

Xpert® BCR-ABL Ultra

REF GXBCRABL-US-10

For Information Only - Not a Controlled Copy

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, Xpert®, and Xpertise™ are trademarks of Cepheid.

All other trademarks are property of their respective owners.

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

© Cepheid 2020-2021. All rights reserved.

Déclarations sur les marques de commerce, les brevets et le droit d'auteur

Cepheid®, le logo Cepheid, GeneXpert®, Xpert® et Xpertise™ sont des marques de commerce de Cepheid.

Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHETEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE. AUCUN AUTRE DROIT N'EST CONCÉDÉ QUE CE SOIT EXPRESSÉMENT, DE FAÇON IMPLICITE OU PAR PRÉCLUSION. DE PLUS, AUCUN DROIT DE REVENTE N'EST CONCÉDÉ AVEC L'ACHAT DE CE PRODUIT.

© Cepheid 2020-2021. Tous droits réservés.



Cepheid

904 Caribbean Drive

Sunnyvale, CA 94089-1189 USA

Tél. : + 1 408 541 4191

Fax : + 1 408 541 4192

N° sans frais pour l'assistance technique : + 1 888 838 3222

Xpert® BCR-ABL Ultra

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*



1. Nom de marque déposée

Xpert® BCR-ABL Ultra

2. Nom commun ou usuel

Xpert BCR-ABL Ultra

3. Utilisation prévue

Le test Xpert BCR-ABL Ultra est un test de diagnostic *in vitro* pour la détection quantitative des transcrits d'ARNm BCR-ABL1 et ABL1 dans les échantillons de sang périphérique chez les patients ayant précédemment reçu un diagnostic de leucémie myéloïde chronique (LMC) (t(9;22)) exprimant les transcrits de fusion BCR-ABL1 de type e13a2 et/ou e14a2. Le test utilise une transcription inverse-réaction en chaîne de la polymérase quantitative (RT-qPCR) automatisée et en temps réel. Le test Xpert BCR-ABL Ultra est destiné à mesurer les rapports de pourcentage de BCR-ABL1 à ABL1 sur l'échelle internationale (IS), et également exprimés sous forme de réduction moléculaire de logs (valeur MR) sur une base de référence de 100 % (IS), chez les patients positifs pour la LMC (t(9;22)) dans le cadre de la surveillance du traitement par inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK).

Le test ne différencie pas les transcrits de fusion e13a2/b2a2 ou e14a2/b3a2 et ne prend pas en charge d'autres transcrits de fusion rares résultant de t(9;22). Ce test n'est pas destiné au diagnostic de la LMC.

Le test Xpert BCR-ABL Ultra est destiné à être utilisé uniquement sur les systèmes GeneXpert® Dx et GeneXpert Infinity de Cepheid.

4. Résumé et description

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est l'une des malignités hématologiques les plus répandues et représente 15 à 20 % de tous les cas de leucémie.¹ L'incidence de la LMC est d'environ 1,8 pour 100 000 cas, ce qui signifie qu'un diagnostic de LMC sera posé au cours de la vie d'une personne sur 55 555 – homme ou femme.² Plus de 95 % des patients atteints de LMC sont porteurs du chromosome distinctif Philadelphie (Ph1) qui résulte d'une translocation réciproque entre les bras longs des chromosomes 9 et 22.² La translocation implique le transfert du gène Abelson ou ABL1 (ABL) sur le chromosome 9 vers le gène BCR (breakpoint cluster region) sur le chromosome 22, ce qui résulte en un gène fusionné BCR-ABL1 (BCR-ABL). Le gène de fusion produit la BCR-ABL, une tyrosine kinase dont l'activité dérégulée joue un rôle clé dans le développement de la LMC.³ Le Xpert BCR-ABL Ultra détecte les transcrits d'ARNm de translocation chromosomique pour la forme p210 résultant des deux translocations e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2 aux points de rupture majeurs.

L'utilité clinique de la surveillance du taux d'ARNm de BCR-ABL par RT-PCR a été établie dans l'étude randomisée internationale de l'interféron et de STI571 (IRIS, International Randomized Study of Interferon and STI571), dans laquelle les patients ont reçu un traitement par interféron et/ou un traitement par inhibiteur de la tyrosine kinase (ITK). Les résultats BCR-ABL ont été normalisés sous une référence standardisée commune aux trois laboratoires participant à l'essai.⁴ Par la suite, on a proposé que les tests de surveillance du BCR-ABL se conforment à une échelle internationale (IS, International Scale) qui est liée à deux valeurs définies dans l'essai IRIS, permettant ainsi aux résultats d'être exprimés sur une échelle commune.⁵ La première de ces valeurs est la ligne de base normalisée qui représente 100 % sur l'échelle internationale (IS). La deuxième est une réponse moléculaire majeure (RMM) qui est définie comme une réduction de 3 logs par rapport à la référence normalisée qui représente 0,10 % (IS)/MR3. Une réduction de 3 logs est associée à un résultat de survie favorable.⁶ De cette façon, les tests moléculaires normalisés IS fournissent une aide essentielle aux cliniciens dans la gestion de la maladie de leurs patients LMC.⁶

Le test Xpert BCR-ABL Ultra quantifie le taux d'ARNm de BCR-ABL en % (IS) via l'étalonnage du test sur le premier panel génétique de référence international de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la quantification de l'ARNm de BCR-ABL. Conformément au protocole recommandé⁷, Cepheid a développé et validé des normes quantitatives secondaires qui sont en corrélation avec le principal panel de référence de l'OMS. Cela permet de déterminer un facteur de conversion spécifique au lot, et notamment l'efficacité (E) et le facteur d'échelle (SF) du test pour chaque lot de kits Xpert BCR-ABL Ultra. L'efficacité de l'étalonnage par rapport aux normes secondaires est surveillée en permanence.

5. Principe de la procédure

Le Xpert BCR-ABL Ultra est un test automatisé pour la détermination quantitative du transcrite BCR-ABL sous la forme d'un rapport de BCR-ABL à ABL. Le test utilise une transcription inverse-réaction en chaîne de la polymérase quantitative (RT-qPCR) automatisée et en temps réel.

Le test est réalisé sur les systèmes GeneXpert Dx et GeneXpert Infinity de Cepheid. Les systèmes GeneXpert automatisent et intègrent la purification des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes en utilisant des tests RT-PCR et PCR. Les systèmes comportent un instrument, un ordinateur et un logiciel préchargé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Les systèmes nécessitent l'utilisation des cartouches GeneXpert jetables à usage unique qui contiennent les réactifs RT-PCR et PCR et hébergent les réactions. Pour une description complète des systèmes, consulter le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*.

Le Xpert BCR-ABL Ultra inclut les réactifs pour détecter les gènes de fusion BCR-ABL résultant de deux points de rupture majeurs p210, les translocations e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2, et le transcrite ABL en tant que contrôle endogène dans les échantillons de sang périphérique.^{7,8,9,10,11} La quantité de transcrite BCR-ABL dans l'échantillon du patient est rendue sous forme de rapport de pourcentage de BCR-ABL/ABL, et est également exprimée en réduction moléculaire logarithmique (valeur MR) par rapport à une base de référence de 100 % sur l'échelle internationale (IS), à l'aide du logiciel GeneXpert.

Deux contrôles sont inclus dans chaque test Xpert BCR-ABL Ultra : le contrôle endogène ABL et le contrôle de vérification de la sonde (CVS). Le contrôle endogène ABL normalise la cible BCR-ABL et garantit qu'une quantité suffisante d'échantillon est utilisée dans le test. Le CVS confirme la réhydratation des réactifs et le remplissage des tubes de PCR et que tous les réactifs, y compris les sondes et les colorants, sont présents et fonctionnels dans la cartouche.

6. Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni



Le kit Xpert BCR-ABL Ultra (GXBCRABL-US-10) contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 prélèvements ou échantillons de contrôle qualité. Le kit contient les éléments suivants :

Réactifs Xpert BCR-ABL Ultra

- Protéinase K (PK)
- Réactif de lyse (LY) (chlorure de guanidinium)
- Réactif de lavage (1)
 - Éthanol
 - Thiocyanate de guanidinium

10 de chaque par kit

- 10 x 130 µl par flacon
- 10 x 5,3 ml par flacon
- 10 x 2,9 ml par ampoule

Cartouches du test Xpert BCR-ABL Ultra avec des tubes réactionnels intégrés

- Billes 1, 2, 3 et 4 (lyophilisées)
- Réactif de rinçage
- Réactif d'éluion

10 par kit

- 1 de chaque par cartouche
- 2,0 ml par cartouche
- 2,5 ml par cartouche

CD

- Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)
- Instructions pour l'importation du fichier ADF dans le logiciel GeneXpert
- Mode d'emploi (notice d'utilisation)

1 par kit

Certificat d'analyse

1 par kit

Remarque

Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles sur le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com sous l'onglet ASSISTANCE (SUPPORT).

Remarque

La sérum-albumine bovine (bovine serum albumin, BSA) des billes de ce produit a été produite et fabriquée exclusivement à partir de plasma bovin provenant des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem. Pendant la fabrication, le produit n'a été mélangé à aucun autre produit d'origine animale.

6.2 Matériel requis mais non fourni

- Système d'instrument GeneXpert Dx ou système GeneXpert Infinity (le numéro de référence varie selon la configuration) ; instrument GeneXpert, ordinateur, lecteur de codes-barres et manuel d'utilisation.
 - Pour le système GeneXpert Dx : Logiciel GeneXpert Dx (version 5.1 ou ultérieure)
 - Pour les systèmes GeneXpert Infinity-80 et Infinity-48s : Logiciel Xpertise (version 6.6 ou ultérieure)
- Imprimante : Si une imprimante est requise, contacter le service d'assistance technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Agitateur à Vortex
- Microcentrifugeuse (1 000 x g minimum)
- Pipettes et embouts de pipettes à filtre anti-aérosol
- Tubes coniques de 50 ml
- Éthanol absolu de qualité réactif

6.3 Autre matériel recommandé mais non fourni

Le kit Xpert BCR-ABL IS Panel C130, numéro de référence C130 contient des contrôles qualité de Maine Molecular Quality Controls, Inc.

7. Conservation et manipulation



- Conserver les cartouches Xpert BCR-ABL Ultra à une température comprise entre 2 °C et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être prêt à réaliser le test.
- Ne pas utiliser les cartouches au-delà de la date d'expiration.
- Le réactif de lavage est un liquide limpide et incolore. Ne pas utiliser le réactif de lavage s'il est devenu trouble ou s'il est décoloré.
- Vingt minutes avant de commencer la procédure, retirer l'échantillon de sang, la cartouche et les réactifs de préparation des échantillons de leur lieu de stockage pour les laisser s'équilibrer à température ambiante (entre 20 °C et 30 °C).

8. Avertissements et mises en garde

8.1 Général

À usage diagnostique *in vitro*.

Utilisation uniquement sur ordonnance.



Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches usagées et les réactifs, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les échantillons biologiques doivent être traités en respectant les précautions standard puisqu'il est souvent impossible de déterminer ceux qui pourraient être infectieux. Les Centers for Disease Control and Prevention (Centres américains pour le contrôle et la prévention des maladies)¹² et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire)¹³ tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.

Respecter les procédures de sécurité établies par l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.

Les caractéristiques de performance de ce test ont été établies avec du sang prélevé dans des tubes EDTA uniquement. Les performances de ce test n'ont pas été évaluées sur d'autres types de spécimens ou d'échantillons.

Des résultats fiables dépendent de la collecte, du transport, du stockage et du traitement corrects des échantillons. Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison du prélèvement, de la manipulation ou de la conservation incorrects des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou d'un transcrite cible dans l'échantillon inférieur à la limite de détection du test. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les consignes de la notice et les *Manuels d'utilisation des systèmes GeneXpert Dx et GeneXpert Infinity* afin d'éviter d'obtenir des résultats erronés.

Réaliser le test Xpert BCR-ABL Ultra en dehors des plages recommandées de température et de durée de conservation peut produire des résultats erronés ou non valides.

Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés capables de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les consignes environnementales d'élimination des déchets établies par l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs non utilisés. Ces matériaux peuvent présenter des caractéristiques de déchets chimiques dangereux exigeant des procédures d'élimination spécifiques au niveau national ou régional. En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé].¹⁴

8.2 Échantillon

Maintenir des conditions de conservation correctes au cours du transport des échantillons afin d'assurer leur intégrité (voir la Section 10. Collecte, transport et conservation des échantillons). La stabilité des échantillons n'a pas été évaluée dans d'autres conditions d'expédition que celles qui sont recommandées.

Ne pas congeler les échantillons de sang entier.

La collecte, la conservation et le transport appropriés de l'échantillon sont essentiels pour obtenir des résultats corrects.

8.3 Test/Réactif

Ne pas remplacer les réactifs du Xpert BCR-ABL Ultra par d'autres réactifs.

Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche du Xpert BCR-ABL Ultra sauf lors de l'ajout de l'échantillon et du réactif de lavage.

Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée après l'avoir retirée de son emballage.

Ne pas agiter la cartouche. L'agitation ou la chute de la cartouche après l'ouverture de son couvercle peut conduire à des résultats non valides.

Ne pas placer l'étiquette du n° Id de l'échantillon sur le couvercle ou sur l'étiquette à code-barres de la cartouche.

Ne pas utiliser une cartouche dont l'étiquette à code-barres est endommagée.

Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.

Il est recommandé que les cartouches Xpert BCR-ABL Ultra soient à température ambiante (20 °C à 30 °C) lorsqu'elles sont utilisées pour réaliser des tests.

② Chaque cartouche de test Xpert BCR-ABL Ultra à usage unique est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.

② Ne pas réutiliser les embouts de pipette.

Ne pas utiliser une cartouche si elle semble humide ou si son couvercle semble avoir été descellé.

Ne pas utiliser la cartouche du test Xpert BCR-ABL Ultra si un réactif est ajouté à la mauvaise ouverture.

Ne pas ouvrir les cartouches du test Xpert BCR-ABL Ultra une fois le test terminé.

Des numérations de globules blancs excessivement élevées risquent d'entraîner une augmentation de la pression dans la cartouche et de mener à des séries interrompues.

Dédier un jeu de pipettes et de réactifs uniquement à la préparation des échantillons.

