brytpunkten på kromosom 22 förenas segment i olika storlek med 3'-sekvenserna av ABL-genen. Det finns stora (M-bcr), mindre (m-bcr) och mikrobrytpunkter som var och en resulterar i mRNA-fusionstranskript av olika storlek.¹

Ph-kromosomen observeras hos mer än 95 % av alla patienter med kronisk myeloisk leukemi (KML) och upp till 20–30 % av alla vuxna med akut lymfoblastisk leukemi (ALL), 5 % av alla barn med ALL och hos 1–2 % av patienterna med akut myeloid leukemi (AML).¹

I KML finns BCR-ABL p210 hos mer än 95 % av patienterna och finns även hos cirka 30 % av de Ph-positiva (Ph+) ALL-patienterna. Hos de återstående patienterna med Ph+ ALL och i sällsynta fall av KML (1–3%), förekommer BCR-ABL p190. Vid KML kan BCR-ABL p210 och p190 samexistera. Både p210- och p190-fusionsproteinerna visar ökad tyrosinfosfokinasaktivitet jämfört med det normala p145 c-abl-proteinet.^{1,2}

Hos Ph+ ALL-patienter detekteras p190-formen hos cirka 80 % av Ph+ ALL-fall i barndomen och 20–40 % av Ph+ ALL-fall hos vuxna.¹ Dessutom ökar frekvensen av Ph-kromosomen med ålder och finns hos 10 % i åldrarna 15–30, 25 % i åldrarna 40–49 och 20–40 % hos ALL-patienter äldre än 50 år.^{3–5}



Akut lymfoblastisk leukemi (ALL) är en hematologisk cancerform där det finns en ansamling av omogna, dåligt differentierade vita blodkroppar, lymfoblaster, i benmärg, blod och andra vävnader. ALL klassificeras som en sällsynt cancersjukdom (särskjuddomsnummer ORPHA:513; GARD 522) med en prevalens på 1,7/100 000. I USA ALL den vanligaste cancerformen hos barn från födseln till 15 års ålder och står för 75 % av alla fall av barnleukemi.^{6 7}

Närvaron av Ph-kromosomen hos ALL-patienter efter konsolidering är en signifikant prediktor för återfall och övervakning rekommenderas. Emellertid finns det för närvarande inga etablerade riktlinjer för att definiera övervakningsfrekvensen för ALL-patienter där mätningar av BCR-ABL p190-transkript används för detektering av minimal restsjukdom (Minimal Residual Disease, MRD). NCCN:s riktlinjer har definitiva tidpunkter för övervakning av BCR-ABL p210 hos CML-patienter, så mätning av BCR-ABL p190 för att övervaka ALL görs med liknande frekvens.⁵

Kronisk myeloid leukemi (CML) kännetecknas av närvaron av Ph-kromosomen där > 95 % av fallen är associerade med BCR-ABL p210 och endast 1–3 % av fallen med BCR-ABL p190.^{2 3}

Till skillnad från BCR-ABL i Världshälsoorganisationens internationella standard (WHO IS) för p210-transkriptet, finns det för närvarande ingen internationellt erkänd referens som kan användas för att standardisera p190-fusionstranskriptet. Därför detekterar nuvarande molekylära analyser för p190 typiskt sett fusionstranskriptet och rapporterar det som en procentandel i förhållande till uttrycket av en intern kontrollgen (t.ex. ABL).

5 Metodens princip

Xpert BCR-ABL Ultra p190 är ett automatiskt test för kvantifiering av mängden BCR-ABL1 p190 transkript som kvoten av BCR-ABL p190/ABL1. Testet utförs på Cepheid GeneXpert Dx System, som automatiserar och integrerar provrening, nukleinsyraamplifiering och målsekvensdetektion i enkla eller komplexa prover med hjälp av RT-PCR i realtid och nestade PCR-tester. Systemen består av ett instrument, en dator och förladdad mjukvara för att köra tester och granska resultaten. Systemen kräver användning av kasserbara GeneXpert-kassetter för engångsbruk som rymmer RT-PCR- och nestade PCR-reagenser och som utgör platsen för RT-PCR- samt nestade PCR-processer. För en fullständig beskrivning av systemet, se lämplig *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Xpert BCR-ABL Ultra p190-kassetten innehåller reagenser för att detektera BCR-ABL1 p190-fusionsgener som är ett resultat av en mindre brytpunkt, translokation e1a2 och ABL1-transkriptet som en endogen kontroll i perifera blodprover. Mängden BCR-ABL1 p190-transkript kvantifieras som procent ratio av BCR-ABL1 p190/ABL1. Det finns två kontroller som ingår i Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet – den endogena kontrollen (ABL1) och en probe check kontroll (PCC). Den endogena kontrollen för ABL1 normaliserar målet BCR-ABL1 p190 och säkerställer att tillräckligt med prov används i testet. PCC verifierar reagensrehydrering, PCR-rörets fyllning och att alla reaktionskomponenter, inklusive prober och färgämnen, finns och fungerar i kassetten.

6 Reagenser och instrument

6.1 Material som medföljer

Xpert BCR-ABL Ultra p190-kitet (GXBCRABLP190-CE-10) innehåller tillräckligt med reagens för att bearbeta 10 prover eller kvalitetskontrollprover. Kitet innehåller följande:

Xpert BCR-ABL Ultra-reagenser

10 av varje per kit

Proteinas K (PK)	10 × 130 µl per flaska
Komponent	Reagensingrediens
Proteinas K	< 5 %

Lyseringsreagens (LY) (guanidiniumklorid)	10 × 5,3 ml per flaska
Komponent	Reagensingrediens
Guanidiniumklorid	25–50 %
Urea	25–50 %
Natriumdodecylsulfat	< 2 %

Tvättreagens	10 × 2,9 ml per ampull
Komponent	Reagensingrediens
Etanol	< 50 %
Guanidintiocyanat	< 50 %

Xpert BCR-ABL Ultra p190-kassetter med integrerade reaktionsrör		10 per kit
Komponent	Reagensingrediens	Mängd
Kula 1 (frystorkad)	Enzym: Taq DNA-polymeras < 50 U/kula	1 per kassett
	dNTP:er < 0,05 %	
Kula 2 (frystorkad)	Primrar och sonder < 0,005 %	1 per kassett
Kula 3 (frystorkad)	Primers och sonder < 0,005 %	1 per kassett
Kula 4 (frystorkad)	Enzym: Taq DNA-polymeras < 50 U/kula	1 per kassett
	dNTP:er < 0,05 %	
Sköljreagens	Kaliumklorid < 4 %	2 ml per kassett
	Natriumazid < 0,1 %	
	Polyetylenglykol < 15 %	
	Tween 20 < 0,2 %	
Elueringsreagens	Trizma-bas < 0,3 %	2,5 ml per kassett
	Trizma hydroklorid < 0,1 %	

Natriumazid < 0,05 %

CD-skiva**1 per kit**

- Analysdefinitionsfil (Assay Definition File, ADF)
- Instruktioner för import av ADF-filen till GeneXpert Dx-programvaran
- Bruksanvisning (bipacksedel)

Obs! Säkerhetsdatablad (SDS) finns tillgängliga på www.cepheid.com eller www.cepheidinternational.com under fliken SUPPORT.

Obs! Proteinstabilisatorn av bovin ursprung i kulorna som ingår i denna produkt har framställts och tillverkats uteslutande av bovin plasma från USA. Inget protein från idisslare eller annat djurprotein gavs till djuren. Djuren testades och godkändes före och efter slakt. Under bearbetning blandades inte materialet med andra djurmaterial.

Obs! Analysintyg och datablad för lotspecifikationer finns att tillgå via Cepheids tekniska support.

6.2 Nödvändigt material som ej medföljer

- GeneXpert Dx System (katalognumret varierar beroende på konfiguration): GeneXpert-instrument, dator, streckkodsläsare och användarhandbok.
- För GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx software version 6.2 eller senare
- Skrivare: Om en skrivare behövs, kontakta Cepheids tekniska support för att ordna med inköp av en rekommenderad skrivare.
- Vortexblandare
- Mikrocentrifug (minst 1 000 x g)
- Pipetter och pipettspetsar med aerosolfilter
- 50 ml koniska rör
- Ren etanol av reagenskvalitet

7 Förvaring och hantering

- Förvara Xpert BCR-ABL Ultra p190-kitets innehåll vid 2–8 °C fram till utgångsdatumet på etiketten.
- Öppna inte kassetlocket förrän du är redo att genomföra testet.
- Använd inte kassetter som har passerat utgångsdatumet.
- Tvättreagensen är en klar, färglös vätska. Använd inte tvättreagensen om den blivit grumlig eller missfärgad.
- Ta ut blodprovet, kassetten och provförberedelsereagensen från förvaringen tjugo (20) minuter innan proceduren startas så att de kan nå rumstemperatur (20–30 °C).

8 Varningar och försiktighetsåtgärder

8.1 Allmänt

- För *in vitro*-diagnostisk användning.
- Behandla alla biologiska prover, inklusive förbrukade kassetter och reagenser, som om de kan överföra smittsubstanten. Eftersom det ofta är omöjligt att veta vilket prov som kan vara smittförande ska alla biologiska prover behandlas med sedvanliga försiktighetsåtgärder. Riktlinjer för provhantering finns tillgängliga hos U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁹ och Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁰
- Följ de säkerhetsrutiner som har fastställts av din institution vid arbete med kemikalier och hantering av biologiska prover.
- Prestanda och egenskaper för detta test har endast fastställts med blod som samlats i EDTA-rör. Prestandan hos testet med andra provtyper eller prover har inte utvärderats.
- För tillförlitliga resultat krävs en godtagbar insamling, transport, förvaring och bearbetning av prover. Felaktiga testresultat kan uppstå på grund av från felaktig provtagning, hantering eller förvaring, tekniska fel, provförväxling

eller på grund av att måltranskriptet i provet ligger under testets detektionsgräns. Anvisningarna i bipacksedeln och *GeneXpert Dx System Operator Manual* måste följas noggrant för att undvika felaktiga resultat.

- Om Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet utförs utanför kitets eller provets rekommenderade intervall för lagringsintervall och tid kan följden bli felaktiga eller ogiltiga resultat.
- Biologiska prover, överföringsanordningar och förbrukade kassetter bör anses kunna överföra smittsubstanter som kräver sedvanliga försiktighetsåtgärder. Följ institutionens rutiner för miljöavfall för korrekt bortskaffande av förbrukade kassetter och oanvända reagenser. Dessa material kan ha egenskaper som kännetecknar kemiskt farligt avfall som kräver särskilda nationella eller regionala bortskaffningsmetoder. Om nationella eller regionala föreskrifter inte ger tydliga riktlinjer för korrekt bortskaffande ska biologiska prover och förbrukade kassetter kasseras enligt WHO:s (Världshälsoorganisationens) föreskrifter om hantering och bortskaffande av medicinskt avfall.¹¹

8.2 Prov

- Upprätthåll korrekta förvaringsförhållanden under provtransport för att säkerställa provets integritet (se Avsnitt 10). Provets hållbarhet under andra transportförhållanden än dem som rekommenderas har inte utvärderats.
- Frys inte helblodsprov.
- Korrekt provinsamling, lagring och transport är avgörande för korrekta resultat.