Porter une blouse propre et des gants. Changer de gants entre chaque échantillon.

En cas de renversement d'échantillons ou de contrôles, porter des gants et absorber le produit à l'aide de papier absorbant. Puis nettoyer minutieusement la zone contaminée avec une dilution au 1/10e d'eau de Javel domestique fraîchement préparée. La concentration finale en chlore actif doit être de 0,5 %, quelle que soit la concentration de l'eau de Javel domestique dans le pays concerné. Laisser en contact pendant deux minutes au minimum. S'assurer que la zone de travail est sèche avant d'utiliser de l'éthanol dénaturé à 70 % pour éliminer les résidus d'eau de Javel. Laisser complètement sécher la surface avant de continuer.

Ou suivre les procédures standard de l'établissement en cas de contamination ou de renversement. Pour le matériel, suivre les recommandations du fabricant pour la décontamination.

9. Risques chimiques^{15, 16}

Remarque Les informations ci-dessous s'appliquent à tout le produit contenant les réactifs protéinase K, de lyse, de lavage et de rinçage.

• Pictogramme de danger CLP/GHS :



• Mention d'avertissement : DANGER

Mentions de danger SGH ONU

- Liquide et vapeur très inflammables
- Provoque une irritation cutanée
- Provoque une sévère irritation des yeux
- Peut provoquer de la somnolence ou des vertiges
- Susceptible d'induire des anomalies génétiques

Conseils de prudence SGH ONU**• Prévention**

- Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.
- Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
- Tenir à l'écart de la chaleur, des étincelles, des flammes nues et/ou des surfaces chaudes. Ne pas fumer.
- Maintenir le récipient fermé de manière étanche.
- Éviter de respirer brouillards / vapeurs / aérosols.
- Se laver soigneusement après manipulation.
- Utiliser seulement à l'extérieur ou dans un endroit bien aéré.
- Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- Utiliser l'équipement de protection individuel requis.

• Réponse

- En cas d'incendie : utiliser les moyens appropriés pour l'extinction.
- EN CAS D'INHALATION : transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer.
- Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
- EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher.
- Traitement spécifique, voir les instructions supplémentaires de premiers secours.
- Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.
- En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.
- EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
- Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.
- EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.
- Garder au frais.
- Entreposer dans un endroit bien aéré. Maintenir le récipient fermé de manière étanche.
- Garder sous clef.
- Eliminer le contenu et/ou le récipient conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.

10. Collecte, transport et conservation des échantillons

- Les échantillons de sang total doivent être prélevés dans des tubes EDTA conformément aux directives de votre établissement. Les échantillons doivent être conservés à 4 °C pendant un maximum de 3 jours (72 heures) avant les tests. Le plasma ne doit pas être séparé des cellules.
- La collecte, la conservation et le transport appropriés de l'échantillon sont essentiels pour les performances de ce test. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport et de conservation autres que celles indiquées ci-dessous n'a pas été évaluée avec le test Xpert BCR-ABL Ultra.

11. Procédure

11.1 Avant de commencer

Vingt (20) minutes avant de commencer la procédure, retirer l'échantillon de sang et les réactifs de préparation des échantillons (dont les cartouches) de leur lieu de stockage réfrigéré pour les laisser s'équilibrer à température ambiante et passer brièvement la protéinase K (PK) dans une microcentrifugeuse.

Important

Si un instrument GeneXpert Dx est utilisé, commencer le test dans l'heure qui suit l'ajout de l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon dans la cartouche. Si un système GeneXpert Infinity est utilisé, veiller à commencer le test et à mettre la cartouche sur le tapis roulant dans les 15 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon traité avec le réactif échantillon dans la cartouche. La durée de conservation restante est suivie par le système, par le biais du logiciel Xpertise, de manière à ce que les tests soient exécutés avant la péremption de ces éléments, qui a lieu au bout d'une heure en machine.

Important

Sortir la cartouche de l'emballage en carton avant de préparer l'échantillon. (Voir Section 11.3, Préparation de la cartouche)

11.2 Préparation de l'échantillon

1. Au fond d'un nouveau tube conique de 50 ml, ajouter 100 µl de PK (protéinase K).
2. S'assurer que l'échantillon de sang est bien mélangé en inversant le tube de prélèvement de sang 8 fois immédiatement avant le pipetage. Consulter les instructions du fabricant pour le tube de prélèvement sanguin EDTA.
3. Dans le tube contenant déjà la protéinase K, ajouter 4 ml d'échantillon sanguin.
4. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale.
5. Incuber à température ambiante pendant 1 minute.
6. Ajouter au même tube 2,5 ml de réactif de lyse (LY).

Remarque

Conserver le réactif de lyse restant pour l'utiliser à nouveau à l'Étape 13.

7. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
8. Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
9. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
10. Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
11. Mélanger l'échantillon en tapotant 10 fois le fond du tube.
12. Transférer 1 ml de lysat préparé dans un nouveau tube conique de 50 ml.

Remarque

Stocker le lysat restant à 4 °C pendant un délai maximum de 4 heures ou stocker à -20 °C, ou moins, jusqu'à 24 heures.

13. Dans le nouveau tube conique contenant le lysat, ajouter 1,5 ml du réactif de lyse (LY) conservé à l'Étape 6.
14. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
15. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes.
16. Au même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité réactif (fourni par l'utilisateur).
17. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale. Mettre de côté.
18. Éliminer les réactifs PK ou LY restants.

11.3 Préparation de la cartouche

Pour ajouter l'échantillon dans la cartouche Xpert BCR-ABL Ultra :

1. Sortir la cartouche de l'emballage.
2. Examiner la cartouche pour vérifier qu'elle n'est pas endommagée. Si elle est endommagée, ne pas l'utiliser.
3. Ouvrir la cartouche en soulevant son couvercle et transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage (1) dans la chambre de réactif de lavage (avec la petite ouverture). Voir la Figure 1.
4. Pipeter le contenu tout entier de l'échantillon préparé dans la chambre à échantillon (grande ouverture). Voir la Figure 1.

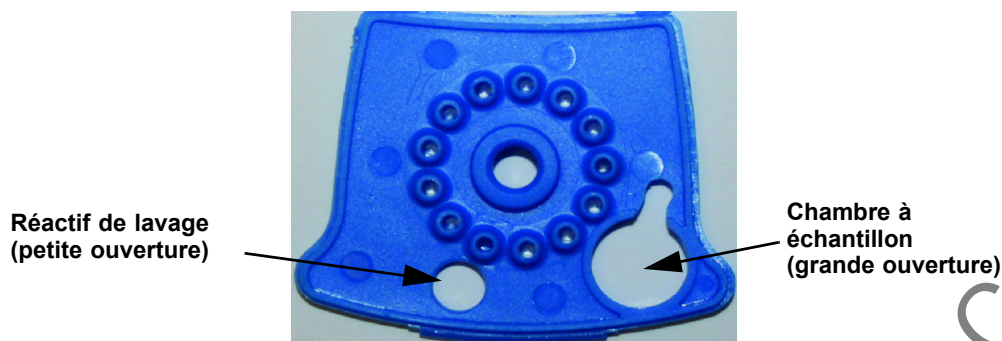


Figure 1. Cartouche Xpert BCR-ABL Ultra (vue de dessus)

5. Fermer le couvercle de la cartouche. S'assurer que le couvercle s'enclenche fermement en place. Lancer le test (voir Section 11.5, Démarrage du test).

11.4 Contrôles externes

Les contrôles externes décrits à la Section 6.3, Autre matériel recommandé mais non fourni sont disponibles mais ne sont pas fournis. Ils peuvent être utilisés conformément aux organisations d'accréditation locales, régionales et nationales, selon les besoins.

Pour analyser un contrôle en utilisant le test Xpert BCR-ABL Ultra, suivre les étapes ci-dessous :

1. Laisser les contrôles Xpert BCR-ABL IS Panel C130 revenir à température ambiante (entre 20 °C et 30 °C), pendant environ 30 minutes.
2. Juste avant utilisation, mélanger le tube de contrôle externe en le retournant 5 à 10 fois puis en le passant brièvement sur un agitateur à vortex pendant 10 à 15 secondes à vitesse moyenne.
3. Au fond d'un nouveau tube conique de 50 ml, ajouter 100 µl de PK (protéinase K).
4. Dans le tube contenant déjà la protéinase K, ajouter 4 ml de contrôle externe.
5. Mélanger le contrôle externe à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale.
6. Incuber à température ambiante pendant 1 minute.
7. Au même tube, ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY).

Remarque Conserver le réactif de lyse restant pour l'utiliser à nouveau à l'Étape 14.

8. Mélanger le contrôle externe à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
9. Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
10. Mélanger le contrôle externe à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
11. Incuber à température ambiante pendant 5 minutes.
12. Mélanger le contrôle externe en tapotant 10 fois le fond du tube.
13. Transférer 1 ml de l'échantillon de contrôle externe préparé dans un nouveau tube conique de 50 ml.
14. Dans le nouveau tube conique contenant l'échantillon de contrôle externe, ajouter 1,5 ml du réactif de lyse (LY) conservé de l'Étape 7.
15. Mélanger le contrôle externe à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
16. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes.
17. Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité pour réactif (non fourni).
18. Mélanger le contrôle externe à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
19. Ouvrir la cartouche en soulevant son couvercle et transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage (1) dans la chambre de réactif de lavage (avec la petite ouverture). Voir la Figure 1.
20. Pipeter tout le contenu du contrôle externe préparé dans la chambre à échantillon (grande ouverture). Voir la Figure 1.
21. Fermer le couvercle de la cartouche. Lancer le test (voir la Section 11.5, Démarrage du test).

11.5 Démarrage du test

Important	<p>Si un instrument GeneXpert Dx est utilisé, commencer le test dans l'heure qui suit l'ajout de l'échantillon dans la cartouche. Si un système GeneXpert Infinity est utilisé, veiller à commencer le test et à mettre la cartouche sur le tapis roulant dans les 15 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon dans la cartouche. Le système logiciel Xpertise suit la durée de conservation restante de manière à ce que les tests soient exécutés avant la péremption de ces éléments, qui a lieu au bout d'une heure en machine.</p>
Important	<p>Avant de démarrer le test, vérifier que le système fonctionne sous le logiciel GeneXpert Dx (version 5.1 ou ultérieure) ou le logiciel Infinity Xpertise (version 6.6 ou ultérieure) et que le fichier de définition du test Xpert BCR-ABL Ultra a été importé dans le logiciel. Cette section indique les étapes par défaut pour utiliser les systèmes GeneXpert Dx et GeneXpert Infinity. Pour des instructions détaillées, consulter le Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx ou le Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity, selon le modèle utilisé.</p>
Remarque	<p>Les étapes à suivre peuvent être différentes si l'administrateur du système a modifié le schéma opérationnel par défaut du système.</p>
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Mettre le système GeneXpert sous tension : <ul style="list-style-type: none"> • Si le système GeneXpert Dx est utilisé, commencer par mettre l'instrument GeneXpert Dx sous tension, puis allumer l'ordinateur. Le logiciel GeneXpert Dx se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel GeneXpert Dx sur le bureau Windows®. <li style="text-align: center;">ou • Si le système GeneXpert Infinity est utilisé, allumer l'instrument. Le logiciel Xpertise se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel Xpertise sur le bureau Windows. 2. Se connecter au logiciel GeneXpert en saisissant le nom d'utilisateur et le mot de passe. 3. Dans la fenêtre GeneXpert, cliquer sur Créer un test (Create Test) (GeneXpert Dx) ou Commandes (Orders) et Commander Test (Order Test) (Infinity). La fenêtre Créer un test (Create Test) s'affiche. 4. Lire ou saisir le n° Id du patient (Patient ID) (facultatif). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id du patient (Patient ID). Le n° Id du patient (Patient ID) est affiché sur le côté gauche de la fenêtre Afficher les résultats (View Results) et est associé aux résultats du test. 5. Lire ou saisir le n° Id de l'échantillon (Sample ID). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id de l'échantillon (Sample ID). Le n° Id de l'échantillon (Sample ID) est affiché sur le côté gauche de la fenêtre Afficher les résultats (View Results) et est associé aux résultats du test. 6. Lire le code-barres sur la cartouche Xpert BCR-ABL Ultra. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : N° du lot (Reagent Lot ID), Numéro de série de la cartouche (Cartridge SN) et Date d'expiration (Expiration Date).
Remarque	<p>S'il n'est pas possible de scanner le code-barres sur la cartouche Xpert BCR-ABL Ultra, refaire le test avec une nouvelle cartouche.</p>
	<ol style="list-style-type: none"> 7. Cliquer sur Démarrer le test (Start Test) (GeneXpert Dx) ou sur Soumettre (Submit) (Infinity). Saisir votre mot de passe dans la boîte de dialogue qui apparaît. 8. Pour le système GeneXpert Infinity, placer la cartouche sur le tapis roulant. La cartouche sera automatiquement chargée, le test sera exécuté et la cartouche usagée sera placée dans le conteneur à déchets. <li style="text-align: center;">ou Pour l'instrument GeneXpert Dx : <ol style="list-style-type: none"> A. Ouvrir la porte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant et charger la cartouche. B. Fermer la porte. Le test démarre et le voyant vert arrête de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint. C. Attendre que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir et de retirer la cartouche. 9. Éliminer les cartouches usagées dans un conteneur à déchets pour échantillons approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.
Remarque	<p>Le délai d'obtention du résultat est d'environ 2 heures.</p>

12. Affichage et impression des résultats

Cette section énumère les étapes de base pour l'affichage et l'impression des résultats. Pour obtenir des instructions détaillées sur l'affichage et l'impression des résultats, consulter le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*.

- Cliquer sur l'icône **Afficher les résultats (View Results)** pour afficher les résultats.
- Une fois le test terminé, cliquer sur le bouton **Rapport (Report)** de l'écran Afficher les résultats (View Results) pour afficher et/ou créer un fichier de rapport au format PDF.

13. Contrôle qualité

CONTROL

Chaque cartouche contient un contrôle endogène ABL et un contrôle de vérification de la sonde (CVS).

Contrôle endogène ABL — Le contrôle endogène ABL vérifie que la quantité suffisante d'échantillon est utilisée avec le test. Ce contrôle détecte également l'inhibition associée à l'échantillon du test de PCR en temps réel. L'ABL réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.

Contrôle de vérification de la sonde (CVS) — Avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert mesure le signal de fluorescence des sondes pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels et si tous les composants des réactifs sont fonctionnels dans la cartouche. Le CVS réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.

Contrôles externes — Des contrôles externes peuvent être utilisés conformément aux organisations d'accréditation locales, régionales et nationales, selon les besoins.

14. Interprétation des résultats

Les résultats sont automatiquement interprétés par le système GeneXpert à partir des signaux de fluorescence mesurés et des algorithmes de calcul intégrés, puis sont affichés dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results). Tous les résultats et interprétations possibles sont indiqués dans le Tableau 1.

Tableau 1. Résultats et interprétation du test Xpert BCR-ABL Ultra

Résultat	Interprétation
POSITIF (POSITIVE) Voir les Figure 2, Figure 3, Figure 4	Le transcrit BCR-ABL a été détecté. <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL POSITIF (BCR-ABL POSITIVE) – Le transcrit BCR-ABL a été détecté et présente un cycle seuil (Ct) dans la plage valide et une valeur finale au-dessus du seuil défini. • Résultats positifs possibles : <ul style="list-style-type: none"> • POSITIF [# ,## % (IS) et MR# ,##] (POSITIVE [# .##% (IS) and MR# .##] ; Figure 2. • POSITIF [Supérieur à la LDQ supérieure] (POSITIVE [Above upper LoQ] ; Figure 3. • (POSITIF [Sous la LDD ; >MR4,52/<0,0030 % (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)] ; Figure 4. • ABL RÉUSSITE (PASS) ; le transcrit ABL a été détecté et présente un cycle seuil (Ct) dans la plage valide et une valeur finale au-dessus du seuil défini. • Quand la valeur Ct ABL est inférieure à 18, un nombre minimum de 32 000 copies d'ABL était présent dans la réaction.^{17,18} • Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.

Tableau 1. Résultats et interprétation du test Xpert BCR-ABL Ultra (Suite)

Résultat	Interprétation
NÉGATIF (NEGATIVE) Voir Figure 5	Le transcrit BCR-ABL n'a pas été détecté. <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL NÉGATIF (NEGATIVE) [Transcrit ABL suffisant] ; le transcrit BCR-ABL n'a pas été détecté et a un cycle seuil (Ct) supérieur au cycle valide. • ABL RÉUSSITE (PASS) ; le transcrit ABL a été détecté et présente un cycle seuil (Ct) dans la plage valide et une valeur finale au-dessus du seuil défini. • Quand la valeur Ct ABL est inférieure à 18, un nombre minimum de 32 000 copies d'ABL était présent dans la réaction.^{17,18} • Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
NON VALIDE (INVALID) Voir Figure 6	Le niveau de transcrit BCR-ABL ne peut pas être déterminé. <ul style="list-style-type: none"> • NON VALIDE (INVALID) – Le niveau de transcrit BCR-ABL ne peut pas être déterminé car l'échantillon contient un excédent de transcrits BCR-ABL et/ou ABL. Voir la Section 17., Guide de dépannage pour obtenir des instructions supplémentaires pour retester l'échantillon. • ABL – ÉCHEC (FAIL) – Le cycle seuil (Ct) d'ABL n'était pas dans la plage valide ou la valeur finale était en dessous du seuil défini. Figure 6. Voir la Section 17., Guide de dépannage pour obtenir des instructions supplémentaires pour retester l'échantillon. • Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
ERREUR (ERROR) Voir Figure 7	Le niveau de transcrit BCR-ABL ne peut pas être déterminé. Voir la Section 17., Guide de dépannage, pour obtenir des instructions supplémentaires pour retester l'échantillon. <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • ABL – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Vérification de la sonde – ÉCHEC (FAIL) – Échec d'un ou de tous les résultats de vérification de la sonde. • Vérification de la sonde RÉUSSITE (PASS) ou SO (NA) (sans objet) et pression interrompue. <p>* Si la vérification de la sonde a réussi ou affiche /S, l'erreur est due au dépassement de la limite de pression maximale au-delà de la plage acceptable ou à la défaillance d'un composant du système.</p>
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	Le niveau de transcrit BCR-ABL ne peut pas être déterminé. Les données recueillies sont insuffisantes pour produire un résultat de test. Par exemple, cela peut arriver si l'opérateur a interrompu un test en cours. Voir la Section 17., Guide de dépannage, pour obtenir des instructions supplémentaires pour retester l'échantillon. <ul style="list-style-type: none"> • BCR-ABL – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • ABL – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Vérification de la sonde – SO (NA) (sans objet)

15. Résultats quantitatifs

Un certificat d'analyse est fourni avec chaque kit de test Xpert BCR-ABL Ultra et contient une courbe d'étalonnage spécifique au lot pour le kit de test Xpert BCR-ABL Ultra et une valeur d'efficacité ($E_{\Delta Ct}$). La valeur d'efficacité est intégrée au code-barres de la cartouche du test Xpert BCR-ABL Ultra. Consulter le certificat d'analyse pour des calculs détaillés de la valeur d'efficacité. Chaque lot de kits contient également un facteur d'échelle (SF) spécifique au lot intégré dans le code-barres qui relie le résultat quantitatif du test à l'échelle internationale (IS).⁷ Les résultats du test sont fournis avec le résultat quantitatif du test dans les échelles % (IS) et de réponse moléculaire (MR) (voir Tableau 2 et Tableau 3). Ces valeurs quantitatives doivent être interprétées dans le contexte de la précision du test Xpert BCR-ABL (voir la Section 22., Précision et reproductibilité).

Tableau 2. Corrélation de la réduction de logs, de l'échelle internationale (IS) et de la réponse moléculaire (MR)

Réduction de logs dans % BCR-ABL/ABL (IS)	MR	% BCR-ABL/ABL (IS) ^a
0	0	100
1	1	10
2	2	1
3	3	0,1
4	4	0,01
4,5	4,5	0,0032
5	5	0,001

a. % BCR-ABL/ABL (IS) = % (IS).

$$MR_{xx,x} = \log_{10}[100/\text{déterminé \% (IS)}] = \log_{10}(100) - \log_{10}[\text{déterminé \% (IS)}] = 2 - \log_{10}[\text{déterminé \% (IS)}]$$

Tableau 3. Exemples de résultats du test Xpert BCR-ABL Ultra

Test	BCR/ABL		ABL		Résultats du test Xpert BCR-ABL Ultra	Remarques
	Ct	Résultat	Ct	Résultat		
1	7,1	NON VALIDE (INVALID)	7,3	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [Transcrits BCR-ABL et ABL trop élevés] (INVALID [Too high BCR-ABL and ABL transcripts])	Valeur % calculée : 149,92 %
2	8,1	NON VALIDE (INVALID)	7,9	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [Transcrit ABL trop élevé] (INVALID [Too high ABL transcript])	Valeur % calculée : 121,05 %
3	7,9	NON VALIDE (INVALID)	8,1	RÉUSSITE (PASS)	NON VALIDE [Transcrit BCR-ABL trop élevé] (INVALID [Too high BCR-ABL transcript])	Valeur % calculée : 149,92 %
4	11,4	POS	10,9	RÉUSSITE (PASS)	POSITIF [Supérieur à la LDQ supérieure] (POSITIVE [Above upper LoQ])	Valeur % calculée : 78,92 %
5	18,2	POS	13,5	RÉUSSITE (PASS)	POSITIF [33,93 % (IS) et MR0,47] (POSITIVE [33.93% (IS) and MR0.47])	Valeur % calculée : 33,93 %
6	21,4	POS	13,4	RÉUSSITE (PASS)	POSITIF [4,68 % (IS) et MR1,33] (POSITIVE [4.68% (IS) and MR1.33])	Valeur % calculée : 4,68 %
7	28,6	POS	15,2	RÉUSSITE (PASS)	POSITIF [0,012 % (IS) et MR3,92] (POSITIVE [0.012% (IS) and MR3.92])	Valeur % calculée : 0,012 %
8	30,0	POS	12,7	RÉUSSITE (PASS)	POSITIF [Sous la LDD ; >MR4,52/<0,0030 % (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])	Valeur % calculée : 0,0008 %
9	0	NEG	13,3	RÉUSSITE (PASS)	NÉGATIF [Transcrit ABL suffisant] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	0 %
10	31,6	NON VALIDE (INVALID)	18,2	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	S.O.
11	0	NON VALIDE (INVALID)	18,6	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	S.O.
12	0	NON VALIDE (INVALID)	0	ÉCHEC (FAIL)	NON VALIDE [Pas de transcript ABL] (INVALID [No ABL transcript])	S.O.
13	0	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	0	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	ERREUR (ERROR)	Par exemple, Erreur (Error) 5017 : [ABL] Échec de vérification de la sonde ([ABL] probe check failed)

15.1 POSITIF [#,## % (IS) et MR#,##] (POSITIVE [#.##% (IS) and MR#.#])

BCR-ABL a été détecté à un niveau de #,## % (IS) et MR#,##.

Pour un résultat **POSITIF [#,##% (IS) et MR#,##] (POSITIVE [#.##% (IS) and MR#.#])**, BCR-ABL peut être détecté avec un Ct BCR-ABL supérieur ou égal à « 8 » et inférieur ou égal au seuil de « 32 » et un Ct ABL supérieur ou égal à « 8 » et inférieur ou égal à « 18 ». Le logiciel GeneXpert calcule le % (IS) en utilisant l'équation suivante où la valeur Delta Ct (ΔCt) est obtenue à partir du Ct ABL moins le Ct BCR-ABL :

$$\% (IS) = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Facteur d'échelle } (SF)$$

Remarque

Le facteur d'échelle (SF) est un paramètre spécifique au lot qui est intégré dans le code-barres de la cartouche de test. La valeur de ce facteur et l'efficacité du test spécifique au lot ($E_{\Delta Ct}$) sont déterminées dans le test de contrôle qualité de chaque lot de tests à l'aide des normes secondaires étalonnées sur le panel de référence génétique international de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la quantification de transcrite BCR-ABL.⁷ Ensemble, les normes secondaires et les valeurs $E_{\Delta Ct}$ et SF spécifiques au lot, alignent le résultat quantitatif du test par rapport à l'IS. Le $E_{\Delta Ct}$ est défini pour 1,92 et la valeur SF est définie sur 1,22 pour une utilisation dans l'exemple indiqué ici.

Exemple : spécifique au lot $E_{\Delta Ct} = 1,92$; $SF = 1,22$
 Ct ABL du test = 11,3 ; Ct BCR-ABL = 18 ; $\Delta Ct = -6,7$
 $\% (IS) = 1,92^{(-6,7)} \times 100 \times 1,22 = 1,54 \%$ (IS)
 $MR_{x,xx} = \log_{10}[100/\text{déterminé } \% (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(1,54) = 2 - \log_{10}(1,54) = MR1,81$.

Résultat : **POSITIF [1,54 % (IS) et MR1,81] (POSITIVE [1.54% (IS) and MR1.81])**. Voir la Figure 2.

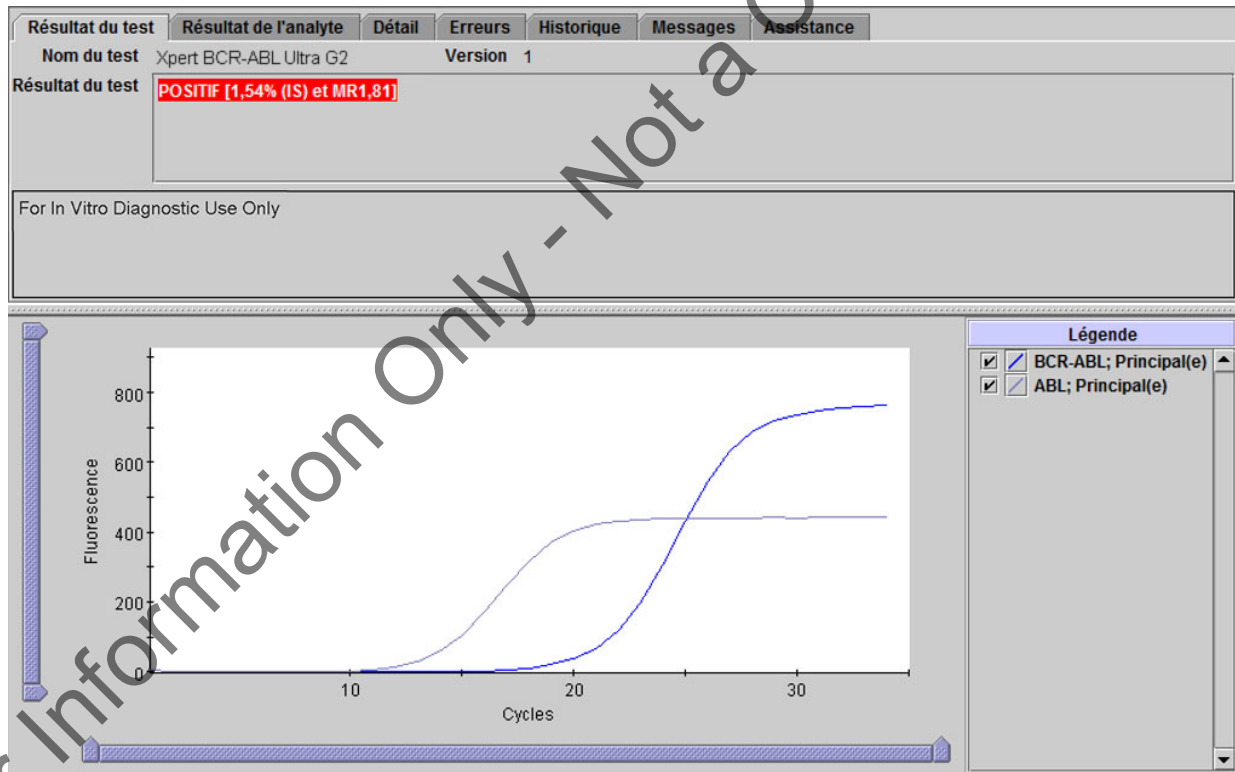


Figure 2. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert Dx : **POSITIF [1,54 % (IS) et MR1,81]**

15.2 POSITIF [Supérieur à la LDQ supérieure] (POSITIVE [Above upper LoQ])

BCR-ABL a été détecté à un niveau de $>55\%$ (*IS*) et $<MR0,26$.