8.3 Test/reagens

- Ersätt inte Xpert BCR-ABL Ultra p190-reagenser med andra reagenser.
- Öppna inte Xpert BCR-ABL Ultra p190-kassetlocket förutom när du tillsätter prov och tvättreagens.
- Använd inte en kassett som tappats efter uttagandet ur förpackningen.
- Skaka inte kassetten. Om kassetten skakas eller tappas efter öppnandet av kassetlocket kan ogiltiga resultat erhållas. Placera inte provets ID-etikett på kassetlocket eller på kassetten's streckkodsetikett.
- Använd inte en kassett med en skadad streckkodsetikett. Använd inte en kassett som har ett skadat reaktionsrör.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190-kassetter ska vara vid rumstemperatur (20 °C – 30 °C) när de används för testning.
- Varje Xpert BCR-ABL Ultra p190-kassett för engångsbruk används för att bearbeta ett test. Bearbetade kassetter får inte återanvändas.
- Återanvänd inte använda pipettspetsar.
- Använd inte en kassett om den verkar våt eller om lockförseglingen verkar vara bruten.
- Använd inte Xpert BCR-ABL Ultra p190-kassetten om ett reagens har tillsatts i fel öppning. Öppna inte Xpert BCR-ABL Ultra p190-kassetten efter att testet är klart.
- Avsätt en uppsättning pipetter och reagens som uteslutande används till provförberedelser.
- Använd rena laboratorierockar och handskar. Byt handskar mellan hanteringen av varje prov.
- I händelse av spill från prov eller kontroller, använd handskar och sug upp spillet med pappershanddukar. Rengör och desinficera noggrant alla laboratoriearbetsytor med en nyberedd lösning av 0,5 % natriumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten (utspätt hushållsblekmedel 1:10). Slutlig koncentration av aktivt klor bör vara 0,5 %. Efter att arbetsområdet är torrt, torka sedan av ytan med 70 % etanol. För utrustning, följ tillverkarens rekommendationer för dekontaminering av utrustningen. Alternativt, följ institutionens standardprocedurer vid kontamination eller ett spill.
- Använda kassetter kan innehålla såväl potentiellt smittsamma material som starkt amplifierade PCR-mål. Öppna inte eller försök inte att ändra på någon del av kassetten före kassering.

9 Kemiska faror^{12,13}

Obs! Säkerhetsdatabladen (SDB) finns tillgängliga på www.cephheid.com eller www.cephheidinternational.com på fliken **SUPPORT**.

Obs! Informationen nedan gäller proteinas K, lyserings-, tvätt- och sköljreagenserna.

- Faropiktogram enligt det globala harmoniserade systemet för klassificering och märkning av kemikalier: 
- Signalord: FARA
- **Faroangivelser enligt det globala harmoniserade systemet för klassificering och märkning av kemikalier (GHS)**
 - Skadligt vid förtäring H302
 - Mycket brandfarlig vätska och ånga H225
 - Irriterar huden H315
 - Orsakar allvarlig ögonirritation H319
 - Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad H336
 - Misstänks kunna orsaka genetiska defekter H341
- **Skyddsangivelser enligt det globala harmoniserade systemet för klassificering och märkning av kemikalier (GHS)**
 - **Förebyggande åtgärder**
 - Se säkerhetsdatabladet för särskilda instruktioner före användning.
 - Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna.
 - Använd personlig skyddsutrustning: handskar, ögonskydd, visir och kläder.
 - Används endast i väl ventilerade utrymmen.
 - Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor.
 - Undvik att inandas dimma, ångor och sprej.
 - Tvätta händerna noggrant efter hantering.
 - **Reaktion**
 - Vid BRAND: Använd lämpligt släckmedel.
 - Vid INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att han eller hon vilar i en ställning som underlättar andningen.
 - Vid obehag, kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
 - Vid SPILL: Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Vid HUDKONTAKT (även håret): Skölj huden med vatten/duscha.
 - Vid HUDIRRITATION: Sök läkarhjälp.
 - Vid KONTAKT MED ÖGONEN: Ta ur eventuella kontaktlinser. Skölj ögonen noggrant med vatten i flera minuter. Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.
 - Särskild behandling: se kompletterande åtgärder för första hjälpen i säkerhetsdatabladet.
 - Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp.
 - **Förvaring/avyttring**
 - Ska kylförvaras.
 - Behållarna ska vara väl tillslutna.
 - Innehållet/behållaren lämnas i enlighet med lokala, regionala, nationella och/eller internationella förordningar.

10 Insamling, transport och förvaring av prover

- För testet krävs helblodsprover som samlas in i EDTA-vakuumbor. Prover kan förvaras i upp till 72 timmar vid 2–8 °C före användning. Plasma ska inte separeras från blodkropparna.
- Korrekt insamling, förvaring och transport av prover är avgörande för testets funktion.

11 Metod

11.1 Innan du börjar

Ta ut blodprovet, provförberedelsereagensen och kassetterna från kylförvaringen tjugo (20) minuter innan proceduren startas så att de kan nå rumstemperatur. Centrifugera kortvarigt ned proteinas K (PK) i en mikrocentrifug.

Viktigt Ta ut kassetten ur kartongförpackningen innan du förbereder provet. (Se avsnitt Avsnitt 11.2, Provförberedelser.)

Viktigt Starta testet på GeneXpert Dx-instrumentet inom 1 timme från tillsättningen av det förberedda provet i kassetten.

11.2 Provförberedelser

11.2.1 Förberedelse av ett prov med okänt antal vita blodkroppar eller prover med färre än 30 miljoner vita blodkroppar per ml

1. Tillsätt 100 µl PK (protein K) i botten av ett nytt koniskt 50 ml-rör.
2. Kontrollera att blodprovet är väl blandat genom att vända provröret upp och ned 8 gånger före pipettering. Se tillverkarens anvisningar för EDTA-blodprovsvör.
3. Tillsätt 4 ml av blodprovet i röret som redan innehåller proteinas K.
4. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 3 sekunder.
5. Inkubera provet vid rumstemperatur i 1 minut.
6. Tillsätt 2,5 ml lyseringsreagens (LY) till samma rör.

Obs! Spara kvarvarande lyseringsreagens för användning igen i steg 13.

7. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder.
8. Inkubera provet vid rumstemperatur i 5 minuter.
9. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder.
10. Inkubera vid rumstemperatur i 5 minuter.
11. Blanda provet genom att knacka botten på röret 10 gånger.
12. Överför 1 ml av det förberedda lysatet till ett nytt koniskt rör på 50 ml.

Obs! Kvarvarande lysat kan användas för omtestning. Kvarvarande lysat förvaras vid 2–8 °C i upp till 4 timmar eller vid -20 °C eller längre i upp till 24 veckor.

13. Tillsätt 1,5 ml lyseringsreagens (LY), som sparats från steg 6, till det nya koniska röret som innehåller lysat.
14. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder.
15. Inkubera vid rumstemperatur i 10 minuter.
16. Till samma koniska rör tillsätter du 2 ml absolut etanol av reagenskvalitet (tillhandahålls av användaren).
17. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder. Ställ åt sidan.
18. Kassera eventuell kvarvarande PK- eller LY-reagens.

11.2.2 Förberedelse av ett prov som innehåller vita blodkroppar med över 30 miljoner celler/ml

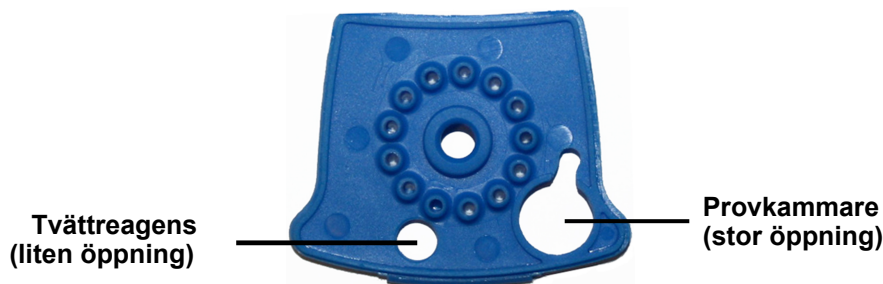
1. Tillsätt 100 µl PK (protein K) i botten av ett nytt koniskt 50 ml rör.
2. Kontrollera att blodprovet är väl blandat genom att vända provröret upp och ned 8 gånger direkt innan pipettering. Se tillverkarens anvisningar för EDTA-blodprovsvör.
3. Tillsätt 50 µL av blodprovet i röret som innehåller proteinas K.
4. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 3 sekunder.
5. Inkubera vid rumstemperatur i 1 minut.
6. Tillsätt 2,5 ml lyseringsreagens (LY) till samma rör.

7. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder.
8. Inkubera vid rumstemperatur i 5 minuter.
9. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder.
10. Inkubera vid rumstemperatur i 5 minuter.
11. Tillsätt 2 ml absolut etanol av reagenskvalitet (tillhandahålls av användaren) i samma koniska rör.
12. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder. Ställ åt sidan.
13. Kassera eventuell kvarvarande PK- eller LY-reagens.

11.3 Förbereda kassetten

Tillsätt provet i Xpert BCR-ABL Ultra p190-kassetten så här:

1. Ta ut kassetten ur pappförpackningen.
2. Kontrollera att kassetten inte är skadad. Kassetten får ej användas om den är skadad.
3. Lyft kassetlocket och överför hela innehållet i ampullen med tvättreagens (1) till kammaren för tvättreagens (den lilla öppningen). Se Figur 1.
4. Pipettera hela innehållet av det förberedda provet i provkammaren (den stora öppningen). Se Figur 1.



Figur 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Kasset (sett ovanifrån)

5. Stäng locket till kassetten. Säkerställ att locket snäpper stadigt på plats. Starta test (se Avsnitt 11.4, Starta testet).

11.4 Starta testet

I detta avsnitt beskrivs de grundläggande stegen för att köra testet. Utförliga anvisningar finns i *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Viktigt Innan du startar ett test ska du säkerställa att instrumentet kör GeneXpert Dx-programvaruversion 6.2 eller senare och att rätt ADF-fil (Assay Definition File) har importerats till programvaran.

Obs! De steg som ska följas kan skilja sig åt om systemadministratören har ändrat systemets standardarbetsflöde.

1. Sätt igång GeneXpert-instrumentet:
Om du använder GeneXpert Dx-instrumentet startar du först GeneXpert Dx-instrumentet och sedan datorn. GeneXpert-programvaran startar automatiskt. Om den inte startar dubbelklickar du på genvägsikonen för GeneXpert Dx-programvaran på skrivbordet i Windows®.
2. Logga in till GeneXpert-instrumentsystemets programvara med ditt användarnamn och lösenord.
3. I fönstret **GeneXpert System (GeneXpert-system)** klickar du på **Create Test (Skapa test)** (GeneXpert Dx). Fönstret **Create Test (Skapa test)** öppnas. Dialogrutan **Scan Patient ID barcode (Skanna streckkod för patient-ID)** visas.
4. Skanna eller skriv in Patient ID (Patient-ID). Om du skriver in patient-ID, se till att du skriver in det rätt. Patient-ID:t knyts till testresultaten och visas i fönstret **View Results (Granska resultat)** och på alla rapporter. Dialogrutan **Scan Sample ID barcode (Skanna streckkod för prov-ID)** visas.
5. Skanna eller skriv in Sample-ID (Prov-ID). Om du skriver in prov-ID:t, se till att du skriver in det rätt. Prov-ID:t knyts till testresultaten och visas i fönstret **View Results (Granska resultat)** och till alla rapporter. Dialogrutan **Scan Cartridge Barcode (Skanna kassetens streckkod)** visas.
6. Skanna streckkoden på kassetten. Programvaran fyller automatiskt i rutorna i följande fält med hjälp av streckkodsinformation: Select Assay (Välj analys), Reagent Lot ID (Reagenslots-ID), Cartridge SN (Kassetens serienummer) och Expiration Date (Utgångsdatum).

Obs! Upprepa testet med en ny kassett om streckkoden på kassetten inte skannas. Om du har skannat kassetten streckkod i programvaran och analysdefinitionsfilen (Assay Definition File, ADF) inte är tillgänglig visas en skärm som anger att filen inte är inläst i systemet. Kontakta Cepheids tekniska support om den här skärmen visas.

7. Klicka på **Start Test (Starta testet)**. Skriv in ditt lösenord i den dialogruta som visas om så krävs.
8. Öppna instrumentmodulens dörr med den blinkande gröna lampan och ladda kassetten.
9. Stäng dörren. Testet startas och den gröna lampan slutar blinka. När testet är klart släcks lampan.
10. Vänta tills systemet frigör dörregeln innan du öppnar moduldörren. Ta därefter ut kassetten.
11. Kassera förbrukade kassetter i lämpliga avfallsbehållare för prover enligt institutionens standardrutiner.

12 Granska och skriva ut resultat

I detta avsnitt anges de grundläggande stegen för att granska och skriva ut resultat. Utförliga anvisningar om hur man granskar och skriver ut resultaten finns i *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

1. Klicka på ikonen **View Results (Granska resultat)** för att visa resultaten.
2. Klicka på knappen **Report (Rapport)** i fönstret **View Results (Granska resultat)** när testet har slutförts för att visa och/eller generera en rapportfil i PDF-format.

13 Kvalitetskontroll

Varje test inkluderar en endogen kontroll (ABL) och en sondkontroll (PCC; Probe Check Control).

Endogen ABL-kontroll – Den endogena ABL-kontrollen verifierar att tillräckligt med prov används med testet. Dessutom detekterar denna kontroll provassocierad inhibering av realtids-PCR-testet. ABL godkänns om den uppfyller de tilldelade acceptanskriterierna.

PCC (Probe Check Control) – Före start av PCR-reaktionen mäter GeneXpert Dx-systemet fluorescenssignalen från sondaerna för att övervaka rehydreringen av kulan, fyllningen av reaktionsröret och att alla reaktionskomponenter fungerar i kassetten. PCC godkänns om den uppfyller de tilldelade acceptanskriterierna.

14 Tolkning av resultaten

Xpert BCR-ABL Ultra p190 kvantitativa utdata tillhandahålls som ett procent förhållande för BCR-ABL1 p190/ABL1. Exempel på möjliga resultat och tolkningar visas i Tabell 1.

Tabell 1. Xpert BCR-ABL Ultra p190 Möjliga resultat och tolkning av dessa

Sondkontroll*	Ct för ABL*	Ct för e1a2*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 Testresultat	Anmärkningar
GODKÄNT	GODKÄNT	POS	BCR-ABL p190 DETECTED [#.##%] (BCR-ABL p190 IDENTIFIERAT [#.##%])	Beräknat värde för procentuellt förhållande rapporteras. Se Figur 2.
			BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD;<0.0065%] (BCR-ABL p190 DETEKTERAT [under detektionsgränsen; < 0,0065 %])	Beräknat procentuellt förhållande är under detektionsgränsen och rapporteras inte. Se Figur 3.
			BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ] (BCR-ABL p190 DETEKTERAT [över den övre kvantifieringsgränsen])	Beräknat procentuellt värde är över kvantifieringsgränsen och rapporteras inte. Se Figur 4.
		NEG	BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (BCR-ABL p190 EJ DETEKTERAT [tillräckligt ABL-transkript])	e1a2-Ct är noll eller över den accepterade tröskelgränsen. Se Figur 5.

Sondkontroll*	Ct för ABL*	Ct för e1a2*	Xpert BCR-ABL Ultra p190 Testresultat	Anmärkningar
	EJ GODKÄNT	OGILTIGT	INVALID [Too high BCR-ABL p190 transcripts] (OGILTIGT [för högt BCR-ABL p190-transkript]).	e1a2-Ct är under den accepterade tröskelgränsen.
		POS, NEG eller OGILTIGT	INVALID [No ABL transcript] (OGILTIGT [inget ABL-transkript])	värdet för Ct-ABL är noll. Inget ABL detekterat. Se Figur 6.
			INVALID [Insufficient ABL transcript] (OGILTIGT [otillräckligt ABL-transkript])	ABL-Ct är över den accepterade tröskelgränsen. Se Figur 7.
			INVALID [Too high ABL transcript] (OGILTIGT [för högt ABL-transkript])	ABL-Ct är under den accepterade tröskelgränsen.
		OGILTIGT	INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts] (OGILTIGT [för högt BCR-ABL p190- och ABL-transkript])	Båda Ct-värdena för e1a2 och ABL ligger under de accepterade tröskelgränserna. Se Figur 8.
EJ GODKÄNT	PASS (GODKÄNT) eller FAIL (EJ GODKÄNT)	POS, NEG eller INVALID (OGILTIGT)	ERROR (FEL)	Sondkontrollen uppfyllde inte acceptanskriterierna. Se Figur 9.
* Mer information finns på fliken Analyte Results (Analytresultat) i programvaran till GeneXpert Dx-systemet.				

GeneXpert-systemen beräknar resultaten automatiskt baserat på värden för *cycle threshold* (Ct) som genereras av testet och lotspecifika parametrar som tilldelats under tillverkningen. Programvaran tillämpar följande algoritm, där ΔCt -värdet (delta-Ct) erhålls från ABL-Ct minus BCR-ABL p190-Ct, och effektivitet (*E*) och skalningsfaktor (*SF*) är lotspecifika värden:

$$\text{Procentuellt förhållande} = \text{effektivitet}^{\Delta Ct} \times \text{skalningsfaktor} \times 100$$

Obs!

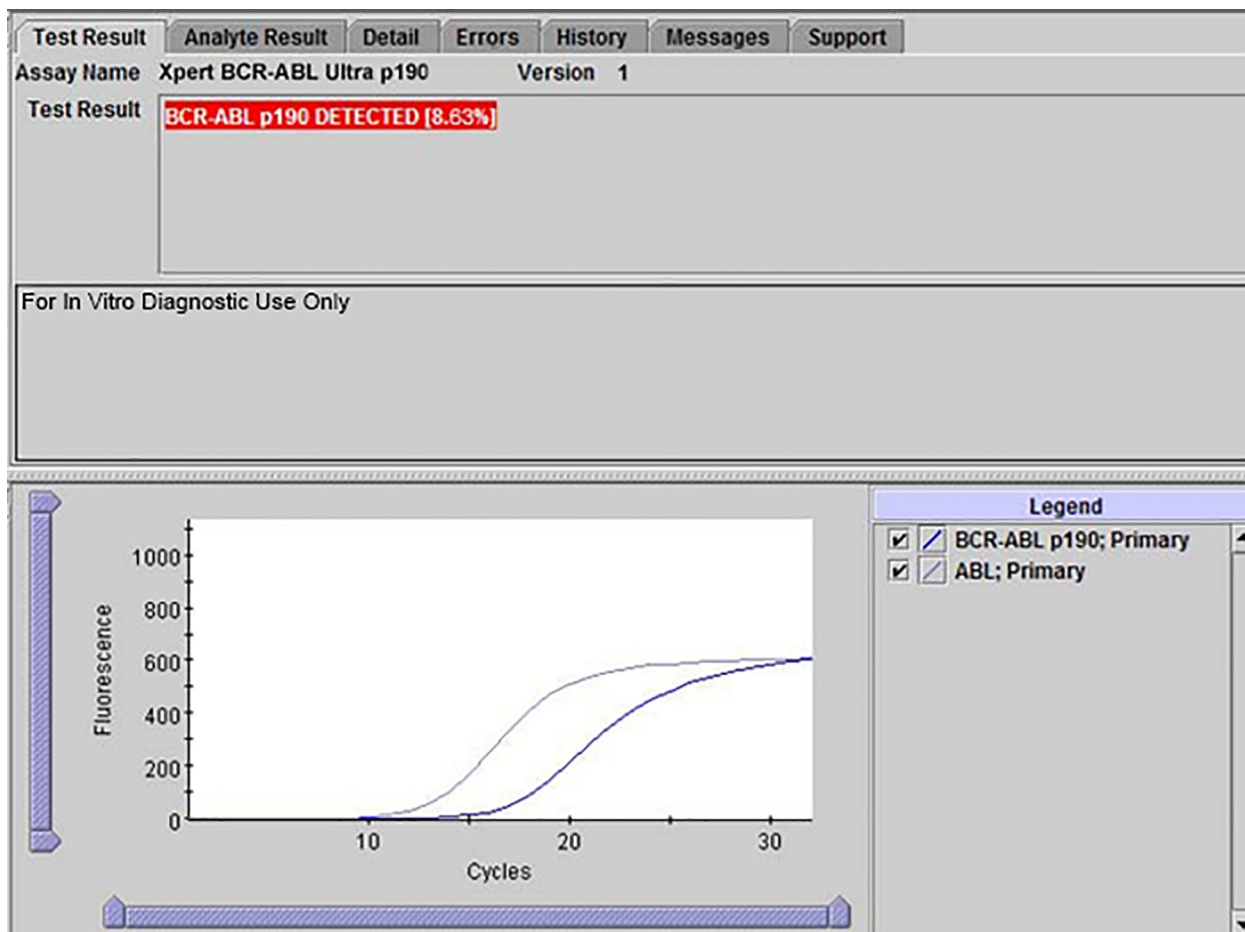
Med hjälp av effektivitets- och skalningsfaktorvärdena kalibreras kvantifieringen av BCR-ABL1 p190 (e1a2) och ABL1-transkripten för att kopiera antalet syntetiska BCR-ABL p190 och ABL1 *in vitro*-transkriberat RNA (IVT-RNA) enligt primära standarder. Effektivitets- och skalningsfaktorvärden finns integrerade i streckkoden till varje kassett. Datablad för lotspecifikationer finns att tillgå via Cepheids tekniska support.

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

För resultatet "BCR-ABL p190 DETECTED [###%]" (BCR-ABL p190 DETEKTERAT [### %]) kan BCR-ABL p190 detekteras med BCR-ABL p190-Ct större än eller lika med "8" och mindre än eller lika med gränsvärdet "32" och ABL-Ct större än eller lika med "8" och mindre än eller lika med "18".

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

Resultat: BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%] (BCR-ABL p190 DETEKTERAT [8,63 %]). Se Figur 2.



Figur 2. GeneXpert Dx Se resultatfönster: BCR-ABL p190 DETECTED [8.63%] (BCR-ABL p190 IDENTIFIERAT [8,63 %])

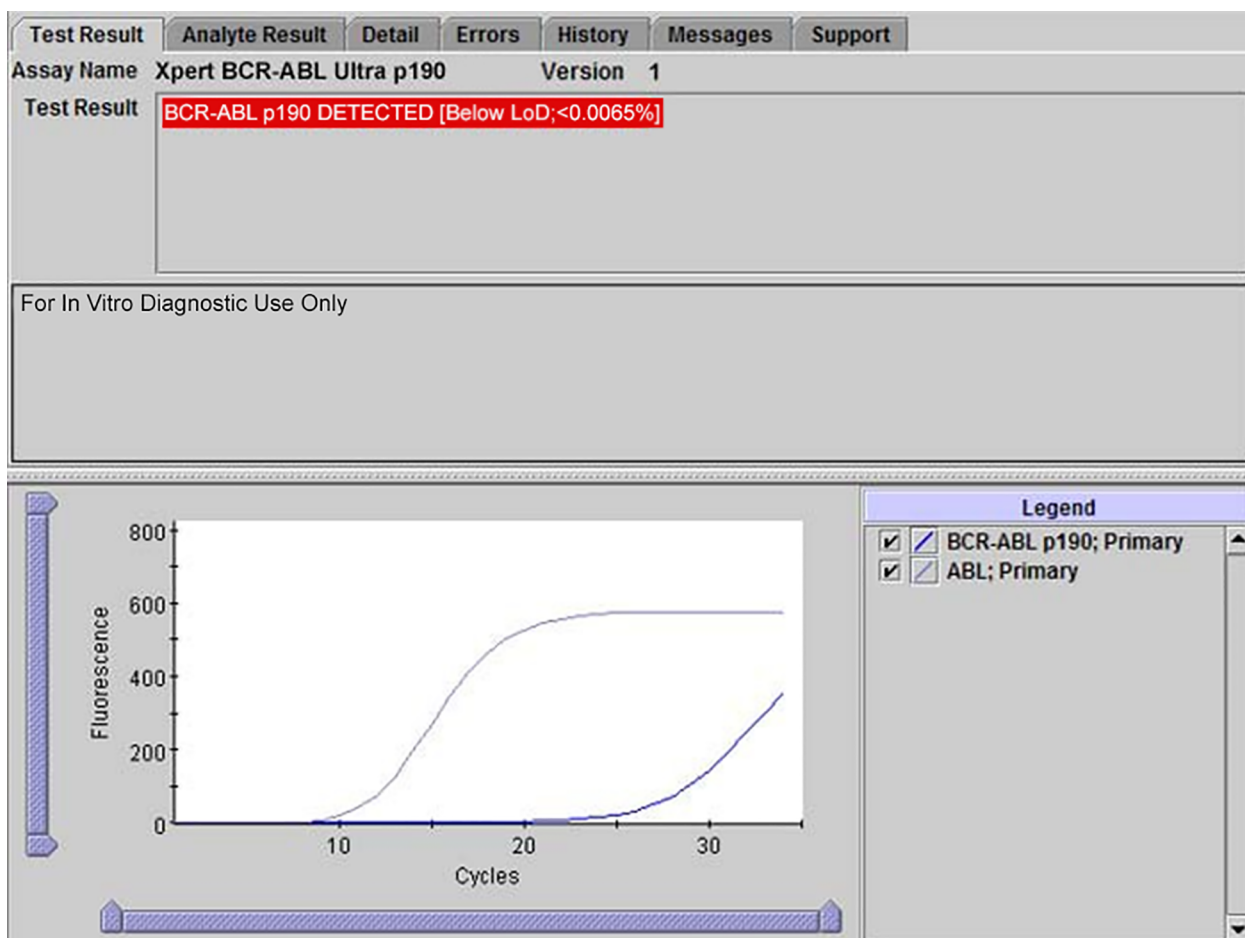
14.2 BCR-ABL p190 DETEKTERAD [under LoD: <0,0065 %]

BCR-ABL p190 har detekterats vid en nivå på <0,0065 %.