Pour un résultat **POSITIF [Supérieur à la LDQ supérieure] (POSITIVE [Above upper LoQ])**, BCR-ABL peut être détecté avec un Ct BCR-ABL supérieur ou égal à « 8 » et inférieur ou égal au seuil de « 32 » et un Ct ABL supérieur ou égal à « 8 » et inférieur ou égal à « 18 ». Le logiciel GeneXpert calcule le % (*IS*) en utilisant l'équation suivante où la valeur Delta Ct (ΔCt) est obtenue à partir du Ct ABL moins le Ct BCR-ABL :

$$\% (IS) = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Facteur d'échelle} (SF)$$

Remarque

Le facteur d'échelle (*SF*) est un paramètre spécifique au lot qui est intégré dans le code-barres de la cartouche de test. La valeur de ce facteur et l'efficacité du test spécifique au lot ($E_{\Delta Ct}$) sont déterminées dans le test de contrôle qualité de chaque lot de tests à l'aide des normes secondaires étalonnées sur le panel de référence génétique international de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la quantification de transcrit BCR-ABL. Ensemble, les normes secondaires et les valeurs $E_{\Delta Ct}$ et *SF* spécifiques au lot, alignent le résultat quantitatif du test par rapport à l'*IS*. Le $E_{\Delta Ct}$ est défini pour 1,92 et la valeur *SF* est définie sur 1,10 pour une utilisation dans l'exemple indiqué ici.

Exemple : spécifique au lot $E_{\Delta Ct} = 1,92$; $SF = 1,10$
 Ct ABL du test = 13,4 ; Ct BCR-ABL = 14,2 ; $\Delta Ct = -0,8$
 $\% (IS) = 1,92^{(-0,8)} \times 100 \times 1,10 = 65\%$ est supérieur à la LDQ supérieure du test définie à 55 % (*IS*)
 $MR_{x,xx} = \log_{10}[100/\text{déterminé } \% (IS)] = \log_{10}(100) - \log_{10}(65) = 2 - \log_{10}(65) = MR0,19$ est inférieur à la LDQ supérieure du test définie à $MR0,26$.

Résultat : **POSITIF [Supérieur à la LDQ supérieure] (POSITIVE [Above upper LoQ])**. Voir la Figure 3.

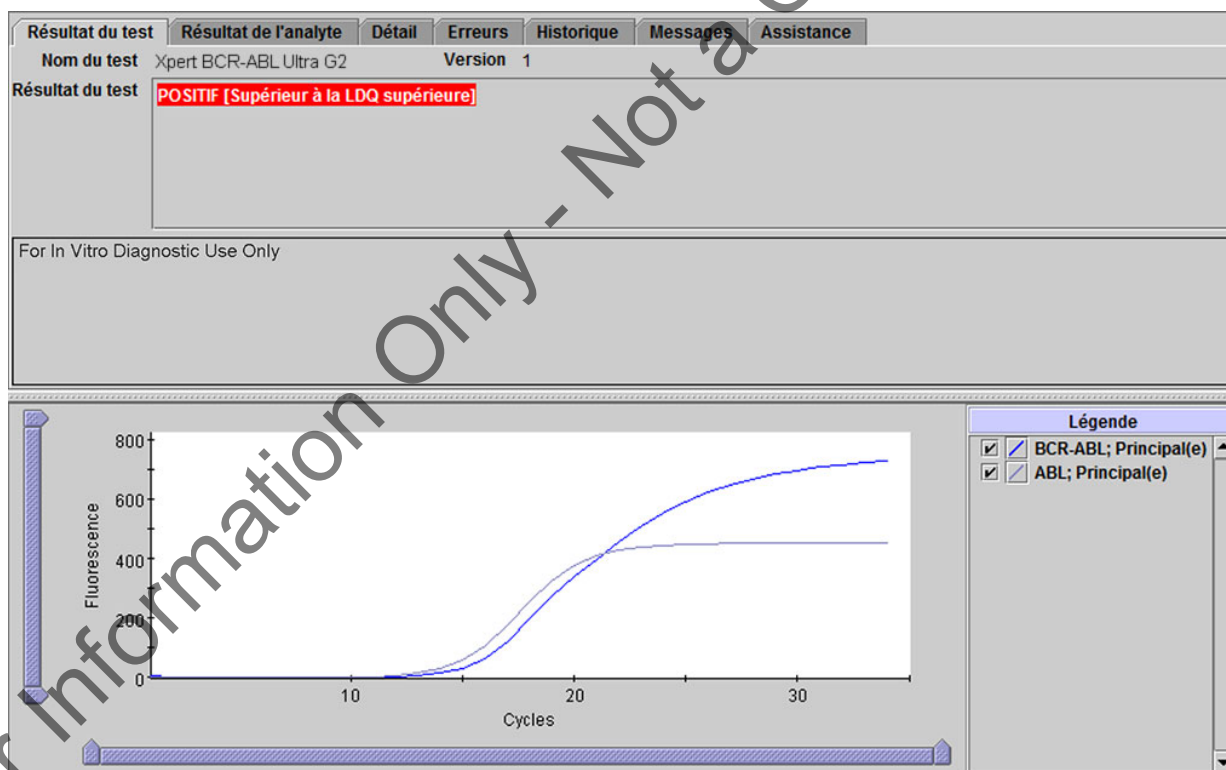


Figure 3. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert Dx :
POSITIF [Supérieur à la LDQ supérieure]

15.3 POSITIF [Sous la LDD ; >MR4,52/<0,0030 % (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])

BCR-ABL a été détecté à un niveau de <0,0030 % (IS) et >MR4,52.

Pour un résultat **POSITIF [Sous la LDD ; >MR4,52/<0,0030 % (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])**, BCR-ABL peut être détecté avec un Ct BCR-ABL supérieur ou égal à « 8 » et inférieur ou égal au seuil de « 32 » et un Ct ABL supérieur ou égal à « 8 » et inférieur ou égal à « 18 ». Le logiciel GeneXpert calcule le % (IS) en utilisant l'équation suivante où la valeur Delta Ct (ΔCt) est obtenue à partir du Ct ABL moins le Ct BCR-ABL :

$$\% (IS) = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Facteur d'échelle (SF)}$$

Remarque

Le facteur d'échelle (SF) est un paramètre spécifique au lot qui est intégré dans le code-barres de la cartouche de test. La valeur de ce facteur et l'efficacité du test spécifique au lot ($E_{\Delta Ct}$) sont déterminées dans le test de contrôle qualité de chaque lot de tests à l'aide des normes secondaires étalonnées sur le panel de référence génétique international de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la quantification de transcrit BCR-ABL. Ensemble, les normes secondaires et les valeurs $E_{\Delta Ct}$ et SF spécifiques au lot, alignent le résultat quantitatif du test par rapport à l'IS. Le $E_{\Delta Ct}$ est défini pour 1,91 et la valeur SF est définie sur 1,14 pour une utilisation dans l'exemple indiqué ici.

Exemple : spécifique au lot $E_{\Delta Ct} = 1,91$; $SF = 1,14$
 Ct ABL du test = 12,5 ; Ct BCR-ABL = 29 ; $\Delta Ct = -16,6$
 $\% (IS) = 1,91^{(-16,6)} \times 100 \times 1,14 = 0,0025 \%$ est inférieur à la LDD du test définie à 0,0030 % (IS)
 $MR_{xx,x} = \log_{10}[100/\text{déterminé \% (IS)}] = \log_{10}(100) - \log_{10}(0,0025) = 2 - \log_{10}(0,0025) = MR4,60$ est supérieur à la LDD du test définie à MR4,52.

Résultat : **POSITIF [Sous la LDD ; >MR4,52/<0,0030 % (IS)] (POSITIVE [Below LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)])**. Voir la Figure 4.

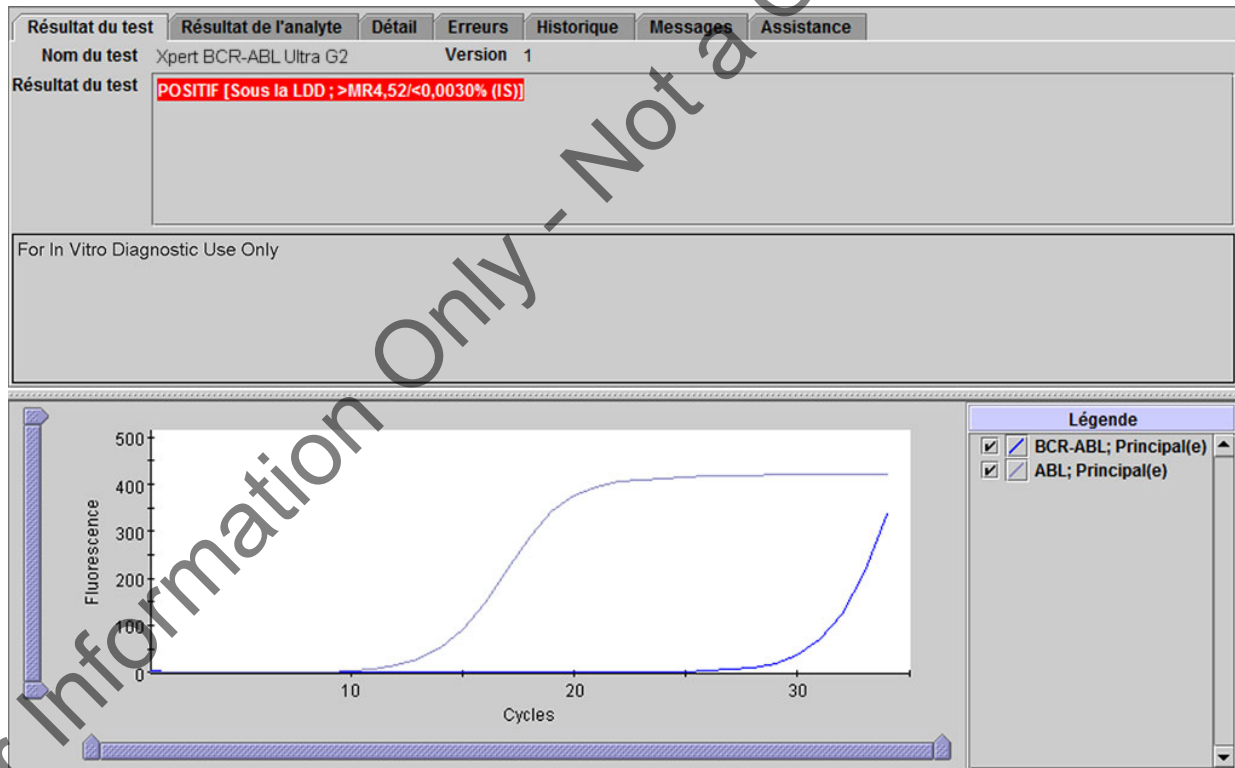


Figure 4. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert Dx : POSITIF [Sous la LDD ; >MR4,52/<0,0030 % (IS)]

15.4 NÉGATIF [Transcrit ABL suffisant] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])

BCR-ABL n'a pas été détecté avec le Ct BCR-ABL égal à « 0 » ou supérieur au seuil de « 32 » et le Ct ABL supérieur à « 8 » et inférieur ou égal à « 18 ».

Lorsque BCR-ABL est indétectable avec le Ct BCR-ABL égal à « 0 » ou supérieur au seuil de « 32 », le logiciel GeneXpert recherche d'abord le Ct ABL pour confirmer si le Ct ABL est supérieur ou égal à « 8 » et inférieur ou égal à « 18 » pour s'assurer d'avoir « Transcrit ABL suffisant ». Voir Section 14., Interprétation des résultats, Tableau 1.

Exemple :

Ct BCR-ABL du test = 0 ; Ct ABL = 11,3 est inférieur à « 18 ».

Résultat : **NÉGATIF [Transcrit ABL suffisant] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])**. Voir la Figure 5.

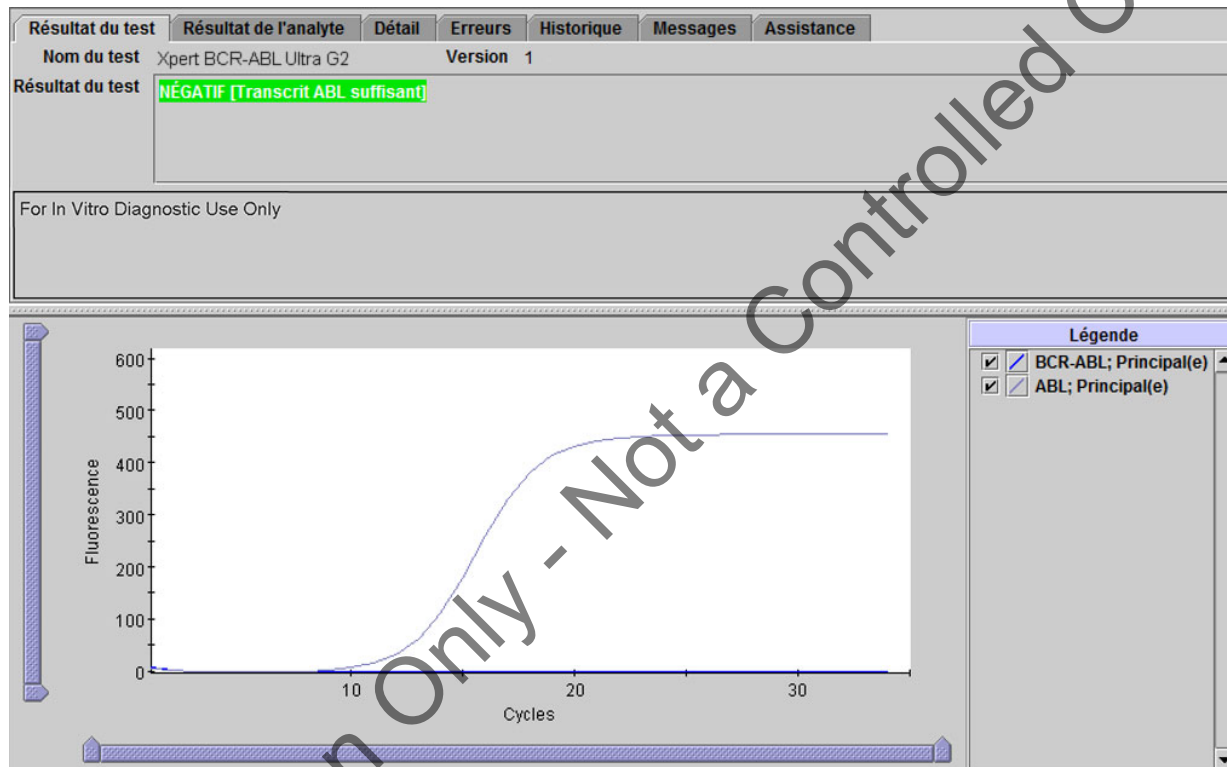


Figure 5: Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert Dx :
NÉGATIF [Transcrit ABL suffisant]

15.5 NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

BCR-ABL a été détecté ou non détecté avec le Ct ABL supérieur à « 18 ».