För ett resultat som ger ”**BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%] (BCR-ABL p190 DETEKTERAD [under LoD: <0,0065 %])**” kan BCR-ABL p190 detekteras med BCR-ABL p190 Ct större än eller lika med ”8” och mindre än eller lika med cut-off för ”32” och ABL Ct större än eller lika med ”8” och mindre än eller lika med till ”18”.

Exempel: ABL Ct = 10,1; BCR-ABL p190 Ct = 24,8; $\Delta Ct = -14,8$
 Lotspecifik $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 $\% \text{ ratio} = 2,05^{(-14,8)} \times 100 \times 1,76 = 0,0044 \%$ är mindre än det definierade testets LoD vid 0,0065 %

Resultat: **BCR-ABL p190 DETECTED [Below LoD; <0.0065%] (BCR-ABL p190 DETEKTERAD [under LoD: <0,0065 %])** Se... Figur 3.



Figur 3. GeneXpert Dx Se resultatfönster: BCR-ABL p190 DETEKTERAD [under LoD: <0,0065 %]

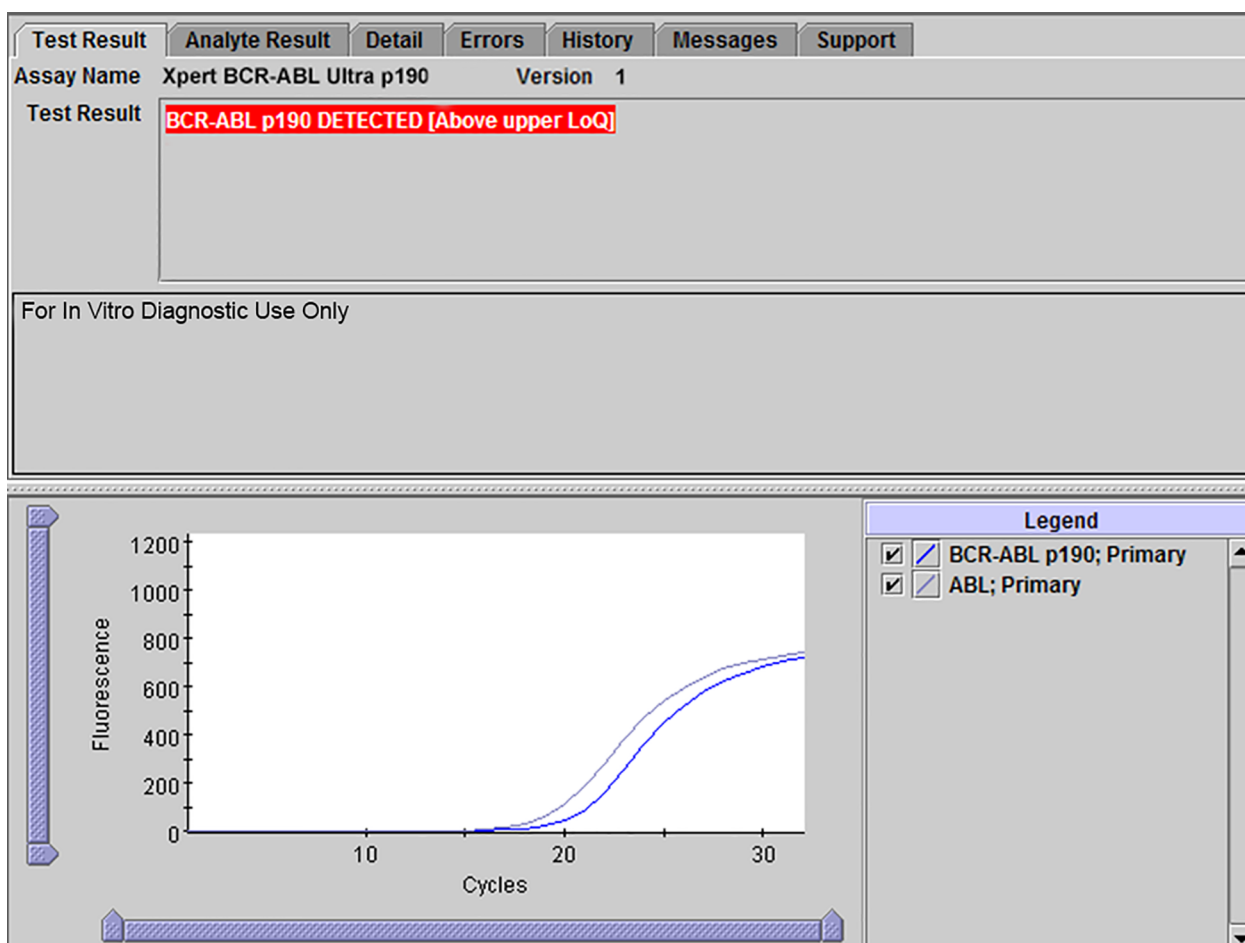
14.3 BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ] (BCR-ABL p190 DETEKTERAD [över den övre kvantifieringsgränsen])

BCR-ABL p190 har detekterats vid en nivå på > 25 %.

För ett resultat som ger resultatet “**BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ]**” (BCR-ABL p190 DETEKTERAT [över den övre kvantifieringsgränsen]) kan BCR-ABL p190 detekteras med BCR-ABL p190-Ct större än eller lika med ”8” och mindre än eller lika med gränsvärdet ”32” och ABL-Ct större än eller lika med ”8” och mindre än eller lika med till ”18”.

Exempel: ABL Ct = 17,2; BCR-ABL p190 Ct = 18,7; $\Delta Ct = -1,6$
 Lotspecifik $E_{\Delta Ct} = 2,05$; $SF = 1,76$
 Procentuellt förhållande = $2,05^{(-1,6)} \times 100 \times 1,76 = 56,6\%$ är större än den definierade testets övre kvantifieringsgräns vid 25 %

Resultat: **BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ] (BCR-ABL p190 DETEKTERAT [över den övre kvantifieringsgränsen]).** Se Figur 4.



Figur 4. GeneXpert Dx Fönstret View Results (Granska resultat): BCR-ABL p190 DETECTED [Above upper LoQ] (BCR-ABL p190 DETEKTERAD [över den övre kvantifieringsgränsen])

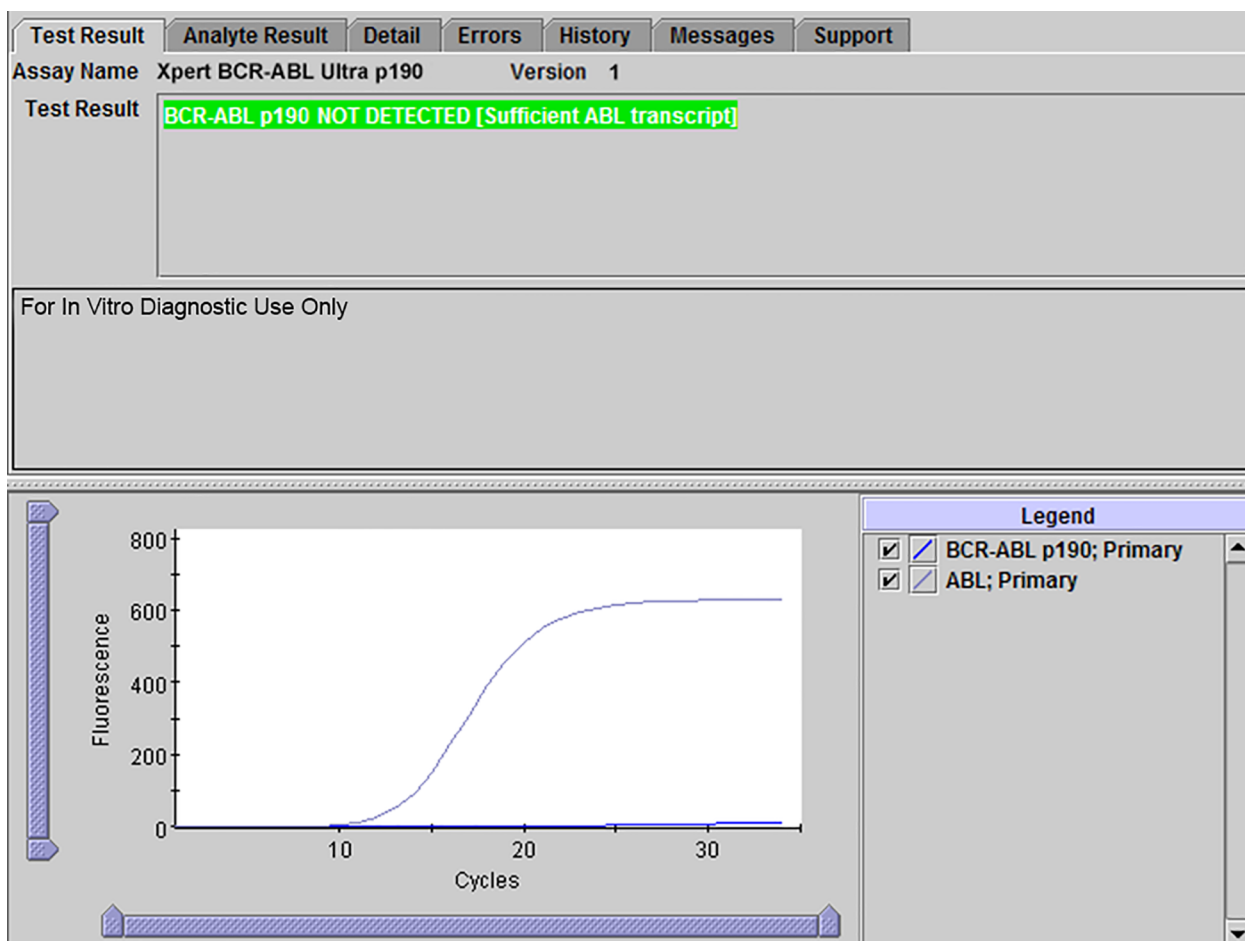
14.4 BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (BCR-ABL p190 EJ DETEKTERAT [tillräckligt ABL-transkript])

BCR-ABL p190 detekterades inte med BCR-ABL p190-Ct lika med "0" eller större än gränsvärdet "32" och ABL-Ct större än "8" och mindre än eller lika med "18".

Om BCR-ABL p190 inte kan detekteras med BCR-ABL p190 Ct lika med "0" eller större än gränsvärdet "32", letar GeneXpert-programvaran först efter ABL-Ct för att bekräfta om ABL-Ct är större än eller lika med "8" och mindre än eller lika med "18" för att säkerställa att det finns tillräckligt ABL-transkript. Se Tabell 2.

Exempel: BCR-ABL p190-Ct = 0; ABL-Ct = 11,6 är mindre än "18".

Resultat: **BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (BCR-ABL p190 EJ DETEKTERAT [tillräckligt ABL-transkript]).** Se Figur 5.



Figur 5. GeneXpert Dx Se resultatfönster: BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (BCR-ABL p190 EJ DETEKTERAT [tillräckligt ABL-transkript])

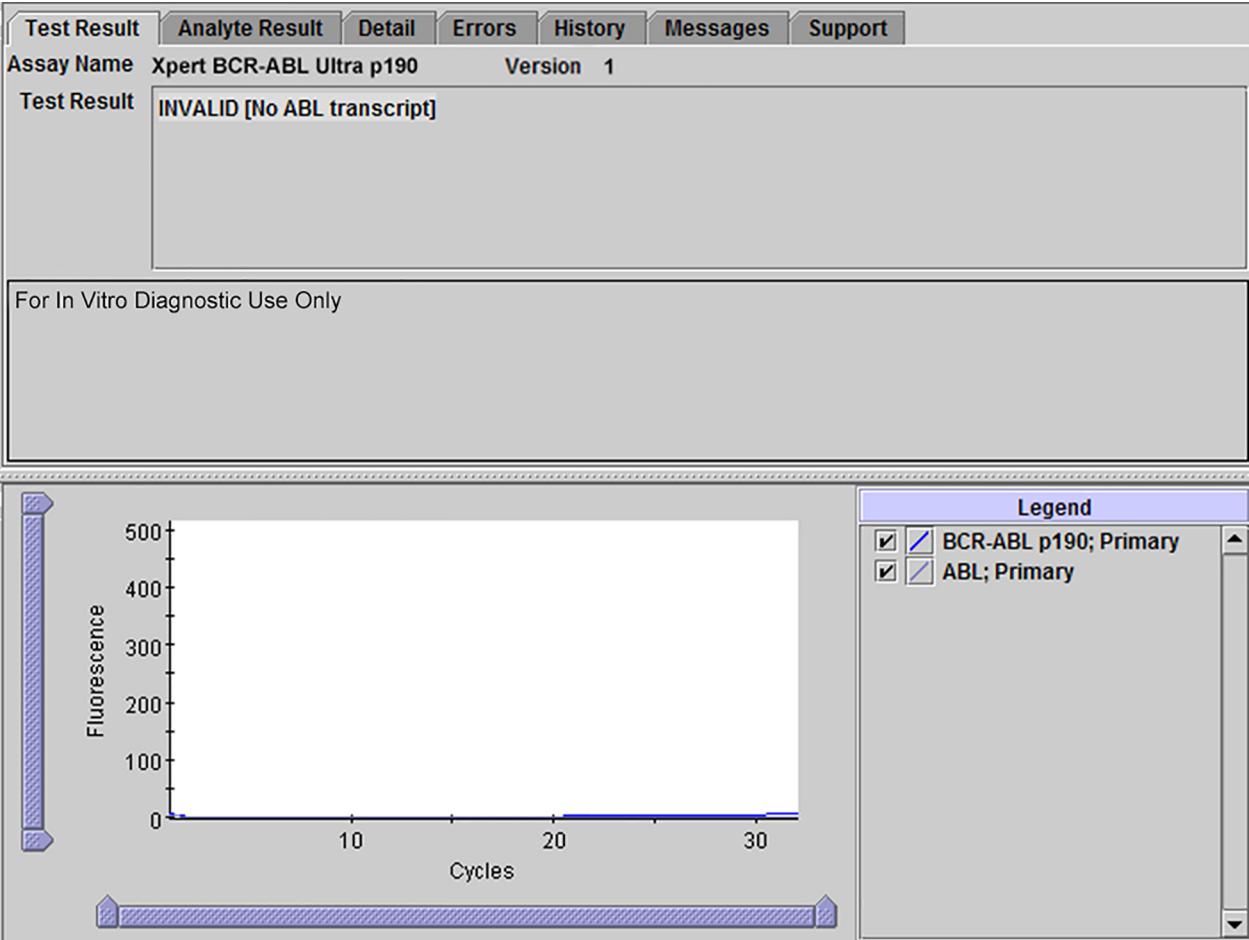
14.5 INVALID [No ABL transcript] (OGILTIGT [inget ABL-transkript])

BCR-ABL p190 detekterades inte med ABL Ct lika med "0".

När BCR-ABL p190 antingen detekteras eller inte detekteras, letar GeneXpert-mjukvaran först efter ABL Ct för att bekräfta om ABL Ct är mindre än eller lika med "18" för att säkerställa att det finns "Sufficient ABL transcript (tillräckligt ABL-transkript)". Hänvisa till Avsnitt 16, Felsökningsguide.

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

Resultat: **INVALID [No ABL transcript] (OGILTIGT [inget ABL-transkript])**. Se... Figur 6.



Figur 6. GeneXpert Dx Se resultatfönster: INVALID [No ABL transcript] (OGILTIGT [inget ABL-transkript])

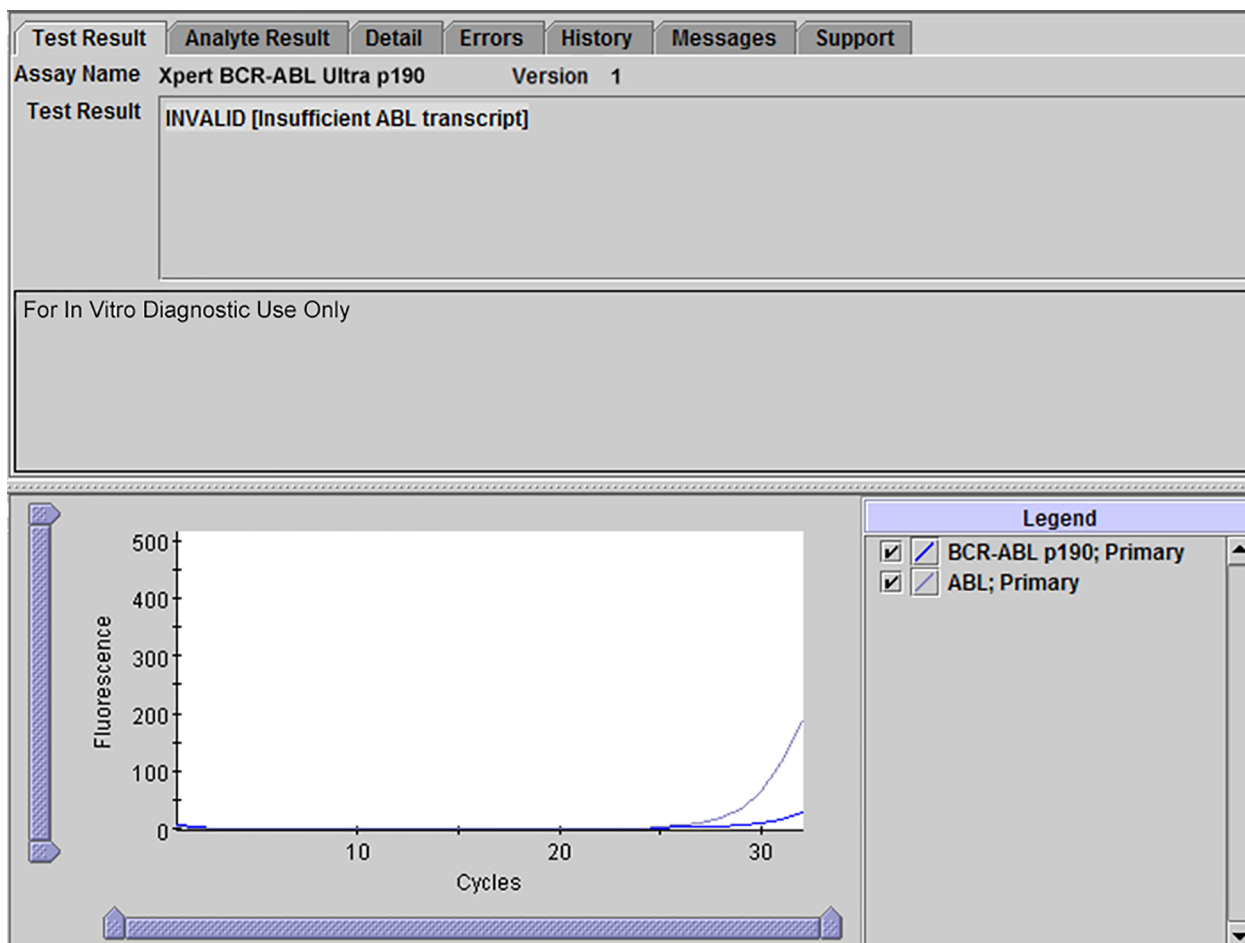
14.6 INVALID [Insufficient ABL transcript] (OGILTIGT [otillräckligt ABL-transkript])

BCR-ABL p190 detekterades inte med ABL-Ct större än "18".

När BCR-ABL p190 antingen detekteras eller inte detekteras letar GeneXpert-programvaran först efter ABL-Ct för att bekräfta om ABL-Ct är mindre än eller lika med "18" för att säkerställa att det finns "Sufficient ABL transcript" (tillräckligt ABL-transkript). Se Avsnitt 16, Felsökningsguide.

Exempel: BCR-ABL p190 Ct = 31,2; ABL Ct = 28 är större än "18".

Resultat: **INVALID [Insufficient ABL transcript] (OGILTIGT [otillräckligt ABL-transkript])**. Se Figur 7.



Figur 7. GeneXpert Dx Fönstret View Results (Granska resultat): INVALID [Insufficient ABL transcript] (OGILTIGT [otillräckligt ABL-transkript])

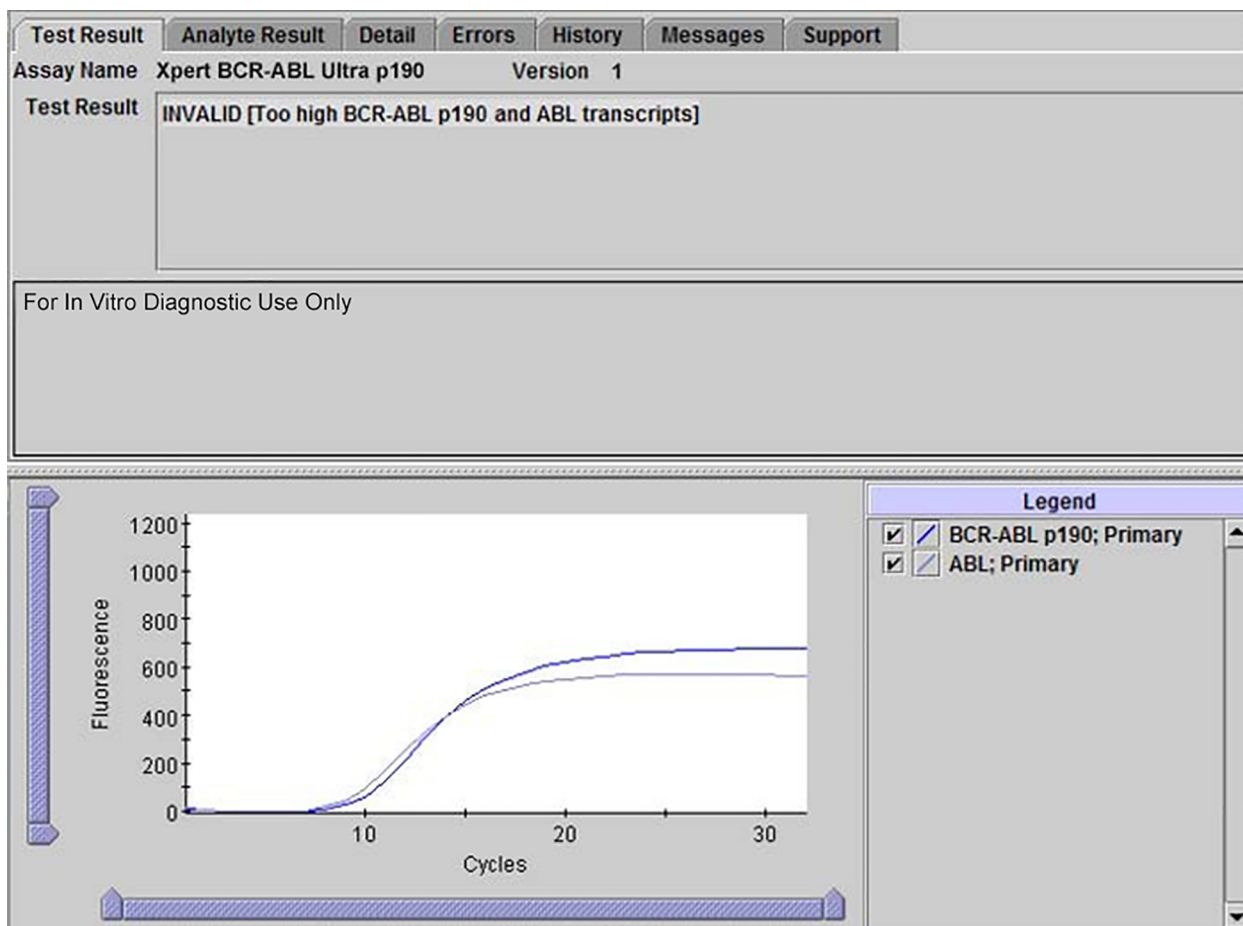
14.7 INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts] (OGILTIGT [för högt BCR-ABL p190 och ABL-transkript])

BCR-ABL p190 detekterades med både BCR-ABL p190 och ABL Cts mindre än ”8”.