Lorsque BCR-ABL est détecté ou non détecté, le logiciel GeneXpert recherche d'abord le Ct ABL pour confirmer si le Ct ABL est inférieur ou égal à « 18 » pour s'assurer d'avoir « Transcrit ABL suffisant ». Consulter la Section 17., Guide de dépannage.

Exemple :

Ct BCR-ABL du test = 0 ; Ct ABL = 24 est supérieur à « 18 ».

Résultat : **NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Voir la Figure 6.

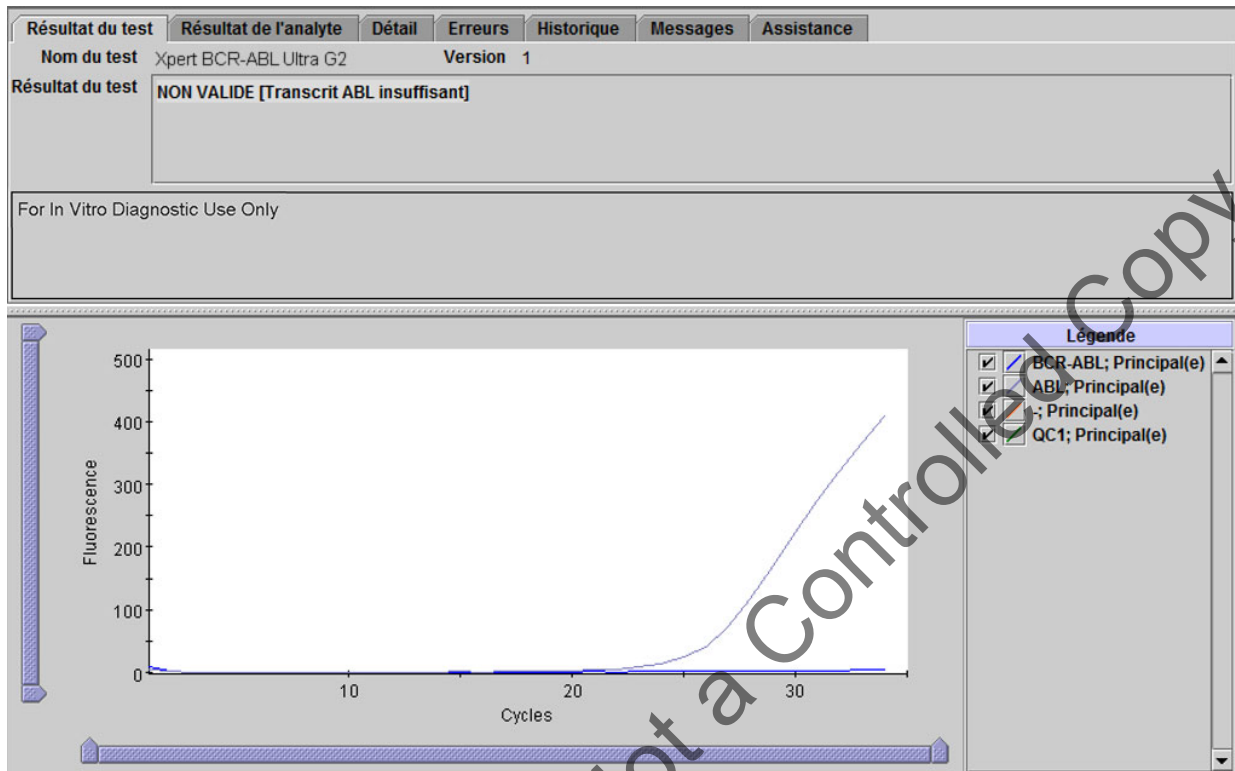


Figure 6. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du système GeneXpert Dx :
NON VALIDE [Transcrit ABL insuffisant]

15.6 ERREUR (ERROR)

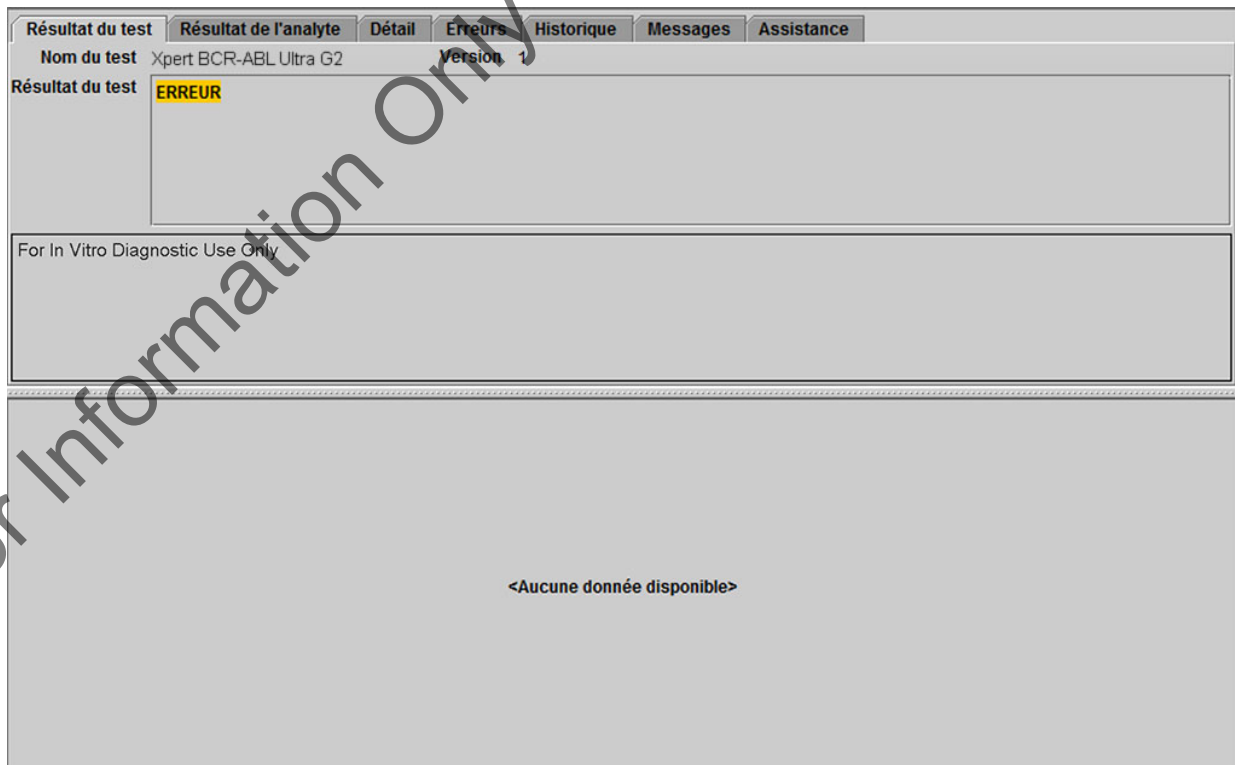


Figure 7. Fenêtre Afficher les résultats (View Results) du GeneXpert Dx : ERREUR

16. Limites du test

- Le produit est réservé à une utilisation de diagnostic *in vitro*.
- Attention : la loi fédérale américaine restreint la vente de ce dispositif à un praticien de santé habilité ou sur son ordre.
- Le test n'est pas conçu pour être utilisé avec des étalons externes.
- La précision du test n'a pas été démontrée ni assurée en dessous de MR4,5.
- Le test n'est indiqué ni pour déterminer l'interruption du traitement par inhibiteurs de la tyrosine kinase ni pour la prise en charge après l'interruption du traitement.
- Les performances du test Xpert BCR-ABL Ultra ont été validées en utilisant uniquement les procédures fournies dans cette notice. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test.
- Ce produit a été validé pour le sang prélevé dans des tubes EDTA.
- Ne pas utiliser d'héparine comme anticoagulant car elle peut inhiber la réaction par PCR.
- Les types d'échantillon sur citrate de sodium, de couche leuco-plaquettaire et de moelle osseuse n'ont pas été validés.
- Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison d'une collecte, d'une manipulation ou d'une conservation incorrecte de l'échantillon ou d'une confusion entre les échantillons. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.
- Le test Xpert BCR-ABL Ultra est uniquement conçu pour détecter les transcrits de fusion BCR-ABL p210 e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2, sans les différencier. La capacité à détecter d'autres transcrits de fusion n'a pas été évaluée au-delà de ceux décrits dans ces instructions d'utilisation. Le test ne détecte pas les micro-points de rupture, les points de rupture mineurs, les micro-suppressions ni les mutations.
- Le Xpert BCR-ABL Ultra n'est pas destiné à détecter les translocations e1a2 (p190), e19a2 (p230) ou d'autres translocations mineures pouvant être présentes dans un échantillon de sang périphérique provenant d'un patient atteint de leucémie.
- Le Xpert BCR-ABL Ultra ne détectera pas les transcrits de fusion aberrants e13a2/b2a2 où une partie de la séquence est déléetée, adjacente au point de rupture.
- Pour certains échantillons avec des numérations de globules blancs très élevées (supérieures à 30 millions de cellules/ml), Xpert BCR-ABL Ultra peut rapporter des résultats **NON VALIDE (INVALID)** (Type 2) en raison d'un excédent de BCR-ABL ou ABL dans l'échantillon. Consulter Tableau 4, Guide de dépannage pour plus d'informations.
- Certains échantillons avec de très faibles taux de transcrits ABL ou avec des globules blancs inférieurs à 150 000 cellules/ml peuvent être rapportés comme **NON VALIDE (INVALID)** (Type 1). Un résultat non déterminé n'exclut pas la présence de très faibles taux de cellules leucémiques chez le patient.
- Un transcrit p230 de LMC avec un micro-point de rupture e19a2 peut indiquer un résultat BCR-ABL positif inférieur à la LDD du test (0,0030 % (IS)/MR4,52) en cas de test à des niveaux cibles élevés (>3,52 logs au-dessus de la LDD).
- Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison d'amorce ou de sonde peuvent affecter la détection de variantes nouvelles ou inconnues, produisant un résultat faussement négatif.
- Certains patients avec de très faibles taux de transcrits BCR-ABL1 (c.-à-d., inférieurs à la LDD de 0,0030 % (IS) ou supérieurs à MR4,52) peuvent être rapportés comme **NÉGATIF [Transcrit ABL suffisant] (NEGATIVE [Suffisant ABL transcript])**. Un résultat non détecté n'exclut pas la présence de faibles taux de cellules leucémiques chez le patient.
- Le test a été validé pour une utilisation sur les systèmes GeneXpert Dx (GX-I, GX-II, GX-IV, GX-XVI) et GeneXpert Infinity (Infinity-48s et Infinity-80) de Cepheid.

17. Guide de dépannage

Tableau 4. Guide de dépannage

Résultat du test	Causes possibles	Suggestions
NON VALIDE (INVALID)	Type 1 : Échec du contrôle endogène ABL : <ul style="list-style-type: none"> Échantillon de mauvaise qualité Inhibition de la RT-PCR Si Ct ABL > 18, et/ou la valeur finale < 200 	<ul style="list-style-type: none"> Vérifier la qualité de l'échantillon (par ex., exigence de conservation de l'échantillon dépassée, dont la durée et la température). Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 18.1, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 1).
	Type 2 : Le niveau de transcrit BCR-ABL ne peut pas être déterminé car l'échantillon contient un excédent de transcrits BCR-ABL et/ou ABL (Ct < 8)	Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 18.2, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) (Code 2008) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 2).
ERREUR (ERROR) (Code 2008)	Pression qui dépasse la limite (message d'erreur 2008)	<ul style="list-style-type: none"> Vérifier la qualité de l'échantillon Vérifier la numération de globules blancs largement élevée Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 18.2, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) (Code 2008) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 2).
ERREUR (ERROR) (Code 5006, 5007, 5008 et 5009*) * Cette liste des codes d'ERREUR n'est pas exhaustive.	Échec de vérification de la sonde	Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 18.1, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 1).
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	Échec du recueil des données. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours ou une panne de courant s'est produite.	Répéter le test avec l'échantillon initial (s'il est disponible) ou à partir du lysat conservé et une nouvelle cartouche en respectant la procédure décrite à la Section 18.1, Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 1).

18. Répétitions du test

18.1 Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 1)

Retester les échantillons avec des résultats **ERREUR (ERROR)** ou **NON VALIDE** dus au cycle seuil (Ct) ABL excédant le seuil Ct maximum valide (Ct > 18) ou la valeur finale inférieur au seuil défini (< 200). Consulter également Tableau 4, Guide de dépannage.

- Si le volume d'échantillon de sang disponible est *suffisant*, retester à partir du tube de prélèvement de l'échantillon de sang initial en respectant la procédure de la Section 11.2, Préparation de l'échantillon.
-OU-
- Si le volume d'échantillon de sang est *insuffisant*, la répétition du test peut être effectuée à partir du lysat conservé à la Section 11.2, Préparation de l'échantillon, Étape 12.
 - Si le lysat conservé à la Section 11.2, Préparation de l'échantillon, Étape 12 est stocké congelé, décongeler jusqu'à la température ambiante avant utilisation.

- B. Vérifier que le lysat est bien mélangé en mélangeant l'échantillon avec un agitateur à Vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale, puis le laisser reposer pendant 3 minutes le temps que les bulles disparaissent. Passer à l'Étape 3.
3. Transférer 1 ml de lysat préparé dans un nouveau tube conique de 50 ml.
4. Ajouter 1,5 ml de réactif de lyse (LY) dans le nouveau tube conique contenant le lysat.
5. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
6. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes.
7. Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité pour réactif (non fourni).
8. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
9. Ouvrir la cartouche en soulevant son couvercle et transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage (1) dans la chambre de réactif de lavage (avec la petite ouverture). Voir la figure 1.
10. Pipeter le contenu tout entier de l'échantillon préparé dans la chambre à échantillon (grande ouverture). Voir la Figure 1.
11. Fermer le couvercle de la cartouche. Lancer le test (voir Section 11.5, Démarrage du test).

18.2 Procédure de répétition du test pour ERREUR (ERROR) (Code 2008) ou NON VALIDE (INVALID) (Type 2)

Retester les échantillons avec des taux de transcrits BCR-ABL et/ou ABL inférieurs au seuil Ct minimum valide (Ct < 8) et/ou lorsque la limite de pression est dépassée. Consulter également Tableau 4, Guide de dépannage.

1. Au fond d'un nouveau tube conique de 50 ml, ajouter 100 µl de PK (protéinase K).
2. Si le volume d'échantillon de sang disponible est *suffisant*, retester à partir du tube de prélèvement de l'échantillon de sang initial. S'assurer que l'échantillon de sang est bien mélangé en inversant le tube de prélèvement de sang 8 fois immédiatement avant le pipetage. Passer à l'Étape 3.

-OU-

Si le volume d'échantillon de sang est *insuffisant*, la répétition du test peut être effectuée à partir du lysat conservé à la Section 11.2, Préparation de l'échantillon, Étape 12.

- A. Si le lysat conservé à la Section 11.2, Préparation de l'échantillon, Étape 12 est stocké congelé, décongeler jusqu'à la température ambiante avant utilisation. En cas d'utilisation de lysat réfrigéré, le laisser s'équilibrer à température ambiante avant utilisation.
- B. Vérifier que le lysat est bien mélangé en mélangeant l'échantillon avec un agitateur à Vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale, puis le laisser reposer pendant 3 minutes le temps que les bulles disparaissent. Passer à l'Étape 3.
3. Dans le tube contenant déjà la protéinase K, ajouter 50 µl d'échantillon de sang, s'il y en a de disponible, ou 80 µl de lysat restant depuis la Section 11.2, Préparation de l'échantillon, Étape 12.
 - A. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 3 secondes à vitesse maximale.
 - B. Incuber à température ambiante pendant 1 minute.
4. Ajouter 2,5 ml de réactif de lyse (LY) dans le nouveau tube conique contenant le lysat.
5. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
6. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes.
7. Dans le même tube conique, ajouter 2 ml d'éthanol absolu de qualité pour réactif (non fourni).
8. Mélanger l'échantillon à l'aide d'un agitateur à vortex en continu pendant 10 secondes à vitesse maximale.
9. Ouvrir la cartouche en soulevant son couvercle et transférer la totalité du contenu de l'ampoule de réactif de lavage (1) dans la chambre de réactif de lavage (avec la petite ouverture). Voir la Figure 1.
10. Pipeter le contenu tout entier de l'échantillon préparé dans la chambre à échantillon (grande ouverture). Voir la Figure 1.
11. Fermer le couvercle de la cartouche. Lancer le test (voir Section 11.5, Démarrage du test).

19. Valeurs attendues

La plage du Xpert BCR-ABL Ultra couvre les principaux points de décision cliniques pour la prise en charge de la LMC (couvrant MR 1 à 4,5)⁵ avec la détection quantitative de l'ARNm de BCR-ABL (transcripts e13a2/b2a2 ou e14a2/b3a2) et l'ARNm de contrôle endogène de ABL. Les valeurs attendues se situent dans la plage du Xpert BCR-ABL Ultra comprise entre 0,0030 et 55 % (IS) (MR4,52 à MR0,26).

20. Caractéristiques de performance

20.1 Performances cliniques

Les performances cliniques du test Xpert BCR-ABL Ultra ont été évaluées dans quatre établissements américains dans le cadre d'une étude clinique multisites. Trois établissements supplémentaires ont servi de sites uniquement destinés au prélèvement d'échantillons. L'étude a été menée en utilisant des échantillons de sang total, frais, EDTA prélevés de façon prospective auprès de patients atteints de LMC à tous les stades de la maladie, suite à un diagnostic initial, avec ou sans exposition préalable à un traitement par inhibiteurs de la tyrosine kinase ou à un autre traitement de la LMC. En outre, l'étude incluait des échantillons restants stockés sous forme de lysats congelés qui ont été préparés à partir de sang total EDTA provenant de la même population de patients. Les performances du test Xpert BCR-ABL Ultra ont été comparées à un test moléculaire approuvé par la FDA qui détecte et quantifie les transcrits d'ARNm pour les types de translocation p210 (e13a2/b2a2 ou e14a2/b3a2) et utilise ABL comme transcrit d'ARNm de contrôle endogène.

Au total, 266 échantillons éligibles ont été initialement inscrits dans l'étude, desquels 57 échantillons ont été exclus en raison de l'utilisation d'une procédure obsolète pour la méthode d'extraction (27), parce que le sujet n'avait pas réalisé de prise de sang (8), en raison de retards d'expédition ou de test (6), d'un volume insuffisant pour le test (6), de l'échec du test comparateur (6) ou d'un test avec le mauvais fichier de définition de test Xpert BCR-ABL Ultra (4) ; ainsi 209 échantillons ont été testés.

Sur les 209 échantillons, 97,1 % (203/209) des résultats du Xpert BCR-ABL Ultra étaient bons lors de la première tentative, ce qui donnait un taux non déterminé initial de 2,9 % (6/209) et 99,5 % (208/209) étaient bons lors de la répétition du test, avec un taux non déterminé final de 0,5 % (1/209).

Sur les 208 échantillons disponibles pour l'analyse, 150 (72,1 %) étaient des échantillons congelés et 58 (27,9 %) étaient des échantillons frais prélevés de façon prospective, pour lesquels des informations démographiques étaient disponibles. Parmi les échantillons frais, 24 (41,4 %) étaient prélevés sur des femmes et 34 (58,6 %) sur des hommes. L'âge moyen des sujets fournissant des échantillons frais était de 60,5 ans (plage de 28 à 85 ans).

Sur les 208 résultats disponibles pour l'analyse, 147 avaient des résultats qui se situaient dans la plage mesurable quantitative pour les deux tests [0,0030 % - 55 % (IS)/MR4,52 - MR0,26 pour Xpert BCR-ABL Ultra et 0,0020 % - 50 % (IS)/MR4,72 - MR0,30 pour le test comparateur] : 117 des échantillons étaient des lysats restants congelés et 30 étaient des échantillons frais prélevés de façon prospective. Les performances du test Xpert BCR-ABL Ultra par rapport au test comparateur ont été évaluées à l'aide d'une régression de Deming afin de déterminer la pente et l'ordonnée. Figure 8 montre la régression de Deming et l'analyse de régression linéaire des 147 résultats de test (valeurs MR).

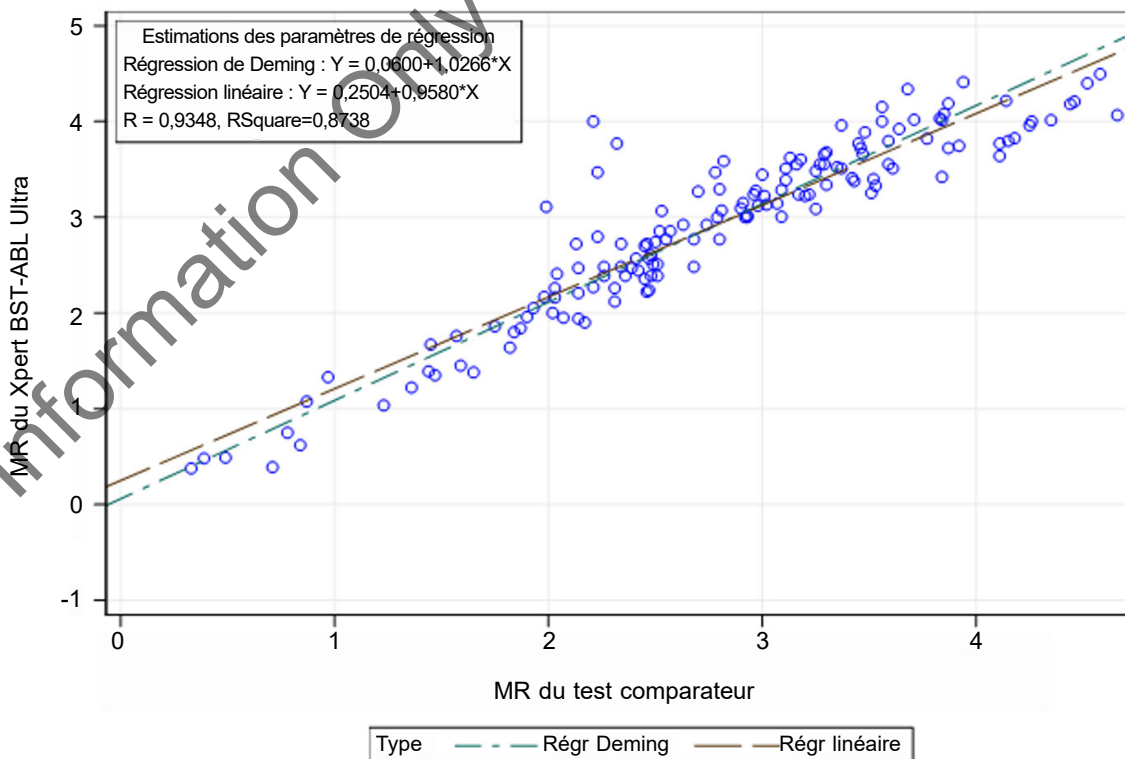


Figure 8. Analyses des régressions de Deming et linéaire

La pente et l'ordonnée de la régression de Deming étaient respectivement 1,0266 et 0,0600. À partir de ces résultats, le biais déterminé à la RMM (MR3) a été calculé pour être MR0,1244 (intervalle de confiance à 95 % de 0,0969 à 0,1519).

Une analyse de différence de Bland-Altman a également été réalisée en utilisant les 147 résultats quantitatifs qui se situaient dans la plage mesurable pour le test Xpert BCR-ABL Ultra et le test comparateur. Le graphique de Bland-Altman (voir Figure 9) indique les 2 E-T supérieur et inférieur de la différence moyenne qui a été observée. La ligne de tendance du biais sur la plage MR est également indiquée.

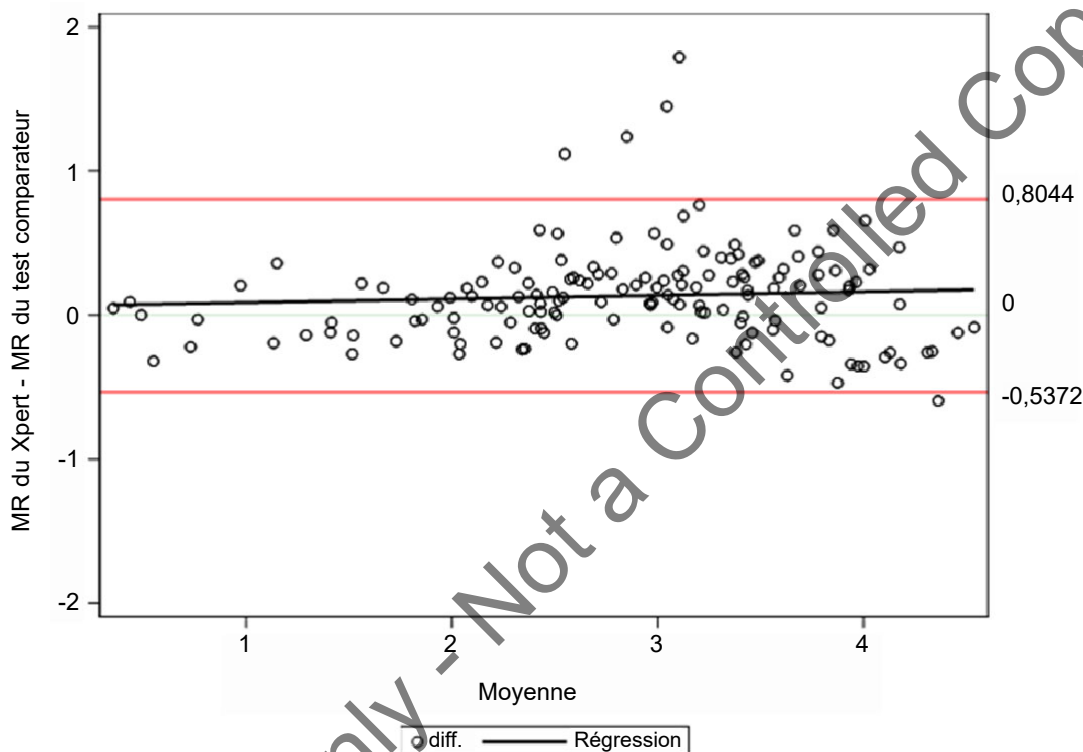


Figure 9. Analyse de différence Bland-Altman de MR du test Xpert BCR-ABL Ultra vs. MR BCR-ABL du test comparateur

La différence moyenne (biais) a été calculée pour être de 0,1336 avec un E-T de 0,3354. La majorité (96,6 %, 142/147) des résultats se situaient dans la plage des 2 E-T (entre -0,5372 et 0,8044).

21. Performances analytiques

21.1 Traçabilité par rapport au panel de l'OMS

La traçabilité par rapport au 1er panel de référence génétique international de l'organisation mondiale de la santé (OMS) pour la quantification de la translocation BCR-ABL par RQ-PCR (code NIBSC : 09/138) a été démontrée en mesurant le panel de référence de l'OMS avec 3 lots du test Xpert BCR-ABL Ultra et en comparant les valeurs mesurées aux valeurs publiées dans le mode d'emploi du panel de référence.¹⁹ Chacun des 4 membres du panel de référence a été testé avec un minimum de 10 réplicats par lot de kits de test. Les valeurs MR mesurées pour chaque niveau du panel principal de l'OMS ont été calculées par régression par rapport à chaque lot du test Xpert BCR-ABL Ultra (c-à-d que les membres du panel de l'OMS ont été traités comme des échantillons cliniques et sont compatibles avec le modèle de régression linéaire de la courbe standard du test). De plus, les valeurs MR mesurées ont été comparées aux valeurs MR publiées grâce à une analyse de régression supplémentaire afin de déterminer les valeurs de la pente et de l'ordonnée. La pente de la ligne était proche de l'unité (0,96 à 1,1) et l'ordonnée a été calculée pour se rapprocher de 0 (-0,03 à -0,06).