När BCR-ABL p190 antingen detekteras eller inte detekteras, letar GeneXpert-mjukvaran först efter ABL Ct för att bekräfta om ABL Ct är mindre än eller lika med ”18” för att säkerställa att det finns ”Sufficient ABL transcript (tillräckligt ABL-transkript)”. Hänvisa till Avsnitt 16, Felsökningsguide.

Exempel: BCR-ABL p190 Ct = 7,9; ABL Ct = 7,6 är mindre än ”8”.

Resultat: **INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts] (OGILTIGT [för högt BCR-ABL p190 och ABL-transkript])**. Se... Figur 8.



Figur 8. GeneXpert Dx Se resultatfönster: INVALID [Too high BCR-ABL p190 and ABL transcripts] (OGILTIGT [för högt BCR-ABL p190 och ABL-transkript])

14.8 FEL

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>						

Figur 9. GeneXpert Dx Fönstret View Results (Granska resultat): FEL

15 Begränsningar

- Produkten är endast avsedd för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Testet är inte avsett att användas med externa kalibratorer.
- Testet är inte indicerat för att ta beslut om utsättning av behandling med tyrosinkinashämmare (TKI) eller för övervakning efter utsättning.
- Prestandan hos Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet har utvärderats uteslutande med hjälp av de metoder som beskrivs i denna bruksanvisning. Modifiering av dessa metoder kan ändra testets prestanda.
- Produkten har validerats för blod som samlats in i EDTA-rör.
- Använd inte heparin som antikoaguleringsmedel eftersom det kan hämma PCR-reaktionen.
- Provtyper med natriumcitrat (Na-Citrat), buffycoat och benmärg har inte validerats.
- Felaktiga testresultat kan uppstå vid olämplig insamling, hantering, förvaring samt förväxling av prover. Bruksanvisningen måste följas noggrant för att undvika felaktiga resultat.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet är endast utformat för att detektera p190 BCR-ABL-fusionstranskriptet e1a2. Möjligheten att detektera andra fusionstranskript har inte utvärderats utöver vad som beskrivs i denna bruksanvisning. Testet detekterar inte stora brytpunkter eller mikrobrytpunkter, mikrodeletioner eller mutationer.
- Xpert BCR-ABL Ultra p190 är inte avsett att detektera e13a2/b2a2 och e14a2/b3a2 (p210), e19a2 (p230) eller andra mindre translokationer som kan finnas i ett perifert blodprov från en patient med leukemi.
- För vissa prover med mycket högt antal vita blodkroppar (högre än 30 miljoner celler/ml), kan Xpert BCR-ABL Ultra p190 rapportera **INVALID (OGILTIGT)** (typ 2) resultat på grund av för höga BCR-ABL p190- eller ABL-nivåer i provet. Mer information finns i Tabell 2.
- Vissa prover med mycket låga nivåer av ABL-transkript eller med vita blodkroppar lägre än 150 000 celler/ml kan rapporteras som **INVALID (OGILTIGT)** (typ 1). Ett oklart resultat utesluter inte förekomst av väldigt låga nivåer av leukemiceller hos patienten.
- KML p230-transkript med e19a2-mikrobrytpunkt kan rapportera ett BCR-ABL-positivt resultat under testets detektionsgräns (0,0065 %) när det testas vid höga målnivåer (> 3,52 loggar över detektionsgränsen).

- Mutationer eller polymorfismer i primer- eller sondbindande områden kan påverka detekteringen av nya eller okända varianter och leda till ett falskt negativt resultat.
- Vissa patienter med mycket låga nivåer av BCR-ABL1-transkript (dvs. under detektionsgränsen 0,0065 %) kan rapporteras som **BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]** (BCR-ABL p190 EJ DETEKTERAT [tillräckligt ABL-transkript]). Därmed utesluter ett ej detekterat resultat inte förekomst av låga nivåer av leukemiceller hos patienten.
- Testet är validerat för användning på GeneXpert Dx System (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI).

16 Felsökningsguide

Tabell 2. Felsökningsguide

Testresultat	Möjliga orsaker	Förslag
OGILTIGT (INVALID)	Typ 1: Fel på endogen kontroll av ABL: • Dålig provkvalitet • RT-PCR-inhibering • Om ABL-Ct > 18 och/eller slutpunkten <200	• Kontrollera provets kvalitet (t.ex. överskridit kravet på provlagring inklusive tid och temperatur). • Upprepa testet med det ursprungliga provet (om det finns) eller från kvarvarande lysat och med en ny kassett enligt metoden som beskrivs i Avsnitt 17.1, Omtestprocedur för FEL (ERROR) eller OGILTIG (INVALID) (Typ 1).
	Typ 2: Nivån för BCR-ABL-transkript kan inte bestämmas på grund av att provet innehåller för mycket BCR-ABL p190 och/eller ABL-transkript (Ct < 8)	Upprepa testet med det ursprungliga provet (om det finns) eller från kvarvarande lysat och med en ny kassett enligt metoden som beskrivs i Avsnitt 17.2, Omtestprocedur för FEL (ERROR) (kod 2008) eller OGILTIG (INVALID) (Typ 2).
FEL (ERROR) (Kod 2008)	Trycket överskrider gränsen (felmeddelande 2008)	• Kontrollera provets kvalitet • Kontrollera om LPK-antalet är kraftigt förhöjt • Upprepa testet med det ursprungliga provet (om det finns) eller från kvarvarande lysat och med en ny kassett enligt metoden som beskrivs i Avsnitt 17.2, Omtestprocedur för FEL (ERROR) (kod 2008) eller OGILTIG (INVALID) (Typ 2).
FEL (ERROR) (kod 5006, 5007, 5008 och 5009 ^a)	Probekontroll misslyckades	Upprepa testet med det ursprungliga provet (om det finns) eller från kvarvarande lysat och med en ny kassett enligt metoden som beskrivs i Avsnitt 17.1, Omtestprocedur för FEL (ERROR) eller OGILTIG (INVALID) (Typ 1).
INGET RESULTAT (NO RESULT)	Datainsamlingsfel. Användaren stoppade till exempel ett pågående test eller ett strömavbrott uppstod.	Upprepa testet med det ursprungliga provet (om det finns) eller från kvarvarande lysat och med en ny kassett enligt metoden som beskrivs i Avsnitt 17.1, Omtestprocedur för FEL (ERROR) eller OGILTIG (INVALID) (Typ 1).

^a Detta är inte en uttömmande lista över FEL (ERROR)-koder.

17 Omtestningar

17.1 Omtestprocedur för FEL (ERROR) eller OGILTIGT (INVALID) (Typ 1)

Testa om prover med **FEL (ERROR)** eller **OGILTIGA (INVALID)** resultat på grund av att ABL-cykeltröskeln (Ct) överskrider den maximala giltiga Ct-gränsen (Ct > 18) eller att slutpunkten är under inställningen för tröskelnivån (< 200). Se även Tabell 2.

1. Mät blodprovsvolymen:

- Om *tillräcklig* blodprovsvolym finns tillgänglig, testa igen från det ursprungliga blodprovtagningsröret enligt metoden i Avsnitt 11.2.1.

-ELLER-

- Om blodprovsvolymen är *otillräcklig* kan ett nytt test utföras med det kvarhållna lysatet från Avsnitt 11.2.1 steg 12.
 - a. Om det kvarvarande lysatet från Avsnitt 11.2.1 steg 12 förvaras fryst, ska du låta det tina till rumstemperatur innan du använder det.
 - b. Säkerställ att lysatet är välblandat genom att blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder och ställ åt sidan i 3 minuter så att bubblorna lägger sig. Gå till steg 2.
- 2. Överför 1 ml av det kvarvarande lysatet till ett nytt koniskt 50 ml rör.
- 3. Tillsätt 1,5 ml lyseringsreagens (LY) till det nya koniska röret som innehåller lysat.
- 4. Följ steg 14–17 i Avsnitt 11.2.1 för att göra det slutliga lysatet.
- 5. Öppna kassetten genom att lyfta kassetlocket och överför hela innehållet i ampullen med tvättreagens (1) till kammaren för tvättreagens (med liten öppningen). Se Figur 1.
- 6. Pipettera hela innehållet av förberett prov till provkammaren (den stora öppningen) se Figur 1.
- 7. Stäng locket på kassetten. Starta test (se Avsnitt 11.4).

17.2 Omtestprocedur för FEL (ERROR) (kod 2008) eller OGILTIGT (INVALID) (Typ 2)

Testa om prover med BCR-ABL- och/eller ABL-transkriptnivåer under det giltiga lägsta Ct-gränsvärdet (Ct < 8) och/eller när tryckgränsen överskrids. Se även Tabell 2.

1. Tillsätt 100 µl PK (proteinase K) i botten av ett nytt koniskt 50 ml rör.

2. Mät blodprovsvolymen:

- Om *tillräcklig* blodprovsvolym finns tillgänglig, testa igen från det ursprungliga insamlingsröret för blodprov. Kontrollera att blodprovet är väl blandat genom att vända provröret upp och ned 8 gånger före pipettering. Gå till steg 3.

-ELLER-

- Om blodprovsvolymen är *otillräcklig* kan ett nytt test utföras från det kvarhållna lysatet från Avsnitt 11.2.1 steg 12.
 - a. Om det kvarvarande lysatet från Avsnitt 11.2.1 steg 12 förvaras fryst, ska du låta det tina till rumstemperatur innan du använder det. Om kylt lysat används, låt det nå rumstemperatur före användning.
 - b. Säkerställ att lysatet är välblandat genom att blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 10 sekunder och ställ åt sidan i 3 minuter så att bubblorna lägger sig. Gå till steg 3.
- 3. Till röret som redan innehåller Proteinase K, tillsätt 50 µL det ursprungliga blodprovet, om det finns, eller 80 µL kvarvarande lysat från Avsnitt 11.2.1 steg 12.
- 4. Blanda provet kontinuerligt med en vortexblandare på maximal inställning under 3 sekunder.
- 5. Inkubera provet vid rumstemperatur i 1 minut.
- 6. Följ steg 6–13 i Avsnitt 11.2.2 för att göra det slutliga lysatet.
- 7. Öppna kassetten genom att lyfta kassetlocket och överför hela innehållet i ampullen med tvättreagens (1) till kammaren för tvättreagens (med liten öppningen). Se Figur 1.
- 8. Pipettera hela innehållet av förberett prov till provkammaren (den stora öppningen). Se Figur 1.
- 9. Stäng locket på kassetten. Starta test (se Avsnitt 11.4).