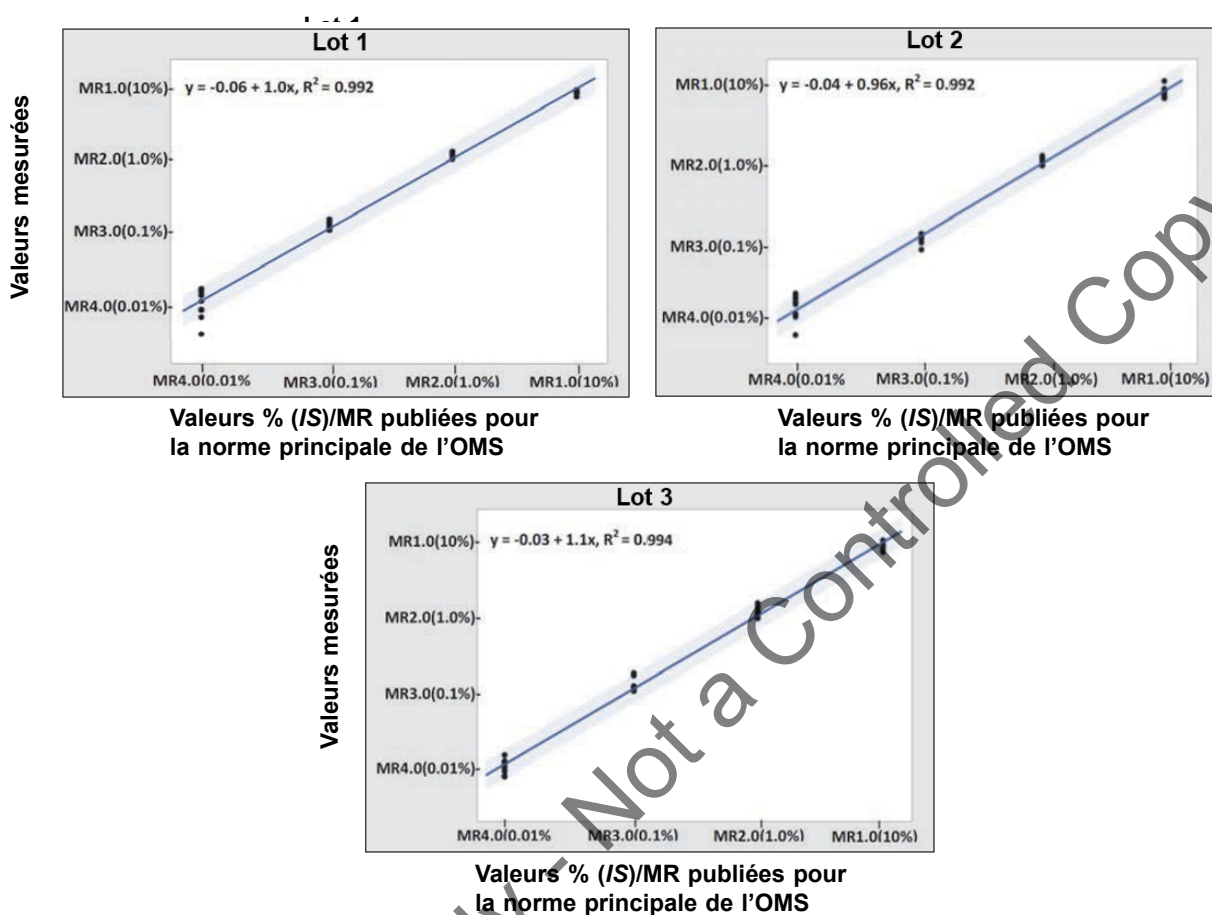


Figure 10. Valeurs mesurées vs publiées pour le panel de référence principal de l'OMS, lot à lot.

Les valeurs MR générées par le kit Xpert BCR-ABL Ultra (axe des ordonnées) sont tracées par rapport aux valeurs MR publiées dans le mode d'emploi du panel de référence principal de l'OMS (axe des abscisses). Les trois lots sont représentés par des points de données (en noir). Les analyses de régression et les intervalles de confiance sont basés sur les données pour chaque lot séparément.

21.2 Linéarité/plage dynamique

La linéarité a été évaluée indépendamment pour chacun des deux points de rupture majeurs, e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2, en utilisant des échantillons cliniques de LMC spécifiques pour un niveau élevé du point de rupture e13a2/b2a2 ou e14a2/b3a2. Le lysat de chaque niveau élevé d'échantillon de LMC de transcrits BCR-ABL a été dilué dans un lysat de fond préparé à partir d'échantillon clinique négatif à la LMC pour cibler des plages de ~50 % (IS)/MR_{0,30} à 0,000625 % (IS)/MR_{5,20}. Les membres du panel, incluant le niveau négatif, ont été testés sur deux lots de kits de test dans des réplicats de 4 par lot de kits.

Des tests et des analyses statistiques ont été menées conformément à la directive EP06-A du CLSI. Des analyses de régression linéaire ont été réalisées pour des polynômes de premier, deuxième et troisième ordre. Les résultats pour chaque point de rupture étaient considérés comme étant linéaires si les coefficients de régression polynomiaux étaient insignifiants (valeurs $p > 0,05$).

Les courbes de régression linéaire pour les deux transcrits sont indiquées sur les Figure 11 et Figure 12 ci-dessous.

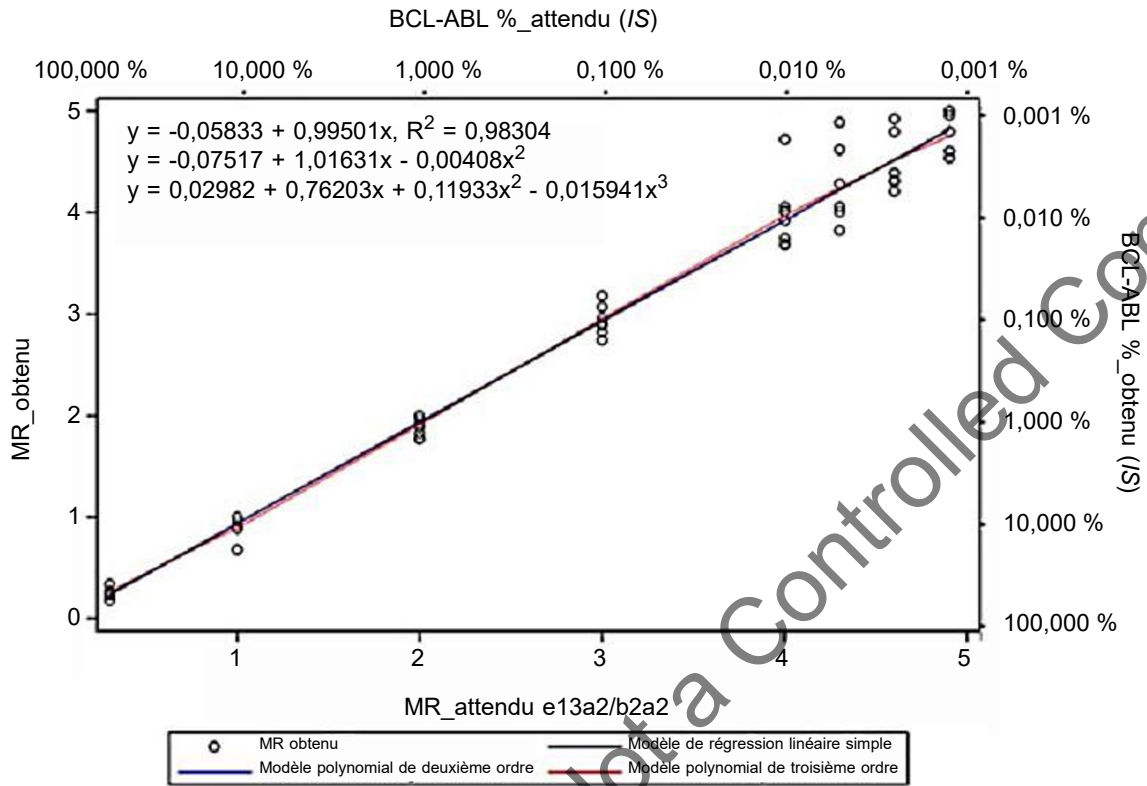


Figure 11. Courbes de régression linéaire pour les transcrits au point de rupture e13a2/b2a2

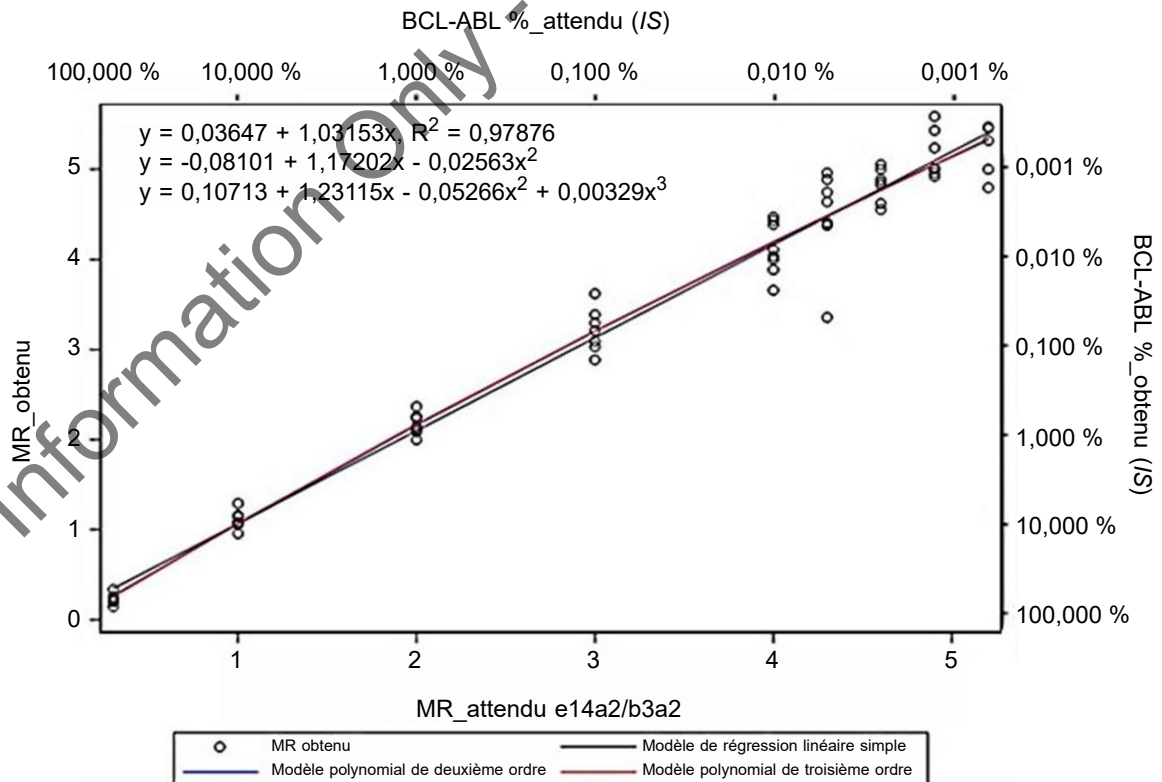


Figure 12. Courbes de régression linéaire pour les transcrits au point de rupture e14a2/b3a2

Les valeurs d'ordonnée, de pente et R^2 de régression estimées à partir du modèle linéaire sont indiquées dans le Tableau 5.

Tableau 5. Coefficients de régression du modèle linéaire

Point de rupture	Ordonnée	Pente	R^2
e13a2/b2a2	-0,05833	0,99501	0,98304
e14a2/b3a2	0,03647	1,03153	0,9788

Collectivement, les données appuient une observation de linéarité à partir d'au moins 55 % (IS)/MR 0,26 à ~0,0019 % (IS)/MR4,75 avec un E-T maximum de 0,26. La plage mesurable s'étend depuis les limites de linéarité à 55 % (IS)/MR0,26 à la LDQ à 0,0030 % (IS)/MR4,52.

21.3 Sensibilité analytique (limite de détection, limite de quantification, limite du banc)

La limite de détection (LDD) a été estimée pour les deux points de rupture e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2 en testant des dilutions en série d'échantillons positifs élevés à la LMC [>10 % (IS)/MR1] ainsi qu'en testant des échantillons positifs faibles à la LMC [$<0,1$ % (IS)/MR3]. Les données pour chaque point de rupture dans les dilutions et échantillons ont été compilées séparément et la LDD a été estimée en utilisant une analyse de régression binomiale Probit. L'analyse en résultant a donné une LDD estimée de 0,0035 % (IS)/MR4,45 pour le point de rupture e13a2/b2a2 et 0,0030 % (IS)/MR4,52 pour le point de rupture e14a2/b3a2.

La LDD a été vérifiée en adaptant la méthode non paramétrique décrite dans le document EPI7-A2 des directives du CLSI (Tableau 6). Deux échantillons uniques positifs à la LMC représentant chaque point de rupture ont été dilués à un niveau de 0,0030 % (IS)/MR4,52 ciblé. Pour e13a2/b2a2, 94 répliquats ont été testés par 2 opérateurs sur 4 lots de kits de test pendant 4 jours. Pour e14a2/b3a2, 101 répliquats ont été testés par 2 opérateurs sur 4 lots de kits de test pendant 7 jours.

Tableau 6. Limite de détection vérifiée en % (IS)/MR

Point de rupture	Positifs/répliquats	% de positifs	% médian (IS)/MR
e13a2/b2a2	90/94	95,74 %	0,0030 % (IS)/MR4,52
e14a2/b3a2	97/101	96,04 %	0,0029 % (IS)/MR4,55

Le test Xpert BCR-ABL Ultra ne faisant pas de distinction entre les deux points de rupture, e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2, le plus élevé des deux est considéré comme la LDD du test. Ainsi, la LDD générale du Xpert BCR-ABL Ultra pour e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2 est 0,0030 % (IS)/MR4,52.

La limite de quantification (LDQ) a été estimée avec les données obtenues à partir des études de la LDD. La moyenne et l'écart-type pour les valeurs % (IS) et les valeurs MR ont été calculés pour les répliquats à des niveaux équivalents à la LDD, 0,0030 % (IS)/MR4,52, ou supérieurs avec une positivité supérieure ou égale à 95 %. La LDQ du test est restreinte par la LDD du test ; par conséquent, la LDQ a été déterminée pour être égale à la LDD, 0,0030 % (IS)/MR 4,52. Les résultats ont également été évalués par rapport aux critères d'acceptation pour l'écart-type ($E-T \leq 0,36$). L'écart-type MR pour e13a2/b2a2 (plage E-T observée MR0,27-MR0,34) et e14a2/b3a2 (plage E-T observée MR0,29-MR0,31) faisait partie des critères d'acceptation.

La limite du banc (LDB) a été déterminée avec 50 échantillons de sang de donneurs sains normaux non LMC présumés, prélevés dans des tubes EDTA. Aucune valeur BCR-ABL mesurable n'a été observée pour les tests. Ainsi, la LDB générale a été déterminée pour être de 0,00 % (IS).

21.4 Spécificité analytique

La spécificité analytique et clinique de Xpert BCR-ABL Ultra a été évaluée à des fins d'exclusivité en analysant des échantillons de sang total EDTA prélevés sur cinquante (50) donneurs sains (non LMC) et vingt (20) échantillons leucémiques (LAM/LAL). La spécificité des points de rupture a été déterminée en testant du sang EDTA de donneur sain normal ensemencé avec cinq (5) lignées de cellules leucémiques différentes représentant 3 types différents de leucémie (LMC, LAL et LAP) et 5 points de rupture de la maladie : K562 (LMC/e14a2/b3a2) et BV173 (LMC/e13a2/b2a2) ont servi de contrôles positifs ; SUP-B15 (LAL/e1a2), AR230 (LMC/e19a2) et NB4 (LAP/PML-RARA) ont été évalués à des fins de spécificité.

Aucun signal BCR-ABL n'a été détecté par le test Xpert BCR-ABL Ultra dans les échantillons non LMC sains ou les échantillons leucémiques LAM/LAL évalués dans cette étude.

Parmi les lignées de cellules leucémiques testées, les lignées cellulaires LMC (K562 et BV173) avec des points de rupture majeurs p210 ont donné les résultats positifs attendus. La lignée cellulaire LMC (AR230) avec le point de rupture p230 e19a2 a rapporté un résultat **POSITIF [Sous la LDD ; $>MR4,52 / <0,0030$ % (IS)] (POSITIVE [Below LoD ; $>MR4,52 / <0.0030$ % (IS)])** pour 1 des 4 répliquats testés au niveau de 10 % (IS)/MR1,00 ciblé d'après le nombre de cellules K562. Le résultat positif pour la lignée cellulaire AR230 concernait un niveau ciblé de 3,52 logs au-dessus de la LDD du test et n'a pas été observé aux niveaux inférieurs de 1 % (IS)/MR2,00 et 0,1 % (IS)/MR3,00.

Xpert BCR-ABL Ultra est spécifique au transcrite de fusion BCR-ABL p210 associé à la LMC et a une spécificité analytique de 100 % pour les échantillons de sang EDTA non LMC.

21.5 Contamination par transfert

Une étude a été menée pour démontrer que les cartouches GeneXpert closes à usage unique empêchent la contamination par transfert à partir de cartouches utilisées à la suite dans le même module. Pour démontrer cela, des échantillons négatifs ont été testés après des échantillons très fortement positifs dans le même module GeneXpert. Cette étude consistait à traiter un échantillon normal EDTA NÉGATIF (NEGATIVE) (sang négatif à la LMC) dans le même module GeneXpert immédiatement après un échantillon POSITIF (POSITIVE) élevé (sang positif à la LMC simulé) avec $4,5 \times 10^5$ cellules/ml de cellules K562 ensemencées dans du sang négatif à la LMC pour obtenir $\sim 10\%$ (IS)/MR1,00. Cette séquence de test a été répétée cinq fois sur chacun des quatre modules GeneXpert. Les vingt échantillons positifs BCR-ABL ont été correctement rapportés comme POSITIFS [#,## % (IS) et MR#,##] (POSITIVE [#.##% (IS) and MR#.##]), et les vingt échantillons négatifs BCR-ABL ont été correctement rapportés comme NÉGATIFS [Transcrit ABL suffisant] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript]).

21.6 Substances potentiellement interférentes

Cette étude a évalué cinq substances susceptibles d'être présentes dans des échantillons de sang total EDTA et pouvant interférer avec les performances du test Xpert BCR-ABL Ultra. Les composants et niveaux testés (voir le Tableau 7) étaient basés sur les directives du document EP07-A2 du CLSI. Les interférents ont été testés en arrière-plan des échantillons de sang total EDTA cliniques LMC représentant trois niveaux avec cinq échantillons par niveau : $>1\%$ (IS)/ $<MR2$, $0,1-1\%$ (IS)/MR3-MR2, et $<0,1\%$ (IS)/ $>MR3$. Les contrôles du test étaient des échantillons cliniques LMC dans du sang total EDTA au niveau du transcrit BCR-ABL respectif sans la substance interférente. Chaque échantillon LMC a été testé en l'absence et en la présence des cinq interférents individuels à 4 réplicats par condition.

Une substance était considérée comme non interférente si, en sa présence, le rapport % moyen (IS)/MR observé était de 3 fois la différence comparé au contrôle.

Aucun effet inhibiteur cliniquement significatif sur le test Xpert BCR-ABL Ultra n'a été observé avec l'une des substances interférentes évaluées dans cette étude. Même si une certaine variabilité et certaines différences statistiquement significatives (valeur $p < 0,05$) ont été observées dans certaines conditions testées, les rapports % (IS)/MR rapportés pour les conditions de test et de contrôle se situaient dans la plage acceptable des 3 fois.

Tableau 7. Substances potentiellement interférentes testées avec Xpert BCR-ABL Ultra

Substances interférentes	Concentration testée
Bilirubine non conjuguée	20 mg/dl
Cholestérol, Total	500 mg/dl
Triglycérides, Total (lipides)	1 800 mg/dl
Héparine	3 500 U/l
EDTA (prélèvement court)	750 mg/dl (5X)

22. Précision et reproductibilité

La précision et la reproductibilité du test Xpert BCR-ABL Ultra ont été évaluées dans une étude multisites conformément au CLSI EP05-A3, « Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline » et au CLSI EP15-A3, « User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline ».

Un panel de onze échantillons a été préparé incluant : un échantillon négatif pour BCR-ABL, deux échantillons proches de la limite de détection (LDD) et huit échantillons à des niveaux de réponse moléculaire (MR) 1 à 4, en utilisant les deux cibles détectées par le test Xpert BCR-ABL Ultra : e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2. Le panel d'échantillons a été conçu en diluant un lysat d'échantillons %BCR-ABL/ABL élevés provenant de patients atteints de LMC dans du sang total combiné prélevé auprès de donneurs sains pour obtenir le niveau souhaité.

Le Tableau 8 indique les onze échantillons inclus dans cette étude.

Tableau 8. Panel de reproductibilité pour Xpert BCR-ABL Ultra

Référence de l'échantillon	Description	% (IS)
1	MR1,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL à $\sim 10\%$ (IS)
2	MR1,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL à $\sim 10\%$ (IS)
3	MR2,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL à $\sim 1\%$ (IS)
4	MR2,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL à $\sim 1\%$ (IS)
5	MR3,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL à $\sim 0,1\%$ (IS)
6	MR3,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL à $\sim 0,1\%$ (IS)

Tableau 8. Panel de reproductibilité pour Xpert BCR-ABL Ultra (Suite)

Référence de l'échantillon	Description	% (IS)
7	MR4,0 e13a2/b2a2	BCR-ABL à ~ 0,01 % (IS)
8	MR4,0 e14a2/b3a2	BCR-ABL à ~ 0,01 % (IS)
9	Proche de la LDD e13a2/b2a2	BCR-ABL à ~ 0,005 % (IS)
10	Proche de la LDD e14a2/b3a2	BCR-ABL à ~ 0,005 % (IS)
11	Négatif	BCR-ABL n'a pas été détecté

Chacun des onze membres du panel a été testé en double deux fois par jour sur quatre jours différents par chacun des trois opérateurs différents sur trois sites différents. Trois lots de kits Xpert BCR ABL Ultra ont été utilisés et chaque opérateur a réalisé le test avec un lot (3 sites x 3 lots x 1 opérateur/lot x 4 jours x 2 séries/opérateur x 2 réplicats/série = 144 réplicats/membre du panel).

Les résultats quantitatifs ont été analysés par une analyse de variance (ANOVA) et les composants majeurs de la variance ont été identifiés.

Les résultats de l'analyse ANOVA pour chaque membre du panel sont indiqués dans le Tableau 9.

Tableau 9. Étude de reproductibilité : Résultats de l'analyse de variance

Échantillon	N	Moyenne (MR)	E-T Centre/ Instrument	E-T Opérateur/Lot	E-T Jour	E-T Intra-série	E-T total ^a
MR1,0 e13a2/ b2a2 cible	144	0,96	0	0,05	0,01	0,06	0,08
MR1,0 e14a2/ b3a2 cible	144	0,99	0	0,06	0	0,08	0,1
MR2,0 e13a2/ b2a2 cible	143	2,04	0	0,06	0,02	0,10	0,11
MR2,0 e14a2/ b3a2 cible	144	2,09	0,03	0,07	0,02	0,10	0,13
MR3,0 e13a2/ b2a2 cible	144	2,89	0,06	0,04	0,03	0,10	0,12
MR3,0 e14a2/ b3a2 cible	144	3,12	0,06	0,08	0	0,11	0,15
MR4,0 e13a2/ b2a2 cible	143 ^b	3,67	0,03	0,02	0	0,15	0,15
MR4,0 e14a2/ b3a2 cible	144	3,91	0,05	0,08	0,04	0,14	0,17
MR>4,0 e13a2/ b2a2 cible	140 ^c	4,36	0,04	0,04	0	0,33	0,33
MR>4,0 e14a2/ b3a2 cible	143 ^d	4,22	0,03	0,08	0	0,17	0,19

- Le test Xpert BCR-ABL Ultra réalisé sur les systèmes GeneXpert Dx et GeneXpert Infinity intègre la purification des échantillons et l'amplification de l'acide nucléique. La variabilité globale du test observée dans le cadre de cette étude (appelée E-T total) inclut la variabilité causée par les étapes de RT-qPCR et de préparation de l'échantillon dans la machine.
- Un réplicat répondant aux exigences de valeurs aberrantes au niveau des 99 % d'après EP15-A3 a été retiré de l'analyse.
- 4 échantillons sur les 144 résultats de test ont produit un résultat NÉGATIF (NEGATIVE).
- 1 échantillon sur les 144 résultats de test ont produit un résultat NÉGATIF (NEGATIVE).

L'écart-type total observé pour les échantillons à MR1, MR2 et MR3 était $\leq 0,15$. L'écart-type total maximum observé pour des échantillons proches de la LDD et MR4 était 0,33.

23. Bibliographie

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics 2008; CA Cancer J Clin. 2008;58:71-96.
2. NIH/NCI – Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER). Cancer Stat Facts: Chronic Myeloid Leukemia (CML). Accessed December 21, 2018. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cmly.html>
3. Thompson PA, Kantarjian HM, Cortes JE. Diagnosis and Treatment of Chronic Myeloid Leukemia in 2015. Mayo Clin Proc. 2015;90(10):1440-1454.
4. Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. Blood. 2005;105(7):2640-2653.
5. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. Blood. 2006;108(1):28-37.
6. NCCN. Clinical Practice Guidelines in Oncology; Chronic Myelogenous Leukemia (Access Version 1, 2019).
7. White H, Matejtschuk P, Rigsby P, et al. Establishment of the first World Organization International Generic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. Blood. 2010; 116:e111-e117.
8. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2003;17:2318-2357.
9. Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VH, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) - a Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2003;17:2474-2486.
10. van der Velden VH, Boeckx N, Gonzalez M, et al. Differential stability of control gene and fusion gene transcripts over time may hamper accurate quantification of minimal residual disease—a study within the Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2004;18:884-886.
11. van der Velden VH, Hochhaus A, Cazzaniga G, et al. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspects. Leukemia. 2003;17:1013-1034.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
14. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. Bulletin of the World Health Organization (refer to latest edition).
15. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification, labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
16. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
17. Baccarani M, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. Blood. 2013 Jun; 122(6):872-884.
18. Hochhaus A, et al. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. Annals of Oncology. 2017 May; 28(4):iv41-iv51.
19. WHO International Standard 1st WHO International Genetic Reference Panel for the quantitation of BCR-ABL translocation NIBSC code: 09/138. Instructions for use. (Version 4.0., Dated 13/12/2012).

24. Emplacements des sièges de Cepheid

Siège social

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
États-Unis
Téléphone : + 1 408 541 4191
Fax : + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Siège européen

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Téléphone : + 33 563 825 300
Fax : + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

25. Assistance technique

Avant de contacter le Service d'assistance technique de Cepheid, veuillez recueillir les informations suivantes :

- Nom du produit
- Numéro de lot
- Numéro de série de l'instrument
- Messages d'erreur (le cas échéant)
- Version logicielle et, le cas échéant, le « Service Tag » (numéro d'étiquette de service de l'ordinateur)












Coordonnées

États-Unis
Téléphone : + 1 888 838 3222
E-mail : techsupport@cepheid.com

France
Téléphone : + 33 563 825 319
E-mail : support@cepheideurope.com

Les coordonnées de tous les bureaux du service d'assistance technique de Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse suivante : www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

26. Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Réservé à un usage de diagnostic <i>in vitro</i>
	N° de lot
	Ne pas réutiliser
	Attention
	Consulter les instructions d'utilisation
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour <n> tests
	Contrôle
	Date d'expiration
	Limite de température
	Risques biologiques
	Inflammable
	Risque sanitaire
	Utilisation uniquement sur ordonnance



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089-1189 USA
 Téléphone : +1 408 541 4191
 Fax : +1 408 541 4192



For Information Only - Not a Controlled Copy