18 Förväntade värden

Xpert BCR-ABL Ultra p190-intervallet omfattar viktiga kliniska beslutspunkter för övervakning av KML och ALL. Förväntade värden uttrycks som procentandel av BCR-ABL p190 mRNA (e1a2) till ABL mRNA och sträcker sig mellan 0,0065 % och 25 %. Mätningar under detta intervall rapporteras som ej detekterade eller under detektionsgränsen (LoD). Mätningar över detta intervall rapporteras som över kvantifieringsgränsen (LoQ). Hänvisa till Avsnitt 14 för detaljering.

19 Klinisk prestanda

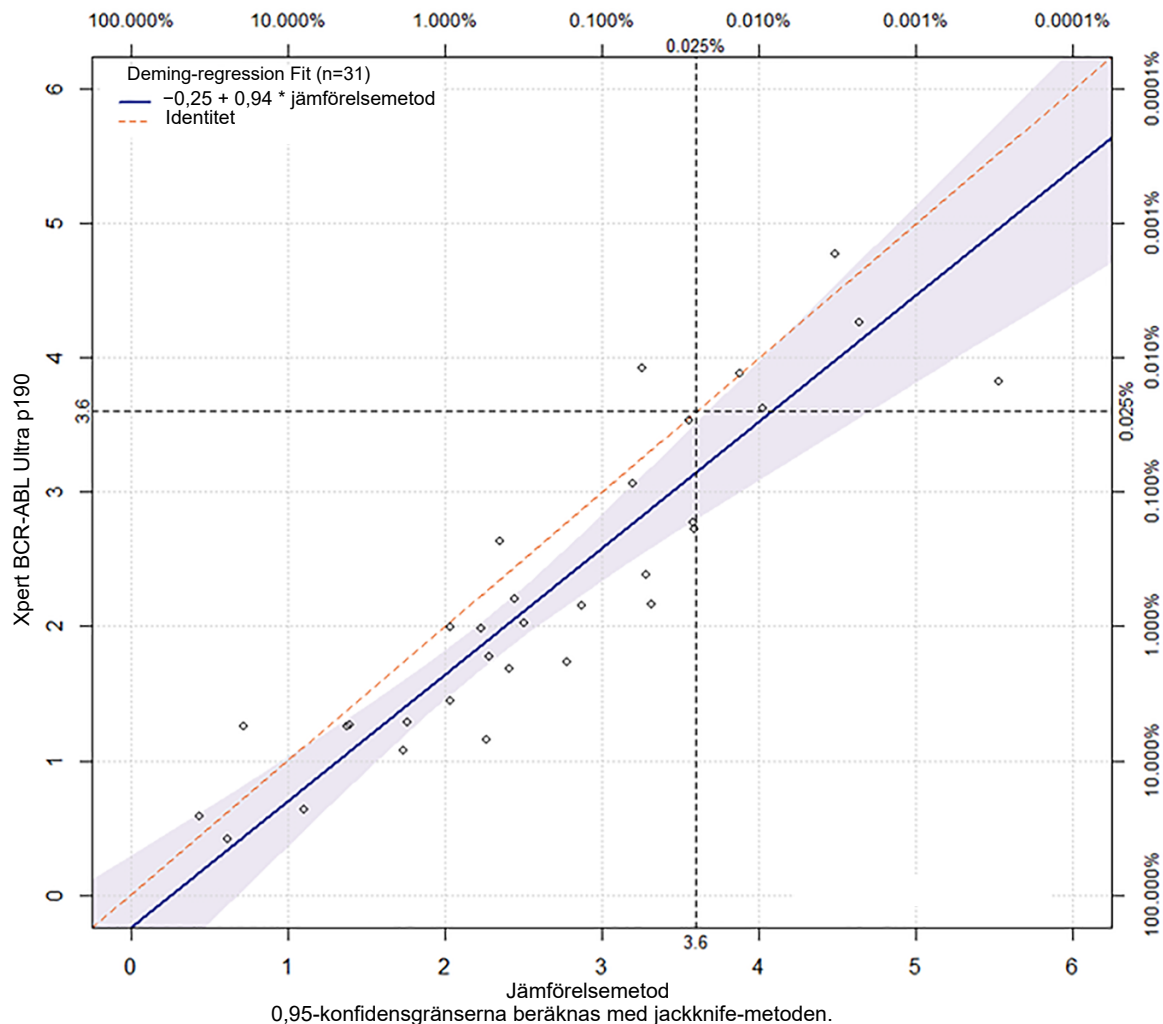
Xpert BCR-ABL Ultra p190-testets kliniska prestanda utvärderades vid tre institutioner i USA som en del av en klinisk studie på flera platser. Studien genomfördes med prospektivt insamlade EDTA-prover från perifert blod (PB) från patienter med akut lymfatisk leukemi (ALL) och kronisk myeloid leukemi (KML) under övervakning av behandlingen. Dessutom inkluderade studien överblivna prover som lagrats som frysta kliniska lysat och var framställda från EDTA PB från samma patientpopulation. Prestandan för Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet jämfördes med ett molekylärt test som detekterar och kvantifierar mRNA-transkripten för de p190 [t(9;22)(q34;q11)] positiva KML- och ALL-patienterna som uttrycker BCR-ABL1-fusionstranskript typ e1a2 och använder ABL som endogen kontroll-mRNA-transkript.

Totalt inkluderades 47 prover i denna studie. Av dessa 47 prover hade 9 ett RNA-resultat på <100 ng/ml och exkluderades då från analyserna. Totalt exkluderades 9 prover vilket gjorde att 38 prover inkluderades i den slutliga datamängden. Det är viktigt att notera att alla 9 prover som exkluderades gav giltiga Xpert BCR-ABL Ultra p190-testresultat.

Ålder och kön samlades in för de 38 prover som ingick i denna studie. Prover togs från 25 män (65,8 %) och 13 kvinnor (34,2 %). Alla prover kom från patienter mellan 20 och 88 år med ett genomsnitt på 54,5 år. Tjugotre (61 %) prover togs från patienter med diagnosen ALL och 15 (39 %) prover togs från patienter med diagnosen KML.

Av de 38 lämpliga proverna exkluderades sju (7) prover från Deming-regressionen eftersom de var negativa för minst ett av testerna. Trettioen prover inom de kvantitativa intervallen för båda testerna inkluderades i Deming-regressionsanalysen.

Deming-regressionsanalysen för procent ratio (PR)-resultat visar god korrelation mellan Xpert BCR-ABL Ultra p190 och jämförelsemetodens mätningar vad gäller PR-mätning. Skärningspunkten var 0,01 och lutningen var 1,08; båda uppfyllde acceptanskriterierna. Pearsons r var 0,814. Log-reduktion (LR) utfördes för att normalisera PR-datafördelningen. Deming-regressionsanalys med LR-mätningar utfördes och presenteras i Figur 10 nedan.



Figur 10. Deming-regression för LR

Figur 10 visar hög korrelation mellan Xpert BCR-ABL Ultra p190 och jämförelsemetodens tester för LR-mätningar. Deming-regressionen har en lutning på 0,94 och en skärningspunkt på -0,25. Deming-regressionsresultat för LR-värdena uppfyllde också acceptanskriterierna för skärningspunkten och lutningen. Den totala korrelationen (Pearson) $r=0,904$ var hög.

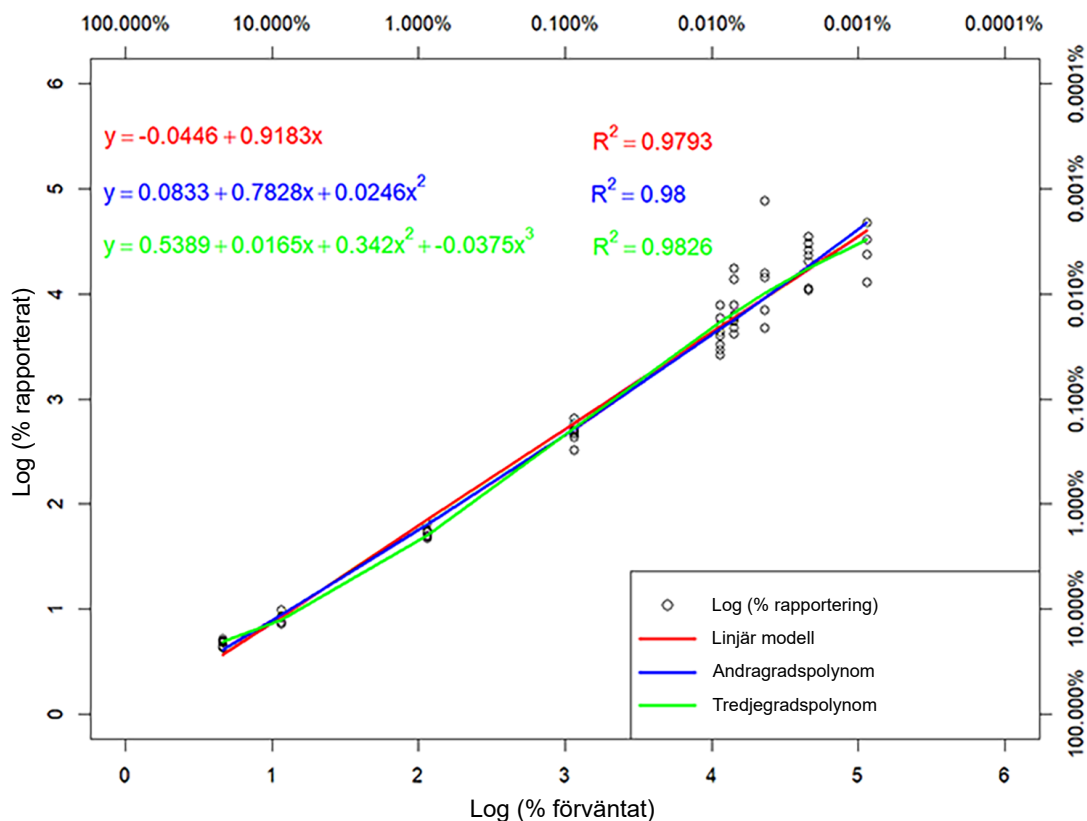
Den positiva förutsagda biasen på 0,01 i procentrapportering (LR: -0,39) såväl som fördelningen indikerar att för de flesta prover mäter Xpert-testet högre koncentration av p190-transkriptet jämfört med motkandidat. Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet visade hög korrelation på 0,904 med motkandidat och hade en låg bias med användning av LR-mätningar. Den obestämda frekvensen som observerades i denna studie var 0 % och acceptanskriterierna för obestämd ≤ 5 % uppfylldes också. Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet visade acceptabel överensstämmelse med motkandidaten som demonstreras av lutningen och skärningspunkten i en Deming-regressionsanalys.

20 Analytisk prestanda

20.1 Linjäritet/dynamiskt intervall

Linjäriteten utvärderades för den mindre brytpunkten, c1a2, med totalt RNA från ALL-SUP-B15-cellinjen. Totalt RNA från BCR-ABL p190-transkript späddes i ett bakgrundslysat framställt från ALL-negativa kliniska prov till för att hitta områden på ~25 % till 0,001 % (LR [log-reduktion] 0,60 till LR5). Panelmedlemmarna, inklusive den negativa nivån, testades på två loter med testkit i replikat om 4 per kitlot.

Testning och statistiska analyser utfördes i enlighet med CLSI EP06-A. Linjära regressionsanalyser utfördes för första, andra och tredje gradens polynom. Resultatet för e1a2-brytpunkten ansågs linjärt om koefficienterna för polynomregression var insignifikanta (p-värden > 0,05). Den linjära regressionskurvan visas i Figur 11 nedan.



Figur 11. Linjära regressionskurvor för brytpunkten till transkript e1a2

De uppskattade skärningspunkterna, lutningarna och R²-värdena för regression från den linjära modellen visas i Tabell 3.

Tabell 3. Regressionskoefficienter från linjär modell

Brytpunkt	Skärningspunkt	Lutning	R ²
e1a2	-0,0561	0,9248	0,9811

Sammantaget stöder data en observation av linjäritet från ~25 %/LR 0,60 till 0,001 %/LR5 med en maximal standardavvikelse (SD) på 0,26. Det rapporterbara intervallet sträcker sig från linjäritetsgränserna vid 25 %/LR0,6 till kvantifieringsgränsen vid 0,0065 %/LR4,19.

20.2 Analytisk sensitivitet (detektionsgräns, kvantifieringsgräns, blankningsgräns)

Detektionsgränsen (LoD) uppskattades för brytpunkt e1a2 genom att testa serieutspädningar av ALL-positiva (ALL, akut lymfatisk leukemi) kliniska prov [>10 %]. Data över utspädningar sammanställdes och LoD uppskattades med hjälp av probit-regressionsanalys. Den resulterande analysen gav en uppskattad LoD på 0,0070 % för e1a2-brytpunkten.

LoD verifierades genom att anpassa den icke-parametriska metoden som beskrivs i CLSI-vägledningsdokumentet, EP17-A2 (Tabell 4). Tre unika ALL-positiva prov som representerar e1a2-brytpunkten spädades till en målnivå på 0,0065 %. Tvåhundra femton replikat testades av 4 operatörer över 3 loter av testkit under 3 dagar.

Tabell 4. Verifierad detektionsgräns i %

Brytpunkt	Positiva/replikat	% positiva	Genomsnittlig % ratio
e1a2	206/215	96,0 %	0,0065 %

Xpert BCR-ABL Ultra p190 LoD för e1a2 är 0,0065 %.

Kvantifieringsgränsen (LoQ) uppskattades med data erhållna från LoD- och linjäritetsstudierna. Medelvärde och standardavvikelsen för % BCR-ABL p190/ABL-värdena beräknades för replikaten vid nivåer lika med LoD eller högre, med positivitet större eller lika med 95 %. LoQ rapporteras som den minimala % BCR-ABL p190/ABL-rapportering som tillförlitligt kan kvantifieras, vilket uppfyller precisionsmålet att detektera e1a2-transkriptet med en positivitet större än eller lika med 95 %, med en standardavvikelse för logreduktion (LR) på $\leq 0,36$ LR. Testets kvantifieringsgräns (LoQ) begränsas av testets detektionsgräns (LoD), därför fastställdes LoQ vara lika med LoD, 0,0065 %. Resultaten utvärderades även mot acceptanskriterierna för standardavvikelse (SD) $\leq 0,36$ LR och låg inom acceptanskriterierna.

Studien gräns på blankprov (LoB) utfördes för att uppskatta det högsta procentuella BCR-ABL p190/ABL-ratio som sannolikt kommer att detekteras i ≥ 95 % av p190-negativa EDTA-helblodsprover. Testets LoB bestämdes från 387 giltiga datapunkter i en oensurerad icke-parametrisk analys, som beskrivs i CLSI EP17-A2, för att uppskatta en LoB på 0,00032 % BCR-ABL p190/ABL.

20.3 Analytisk specificitet

Den analytiska specificiteten av Xpert BCR-ABL Ultra p190 utvärderades genom att analysera EDTA-helblodsprov tagna från tjugo (20) friska donatorer (icke-KML eller icke-ALL). Varje prov testades fyrfaldigt.

BCR-ABL p190-signal detekterades i ett av de 80 replikaten, vilket visar att Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet hade en analytisk specificitet på 98,8 % för BCR-ABL p190-transkriptet.

20.4 Överföringskontaminering

En studie genomfördes för att påvisa att fristående GeneXpert-kassetter för engångsbruk förhindrar överföringskontaminering från kassetter som körs efter varandra på samma modul. För att påvisa detta kördes negativa prov efter mycket höga positiva prov på samma GeneXpert-modul. Denna studie bestod av att bearbeta ett **NEGATIVE (NEGATIVT)** EDTA-normalt prov (ALL-negativt blod) i samma GeneXpert-modul omedelbart efter ett högt **POSITIVE (POSITIVT)** prov (simulerat ALL-positivt blod) med SUP-B15-celler spetsade i ALL-negativt blod för att ge ≥ 10 %. Testschemat upprepades 10 gånger för varje prov, som började och slutade med negativt, på två GeneXpert-moduler, vilket resulterade i 21 negativa och 20 positiva per modul. Alla tjugo BCR-ABL p190 positiva prover rapporterades korrekt som **BCR-ABL p190 DETECTED [#.##]% (BCR-ABL p190 DETEKTERAD [#.##] %)**, och alla tjugo BCR-ABL p190 negativa prover rapporterades korrekt som **BCR-ABL p190 NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript] (BCR-ABL p190 EJ DETEKTERAD [tillräckligt ABL-transkript])**.

20.5 Potentiella störsubstanser

Vid denna studie utvärderades fem substanser som kan förekomma i EDTA-helblodsprov och som potentiellt kan störa Xpert BCR-ABL Ultra p190-testets prestanda. De testade föreningarna och nivåerna (se Tabell 5) baserades på vägledning från CLSI-dokumentet EP07-A2. Störsubstanser testades i bakgrunden av ALL-EDTA-helblodsprover, framtagna med ALL-SUP-B15-celler, vilket representerar tre nivåer med fem prover per nivå: > 1 %, 0,1–0,02 % och negativt. Testkontrollerna bestod av SUP-B15-celler i EDTA-helblod vid respektive BCR-ABL-p190-transkriptnivå utan störsubstansen. Varje ALL-prov testades i frånvaro och närvaro av de fem individuella interferenserna vid 4 replikat per tillstånd.

En substans ansågs vara icke-störande om det observerade genomsnittliga procentuella förhållandet i dess närvaro var inom 3-faldig skillnad jämfört med kontrollen.

Inga kliniskt signifikanta hämmande effekter på Xpert BCR-ABL Ultra p190-testet observerades med någon av störsubstanserna som utvärderades i denna studie. Även om viss variation och statistiskt signifikanta skillnader (p-värde $< 0,05$) under vissa testade förhållanden observerades, låg de rapporterade procentuella förhållandena för test- och kontrollförhållandena inom det acceptabla 3-faldiga intervallet.

Tabell 5. Potentiella störsubstanser som testats med Xpert BCR-ABL Ultra p190

Störsubstanser	Koncentration som testats
Okonjugerat bilirubin	20 mg/dl
Kolesterol, totalt	500 mg/dl
Triglycerider totalt (lipider)	3 000 mg/dl
Heparin	3 500 E/l
EDTA (underfyllning)	900 mg/dl

21 Reproducerbarhet och precision

Xpert BCR-ABL Ultra p190-testets reproducerbarhet och precision utvärderades i en studie på flera platser i enlighet med CLSI EP05-A3, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline" och CLSI EP15-A3, "User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline".

Tabell 6 visar panelen med fem prover som förbereddes och inkluderades i studien.

Tabell 6. Reproducerbarhetspanel för Xpert BCR-ABL Ultra p190

Provnr	Beskrivning av panelen	BCR-ABL p190/ABL-nivå detekterad (procentuellt förhållande)
1	LR1: e1a2	~10 %
2	LR2: e1a2	~1 %
3	LR3: e1a2	~0,1 %
4	LR3.7: e1a2	~0,02 %
5	Negativt	Ej detekterat

Var och en av de fem panelmedlemmarna testades i dubbla exemplar två gånger per dag på sex olika dagar av två olika operatörer på tre olika platser. Tre loter av Xpert BCR-ABL Ultra p190-kiten användes och varje operatör utförde testningen med en lot (3 platser × 2 operatörer × 3 loter × 2 dagar (2 dagars testning per kassettlot) × 2 körningar × 2 replikat = 144 replikat/panelmedlem).

Tabell 7. Standardavvikelse och variationskoefficient (CV) med förhållandet uttryckt som en procentandel

Panelmedlem	N	Medelvärde	Plats		Op		Lot		Dag		Körning		Inom testet		Totalt	
			Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)
LR1: e1a2 (~10 procentuellt förhållande)	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 (~1 procentuellt förhållande)	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 (~0,1 procentuellt förhållande)	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 (~0,02 procentuellt förhållande)	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 Ett prov gav ett icke-specifikt resultat vid både test och omtest.

Den totala variationskoefficienten (CV-%) av procentförhållandet som rapporterade kvantitativa värden varierande från 25,53 till 77,30 för de positiva proverna. Varianskomponenten för de rapporterade värdena för procentförhållandet översteg inte 50 % av den totala testvariansen för följande faktorer: Plats-till-plats operatör-till-operatör, dag-till-dag och körning-till-körning. Analys av varians över det kvantitativa medelvärdet för procentförhållandet gav liknande resultat.

Tabell 8. Standardavvikelse och variationskoefficient (CV) för loggreduktion (LR)

Panelmedlem	N	Medelvärde	Plats		Op		Lot		Dag		Körning		Inom testet		Totalt	
			Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)	Standardavvikelse (SD)	Variationskoefficient (CV) (%)
LR1: e1a2 (~10 procentuellt förhållande)	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 (~1 procentuellt förhållande)	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 (~0,1 procentuellt förhållande)	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 (~0,02 procentuellt förhållande)	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 Ett prov gav ett obestämt resultat vid både test och omtest.

Den totala variationskoefficienten (CV) för LR som rapporterade kvantitativa värden varierande mellan 26,17 och 88,68 för de positiva proverna.

22 Referenser

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 (refer to latest edition). <https://www.cdc.gov/labs/bmbi/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Dokument M29 (se senaste utgåvan).
11. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>

12. EUROPAPARLAMENTETS OCH RÅDETS FÖRORDNING (EG) nr 1272/2008 av den 16 december 2008 om klassificering, märkning och förpackning av ämnen och blandningar, ändring och upphävande av direktiven 67/548/EEG och 1999/45/EG samt ändring av förordning (EG) nr 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 Cepheids huvudkontor

Huvudkontor

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

24 Teknisk support

Notera följande uppgifter innan du kontaktar Cepheids tekniska support:

- Produktnamn
- Lotnummer
- Instrumentets serienummer
- Felmeddelanden (om sådana finns)
- Programvaruversion och, om tillämpligt, datorns service tag-nummer

USA

Telefon: + 1 888 838 3222

E-post: techsupport@cepheid.com

Frankrike

Telefon: + 33 563 825 319

E-post: support@cepheideurope.com

Kontaktinformation för alla Cepheids tekniska supportkontor finns på vår webbplats: www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

25 Tabell med symboler

Symbol	Innebörd
	Katalognummer
	CE-märkning – Europeisk överensstämmelse
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk produkt
	Satskod
	Får ej återanvändas
	Utgångsdatum
	Varning
	Se bruksanvisningen
	Tillverkare
	Tillverkningsland
	Innehåller tillräckligt för n test

Symbol	Innebörd
CONTROL	Kontroll
	Temperaturbegränsning
	Biologiska risker
	Brandfarliga vätskor
	Reproduktionstoxicitet och organtoxicitet
EC REP	Auktoriserad representant inom den Europeiska gemenskapen
CH REP	Auktoriserad representant i Schweiz
	Importör
Country of Origin: Sweden	Ursprungsland: Sverige
Country of Origin: USA	Ursprungsland: Amerikas förenta stater



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 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 Revisionshistorik

Beskrivning av ändringar: 302- 6673-SV, rev. D till rev. E

Avsnitt	Beskrivning av ändringar
Varumärken, patent och upphovsrättsmeddelanden	Uppdaterat copyrightår.
Material som medföljer	Förtydligat det animaliska ursprunget för den proteinstabilisator som används i produkten.
Kvalitetskontroll	Uppdaterade beskrivningen för provhanteringskontroll.
Cepheids huvudkontor	Tog bort adressen till det europeiska huvudkontoret.
Symboltabell	Uppdaterade symboler enligt EN ISO 15223-1:2021, tillagda symboler för ursprungsland för USA och Sverige samt uppdaterad adress för auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen.