

## 艾斯柏特 BCR-ABL 高效能檢測試劑組 Xpert BCR-ABL Ultra

限由專業人員使用
本產品僅供體外診斷使用
使用前請務必詳閱原廠之使用說明書並遵照指示使用。

|                       |
|-----------------------|
| 型號                    |
| <b>GXBCRABL-US-10</b> |

### 1. 效能

本產品為體外診斷測試，用於確診為 t(9;22) 陽性慢性骨髓性白血病 (CML) 患者表現為 e13a2 和/或 e14a2 型 BCR-ABL1 融合轉錄物的周邊血液檢體中的 BCR-ABL1 和 ABL1 mRNA 轉錄物的定量。本測試為自動化、定量、即時反轉錄聚合酶鏈反應 (RT-qPCR)。本產品旨在測量 t(9;22) 陽性的 CML 患者在監測酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 治療期間，國際量表 (IS) 上 BCR-ABL1 與 ABL1 的百分比，及相對於 100% (IS) 基線的對數分子的減少 (MR 值)。

該測試不區分 e13a2/b2a2 或 e14a2/b3a2 融合轉錄本，也不監測由 t(9;22) 產生的其他罕見融合轉錄本。該測試不適用於 CML 的診斷。本產品測試僅適用於 Cepheid GeneXpert Dx 系統。

### 2. 概要說明

慢性骨髓性白血病 (CML) 是最常見的惡性血液腫瘤之一，根據2008年美國統計數據 CML佔所有白血病患者例的15-20%。CML的發病率約為1.6/100,000，即每62,500名男性和女性中有1例被診斷為CML。超過95％的CML患者具有獨特的費城染色體 (Ph1)，其由染色體9和22的長臂之間發生相互易位將染色體9上的Abelson或ABL1（以下稱為 ABL）基因轉移到染色體22斷裂點區域 (BCR)，導致融合的BCR-ABL1（以下稱為 BCR-ABL）基因。融合基因產生BCR-ABL，為活性失調的酪氨酸激酶，在CML的發展中扮演關鍵角色。本產品 檢測兩個主要斷點 e13a2/b2a2 和 e14a2/b3a2 產生的 p210 形式的染色體易位 mRNA 轉錄本。

在“干擾素和ST1571之國際隨機研究 (IRIS)”中建立了接受干擾素治療和/或酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 治療的患者以RT-PCR監測BCR-ABL mRNA水平的臨床效能。BCR-ABL 結果在參與試驗的三個實驗室通用的標準基礎上標準化。隨後，建議 BCR-ABL 監測分析與國際標準 (IS) 相一致，其被回歸到在 IRIS 中定義的兩個值試驗，從而允許結果在一個共同的尺度上表達結果。其中第一個是代表 100% (IS) 的標準化基線。第二個是主要分子反應 (MMR)，它被定義為從0.10% (IS)/MR3 的標準化基線降低 3 Log。減少3-log與生存有利的結果相關。在這種方式下，IS 標準化分子檢測為臨床醫生管理 CML 患者的疾病提供了必要的幫助。

本產品將 BCR-ABL mRNA 水平定量的 % (IS)，通過第一個世界衛生組織 (WHO) 國際遺傳參考小組對 BCR-ABL mRNA 定量的測定進行校準。根據推薦的程序，Cepheid 已經發展並驗證了與主要世衛組織參考平台相一致的次級參考標準品。這允許批號特定的轉換因子測定，包括本產品試劑盒每個批號的測定效率 (E) 和比例因子 (SF)。並對於二級標準的校準品功效持續做基準監控。

### 3. 程序原理

本產品用於將 BCR-ABL 轉錄本的數量作為 BCR-ABL/ABL 的比率進行量化的自動測試，該測試利用自動化、定量、實時逆轉錄聚合酶鏈反應 (RT-qPCR)。該測定在Cepheid GeneXpert DX儀器系統上進行。GeneXpert DX儀器系統以自動化方法在簡單或複雜樣本中整合樣本純化、使用即時聚合酶鏈反應(RT-PCR)和巢式聚合酶鏈鎖反應(nested PCR)進行核酸擴增和標的序列檢測。該系統由一台儀器、個人電腦及運行前預加載測試和查看結果軟體組成。該系統需要使用一次性使用拋棄式 GeneXpert 試劑匣，裝載RT-PCR和nested PCR之試劑，及確保RT-PCR和nested PCR過程。有關完整說明，請參閱適當的GeneXpert DX儀器系統操作手冊。本產品包括檢測由兩個主要 p210 斷點（易位 e13a2/b2a2 和 e14a2/b3a2）產生的 BCR-ABL 融合基因的試劑，以及以ABL轉錄物作為周邊血中的內源性對照。使用 GeneXpert 軟體，患者樣本中 BCR-ABL 轉錄物的數量以 BCR-ABL/ABL 的百分比報告，也以從國際量表 (IS) 的 100% 基線來表示對數分子的減少 (MR 值)。每個本產品中都包含兩個對照品管，ABL 內源品管和探針檢查品管 (PCC)。ABL 內源品管使 BCR-ABL 目標標準化並確保在測試中有足夠的樣本。PCC 為驗證試劑再水化、PCR 管填充，以及所有反應成分（包括探針和染料）都存在並在試劑匣中起作用。

### 4. 試劑和設備

#### 4.1 提供的材料

本產品檢測試劑組包括足夠處理十位患者或品管檢體的試劑，本試劑組包括以下材料：

|                                |             |
|--------------------------------|-------------|
| Xpert BCR-ABL Ultra 試劑         | 10 個/試劑組    |
| • 蛋白酶 K (PK)                   | 10x130µL 瓶  |
| • 裂解試劑 (LY) (氯化氫)              | 10x5.3mL 瓶  |
| • 清洗試劑 (I) 乙醇                  | 10x2.9mL/安瓿 |
| • 硫氰酸氫                         |             |
| Xpert BCR-ABL Ultra 試劑匣含完整反應管  | 10 個        |
| • Bead 1, 2, 3 和 Bead 4 (冷凍乾燥) | 1 個/試劑匣     |
| • 沖洗試劑                         | 2.0 mL /試劑匣 |
| • 洗脫試劑                         | 2.5 mL /試劑匣 |
| • 光碟                           | 1 片 /試劑組    |

• 檢測定義檔 (ADF)
• ADF 匯入 GX 軟體之說明
• 產品仿單
分析證書 1份/試劑組
**注意：**

**安全數據表 (SDS) 可在 [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) 或 [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) 的 SUPPORT 選項下找到。**

#### 注意:

本試劑組的牛血清白蛋白 (BSA) 的製備完全來自美國牛血漿。BSA 的生產也在美國進行，沒有反芻動物蛋白質或任何其他動物蛋白質饋給動物，動物通過了橫紋前及橫紋後檢驗。在處理過程中，未與其他動物的材料混合在一起。

#### 4.2 其他需求材料，但未提供

• GeneXpert DX 系統 (型號取決於使用的設備模型)：GeneXpert DX 儀器、電腦、條碼掃描器和操作手冊。
對於 GeneXpert Dx 系統：5.1 或更高版本的軟體
• 印表機(如有需要，請聯繫廠家，確認適用的印表機型號)。
• 振盪混合器
• 微量離心機 (最少 1,000X g)
• 吸量管和含氣溶膠過濾器之吸頭
• 50mL 圓錐管
• 試劑等級無水乙醇

#### 4.3 建議但未提供的材料

Xpert BCR-ABL IS Panel C130，型號 C130 Maine International Quality Controls, Inc 質量品管。

#### 5. 儲存和操作

• 本產品檢測套組儲存在 2-8 °C 直至標籤上的保存期限。
• 請勿使用已過期的試劑或檢測劑。
• 洗滌試劑是一種清潔、無色的液體。如果洗滌試劑變濁或變色，請勿使用。
• 在開始操作前 20 分鐘，將血液樣本、試劑盒和檢體製備試劑從存儲處中取出，讓它們達到室溫 (20°C – 30°C)。

#### 6. 警告及注意事項

#### 6.1 一般

僅用於體外診斷。
僅供處方使用。
處理所有生物樣本，包括用過的試劑匣，就像能夠傳播傳染性病原體一樣，因為通常不可能知道哪些可能具有傳染性，所以所有生物樣本都應該採用標準預防措施進行處理。檢體處理指南可從美國疾病病管和預防中心以及臨床和實驗室標準研究所獲得。
遵循您所在機構的安全程序，處理化學品和處理生物樣本。
該測試的性能特徵僅在 EDTA 管中收集的血液中建立。尚未評估該測試對其他樣本類型或樣本的性能。
可靠的結果取決於充分的標本採集、運輸、儲存和處理。不正確的測試結果可能是由於樣本採集、處理或儲存不當、技術錯誤、樣本混淆或因為樣本中的目標轉錄本低於測試檢測限而導致的，必須仔細遵守包裝說明書以及 GeneXpert Dx 系統操作手冊，以避免出現錯誤結果。
在建議的儲存溫度範圍和時間之外執行本產品測試可能會產生錯誤或無效的結果。
生物樣本，移液裝置和用過的試劑匣應被視為能夠傳播傳染性病原體並需要採取標準預防措施。遵循您所在機構的環境廢物程序，妥善處理用過的試劑匣和未使用過的試劑。這些材料可能具有化學危險廢物的特性，需要特定的國家或地區處置程序。如果國家或地區法規未對正確處置提供明確指示，則應按照 WHO[世界衛生組織]醫療廢物處理和處置指南處理生物標本和用過的試劑匣。

#### 6.2 檢體

在樣本運輸過程中保持適當的儲存條件以確樣本的完整性（參見第 8 節樣本採集、運輸和儲存），未評估在推薦條件以外的運輸條件下樣本的穩定性。不要冷凍全血樣本。正確的樣本收集、儲存和運輸對於獲得正確的結果至關重要。

#### 6.3 測試/試劑

不要用其他試劑代替本產品試劑。
請勿打開 Xpert BCR-ABL Ultra 試劑盒蓋，除非添加樣本和洗滌試劑。
請勿使用從包裝中取出後掉落的試劑匣。
請勿搖晃試劑匣。打開試劑匣蓋後搖晃或掉落試劑匣可能會產生無效結果，請勿將樣本 ID 標籤放在試劑匣蓋上或試劑匣的條形碼標籤上。
請勿使用條形碼標籤損壞的試劑匣。不要使用反應管損壞的試劑匣。
建議本產品試劑匣在用於測試時處於室溫 (20°C - 30°C)。每個一次性使用的本產品試劑匣用於處理一個測試。切勿重複使用試劑匣。不要重複使用吸量管。

如果試劑匣看起來潮濕或蓋子密封似乎已損壞，請勿使用試劑匣。
如果試劑添加到錯誤的開口，請勿使用本產品試劑匣。
測試完成後，請勿打開本產品試劑匣。
過高的白細胞數可能會導致試劑匣中的壓力使運行中止。
專用一吸量管管和試劑用於樣本製備。
穿上乾淨的實驗室外套和手套，在處理每個樣本之間更換手套。
如果樣本或對照品溢出，請戴上手套並用紙巾吸收溢出物。然後以 1:10 稀釋的家用漂白劑徹底清潔污染區域。無論您所在國家/地區的家用漂白劑濃度如何，最終活性氯濃度都應為 0.5％。至少兩分鐘的接觸時間。在使用 70％變性乙醇去除漂白劑殘留物之前確保工作區域乾燥。在繼續操作之前讓表面完全乾燥。或者，按照您所在機構的標準程序處理污染或洩漏事件。對於設備，請遵循製造商關於設備清潔的建議。

#### 7. 化學危害

**注意：**以下信息適用於含有蛋白酶 K、裂解、清洗和沖洗 試劑的整個產品。

• CLP / GHS 危險圖表：
信號詞：危險
**聯合國 GHS 危害聲明**
• 高度易燃液體和蒸氣
• 引起皮膚刺激
• 造成嚴重的眼睛刺激
• 可能導致因倦或頭暈
• 懷疑導致遺傳缺陷。
**聯合國 GHS 防範聲明**

• **預防**
• 使用前獲得特別說明。
• 在閱讀並理解所有安全預防措施之前，請勿操作。
• 遠離熱源、火花、明火和/或熱表面。禁止抽煙。
• 保持容器密閉。
• 避免吸入薄霧/蒸氣/噴霧。
• 處理後徹底清洗。
• 只能在戶外或通風良好的地方使用。
• 戴防護手套/穿防護服/戴護目鏡/戴防護面罩。
• 根據需要使用個人防護設備。

• **反應**
• 發生火災時：使用適當的介質滅火。
• 如果吸入：將受害者轉移到新鮮空氣處並保持呼吸舒適的休息姿勢。
• 如果您感到不適，請致電解毒中心或醫生/醫師。
• 如果皮膚（或頭髮）沾染：立即脫掉所有受污染的衣服。用水/淋浴沖洗皮膚。
• 具體治療，見補充急救信息。
• 脫掉受污染的衣服並在重新使用前清洗。
• 如果發生皮膚刺激：求醫/就診。
• 如果進入眼睛：用清水小心沖洗幾分鐘。取下隱形眼鏡，如果可以，繼續沖洗。
• 如果眼睛刺激持續：求醫/就診。
• 如果接觸或擔心：尋求醫療建議/關注。
• 保持冷靜。
• 存放在通風良好的地方。保持容器密閉。
• 儲存上鎖。
• 根據當地、地區、國家和/或國際法規處置內含物和/或容器。

#### 8. 檢體採集，運送和貯存

• 應按照您所在機構指南將全血樣本收集在 EDTA 管中。測試前，樣本應在 4°C 下儲存不超過 3 天（72 小時）。不要將血漿與細胞分離。
• 正確的樣本採集、儲存和運輸對於該測試的執行至關重要。除了下列條件以外的運輸和儲存條件下，未使用本產品測試評估。

#### 9. 步驟

#### 9.1 上機前準備

在開始操作前 20 分鐘，取出血液樣本和樣本製備試劑讓它們回到室溫，並在微量

離心機中短暫旋轉蛋白酶 K (PK)，在將製備的樣本和清洗試劑加入盒中的 1 小時內開始測定。
**重要：在準備樣本前從包裝中取出試劑匣。**（參見第 9.6 節）

#### 9.2 樣本準備

1. 取新的 50 mL 錐形管，於底部加入 100µL PK（蛋白酶 K）。
2. 移液前，採血管顛倒混合8次確保血液樣本充分混合。請參閱製造商的 EDTA 採血管說明。
3. 於含有PK的管中加入4mL血液樣本。
4. 將樣本用振盪混合器在最大轉速下連續3秒鐘混合。
5. 在室溫下培育1分鐘。
6. 再加入2.5mL LY(裂解試劑)。
**注意：保留剩餘的裂解試劑，以在步驟13中再次使用。**
7. 用振盪混合器以最高轉速混合樣本，連續10秒。
8. 在室溫下培育5分鐘。
9. 用振盪混合器在最高轉速下混合樣本，連續10秒。
10. 在室溫下培育5分鐘。
11. 輕敲管的底部10次混合樣本。
12. 將1mL製備完成的裂解物轉移到新的50mL錐形管中。
**注意：剩餘的裂解物在4°C下貯存最多4小時，或貯存在-20°C或更低溫度下最多24小時。**
13. 於含有裂解物的新錐形管中加入1.5mL來自步驟6的保留的LY(裂解試劑)。
14. 將樣本用振盪混合器在最高轉速下連續10秒鐘混合。
15. 在室溫下培育10分鐘。
16. 再於同一錐形管中，加入2mL試劑級無水乙醇（由用戶提供）。
17. 將樣本用振盪混合器在最高轉速下連續10秒鐘混合，暫置。
18. 丟棄任何剩餘的PK或LY試劑。

#### 9.3 準備試劑匣

將樣本添加到本產品試劑匣中：

1. 從包裝中取出試劑匣。
2. 檢查試劑匣是否損壞。如果損壞，請勿使用。
3. 打開試劑匣蓋，將清洗試劑（1）瓶的全部內容物轉移到清洗試劑槽（小開口），參見圖1。
4. 將準備之樣本的全部內容物移入樣本槽（大開口，參見圖1。

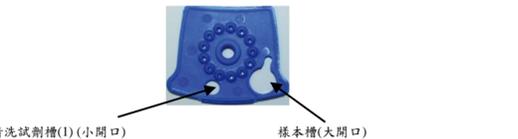


圖 1：Xpert BCR-ABL Ultra 試劑匣 (上方視圖)

5. 關閉試劑匣。確保蓋子牢固地卡入。啟動測試（請參閱第 9.5 節，啟動測試）。

#### 9.4 外部品管

第 4.3 節“推薦但未提供的材料”中描述的外部品管可用但未提供，並可根據當地、州和聯邦認證組織（如適用）使用。
1. 讓 Xpert BCR-ABL IS Panel C130 品管達到室溫 (20° C – 30° C)，大約 30 分鐘。
2. 聽使用前，將管顛倒 5 到 10 次，然後以振盪混合器中連轉 10 到 15 秒，以混合外部品管。
3. 在新的 50 mL 錐形管底部，加入 100 µL PK（蛋白酶 K）。
4. 向已經含有蛋白酶 K 的管中加入 4 mL 的外部品管。
5. 使用振盪混合器在最大設置下連續混合外部品管 3 秒。
6. 在室溫下孵育 1 分鐘。
7. 向同一管中加入 2.5 mL 裂解試劑 (LY)。
**注意：保留剩餘的裂解試劑，以在步驟14中再次使用。**
8. 用振盪混合器以最高轉速混合外部品管，連續10秒。
9. 在室溫下培育 5 分鐘。
10. 使用混合器在最大設置下連續混合外部品管 10 秒。
11. 在室溫下培育 5 分鐘。
12. 通過輕敲試管底部 10 次來混合外部對照。
13. 將 1 mL 準備好的外部品管樣本轉移到新的 50 mL 錐形管中。
14. 向裝有外部品管樣本的新錐形管中加入 1.5 mL 來自步驟7 的保留裂解試劑 (LY)。
15. 將外部品管與培育混合器以最大設置連續混合 10 秒。
16. 在室溫下培育 10 分鐘。
17. 向同一個錐形管中加入 2 mL 試劑級無水乙醇（未提供）。
18. 使用培育混合器在最大設置下連續混合外部品管 10 秒。
19. 打開試劑匣蓋，將洗滌試劑 (1) 瓶中的全部內容物轉移到洗滌試劑槽（帶有小開口）。參見圖 1。
20. 將準備好的外部品管的全部內容物移入樣本槽（大開口，參見圖 1。
21. 關閉試劑匣蓋。啟動測試（請參閱第 9.5 節，啟動測試）。

#### 9.5 啟動檢測

**重要：如果使用 GeneXpert DX 儀器，請在將樣本 加入試劑盒後 1 小時內開始測試。重要：在開始測試之前，請確保系統運行 GeneXpert Dx 軟件 5.1 或更高版本，並且 Xpert BCR-ABL Ultra Assay Definition File (ADF) 已導入軟件。本節列出了操作 GeneXpert Dx 系統操作步驟。有關詳細說明，請參閱 GeneXpert Dx 系統操作手冊。注意：如果系統管理員更改了系統的自訂工作流程，則您所遵循的步驟可能會有所不同。**

1. 打開GeneXpert DX設備電源
• 如果使用GeneXpert DX設備，先啟動機器再啟動電腦。GeneXpert軟體會自動執行。可能需要雙擊Windows® 桌面上的 GeneXpert DX 軟件快捷圖示。
2. 以您的使用者名稱和密碼登入 GeneXpert DX 設備系統軟體。
3. 在GeneXpert DX系統視窗，按下Create test(GeneXpert DX)進入新增檢測視窗。
4. 掃描或輸入病人編號（可選擇，如果輸入病人編號，確保正確輸入病人編號。病人編號有關的測試結果會顯示在“查看結果(View results)”的視窗中。
5. 掃描或輸入檢體編號。如果鍵入檢體編號，確保正確鍵入檢體編號。檢體編號有關的測試結果會顯示在“查看結果(View results)”的視窗中。
6. 掃描本產品試劑匣的條碼。使用條碼信息，該軟體可自動輸入以下資訊：選擇分析檢測，試劑批號標示，試劑匣序號，和到期日期。
**注意：如果本產品試劑匣的條碼無法掃描，取新的試劑匣重覆測試。**
7. 按下“Start Test”(GeneXpert DX )，如有需要，輸入您的密碼。
8. 以GeneXpert DX設備:
A. 綠燈閃爍時打開儀器模組的門，並裝上試劑匣。
B. 關閉模組的門。測試開始且綠色指示燈停止閃爍。當測試完成，指示燈熄滅。
C. 直到設備打開門鎖，才可打開模組門並取出試劑匣。
9. 根據您所在機構的檢體廢棄物標準做法，丟棄使用過的試劑匣。
**注意 產生結果的時間大約為 2 小時。**

#### 10. 查看和列印結果

查看及列印結果基本步驟列於本節，其他詳細說明，依使用設備參閱GeneXpert DX 系統操作手冊

• 按“View Results”查看結果
• 按“View Results”內的 Report，可查看報告或產生 PDF 報告檔。

#### 11. 品管

每個測試包含內源性品管 (ABL) 和探針檢查品管 (PCC)。

**ABL 內源性品管**— ABL 內源性品管可驗證測試中使用了足夠的樣本。此外，該品管檢測即時 PCR 檢測的樣本相關開始。如果 ABL 符合指定的驗收標準，則通過。
**探針檢查品管 (PCC)**— 在 PCR 反應開始之前，GeneXpert 系統會測量來自探針的螢光信號，以監測珠子再水化、反應管填充以及試劑匣中的所有反應成分是否正常工作。如果 PCC 符合指定的驗收標準，則通過。
**外部品管**— 可根據當地、州、聯邦認證組織（如適用）使用外部品管。

#### 12. 結果列讀

結果列讀是由GeneXpert DX儀器系統藉由量測的螢光信號和內建軟體的計算公式產生結果。可能結果顯示於表1。

| 結果            | 解釋   |
|---------------|--|
| <b>陽性</b>     | 檢測到BCR-ABL轉錄物。 <ul style="list-style-type: none"><li>檢測到BCR-ABL - 在有效的Ct(循環閾值)範圍內檢測到BCR-ABL轉錄物且高於終點無法設定。</li> <li>可能的陽性結果： <ul style="list-style-type: none"><li>POSITIVE [#-##% (IS) and MR#-##]; 圖 2.</li> <li>POSITIVE [Above upper LoQ]; 圖 3.</li> <li>POSITIVE [Below LoD; &gt;MR4.52/&lt;0.0030% (IS)]; 圖 4.</li></ul></li> <li>ABL - PASS; 檢測到ABL轉錄物，且在有效的Ct範圍內且終點高於閾值設定。</li> <li>當 ABL Ct 值低於 18 時，反應中至少存在 32,000 ABL 拷貝數</li> <li>探針檢查 - PASS; 所有探針檢查結果通過。</li></ul> |
| 見圖2, 見圖3, 見圖4 |  |
| <b>陰性</b>     | 未檢測到BCR-ABL轉錄物。 <ul style="list-style-type: none"><li>BCR-ABL 陰性 [足夠的 ABL 轉錄物] - 未檢測到 BCR-ABL 轉錄物，並且循環閾值 (Ct) 高於有效限環。</li> <li>ABL - PASS; 檢測到ABL轉錄物，且在有效的Ct範圍內且終點高於閾值設定。</li> <li>當 ABL Ct 值低於 18 時，反應中至少存在 32,000 ABL 拷貝數</li> <li>探針檢查 - PASS; 所有探針檢查結果通過。</li></ul>  |
| 見圖5           |  |
| <b>無效</b>     | BCR-ABL轉錄物無法被檢測。 <ul style="list-style-type: none"><li>無效 - 由於樣本含有過量的BCR-ABL和/或ABL轉錄物，導致無法確定BCR-ABL轉錄物含量。請參閱第 15 節，故障排除指南，重新測試樣本的其他說明。</li> <li>ABL - FAIL - ABL循環閾值 (Ct) 不在有效範圍或終點內低於閾值設定。圖 6。請參閱第 15 節，故障排除指南，重新測試樣本的其他說明。</li> <li>探針檢查 - PASS; 所有探針檢查結果通過。</li></ul>   |
| 見圖6           |  |
| <b>錯誤</b>     | BCR-ABL轉錄物無法被檢測。請參閱第 15 節，故障排除指南，重新測試樣本的其他說明。  |
| 見圖7           | <ul style="list-style-type: none"><li>BCR-ABL - 無結果</li> <li>ABL - 無結果</li> <li>探針檢查 - FAIL; 所有或一個探針檢查結果失敗。</li> <li>探針檢查通過或NA(不適用)和壓力中止。</li></ul> <p>“如果探頭檢查通過或顯示 IS，則錯誤是由最大壓力限制超出可接受範圍或系統組件故障引起的。</p>   |
| <b>無結果</b>    | BCR-ABL轉錄物無法被檢測。檢測結果訊息不足，無法產生測試結果。例如，如果操作員停止了正在進行的測試，則可能發生這種情況。請參閱第 15 節，故障排除指南，重新測試樣本的其他說明。 <ul style="list-style-type: none"><li>BCR-ABL - 無結果</li> <li>ABL - 無結果</li> <li>探針檢查 - NA (不適用)</li></ul>   |

#### 13. 定量結果

本產品每個試劑盒都提供分析證書，並包含本產品試劑組一個批號特異的標準曲線和效率值(EΔCt)。效率值嵌入在本產品試劑匣的條形碼中。有關效率值的詳細計算，請參閱分析證書。每個試劑匣批號還包含嵌入在條形碼中的批號特定比例因子(SF)，將定量測試結果與國際標度 (IS) 聯繫起來。測試結果提供百分比 (IS) 和分子反應(MR)的定量測試報告（見表 2 和表 3）。這些定量值應根據本產品 測試的精度度進行解釋（參見第 20 節，精密度和再現性）

| Log Reduction in% BCR-ABL/ABL (IS) | MR  | % BCR-ABL/ABL (IS) <sup>a</sup> |
|------------------------------------|-----|---------------------------------|
| 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).

MRxx.x = log10[100/Determined % (IS)] = log10(100)-log10[Determined % (IS)] = 2–log10[Determined % (IS)]

表 3. Xpert BCR-ABL Ultra 測試結果示例

| Test | BCR-ABL Ct | 結果  | ABL Ct | 結果   | Xpert BCR-ABL Ultra 測試結果           | 備註  |
|------|------------|-----|--------|------|------------------------------------|---|
| 1    | 7.1        | 無效  | 7.3    | FAIL | 無效 [BCR-ABL 和 ABL 轉錄物過高]           | Calculated % value: 149.92%                       |
| 2    | 8.1        | 無效  | 7.9    | FAIL | 無效 [ABL 轉錄物過高]                     | Calculated % value: 121.05%                       |
| 3    | 7.9        | 無效  | 8.1    | PASS | 無效 [BCR-ABL 轉錄物過高]                 | Calculated % value: 149.92%                       |
| 4    | 11.4       | 陽性  | 10.9   | PASS | 陽性 [高於 LoQ 上限值]                    | Calculated % value: 78.92%                        |
| 5    | 18.2       | 陽性  | 13.5   | PASS | 陽性 [33.93% (IS) and MR0.47]        | Calculated % value: 33.93%                        |
| 6    | 21.4       | 陽性  | 13.4   | PASS | 陽性 [4.68% (IS) and MR1.33]         | Calculated % value: 4.68%                         |
| 7    | 28.6       | 陽性  | 15.2   | PASS | 陽性 [0.012% (IS) and MR3.92]        | Calculated % value: 0.012%                        |
| 8    | 30.0       | 陽性  | 12.7   | PASS | 陽性 [低於 LoD; >MR4.52/<0.0030% (IS)] | Calculated % value: 0.008%                        |
| 9    | 0          | 陰性  | 13.3   | PASS | 陰性 [ABL 轉錄物足夠]                     | 0%  |
| 10   | 31.6       | 無效  | 18.2   | FAIL | 無效 [ABL 轉錄物不足夠]                    | NA  |
| 11   | 0          | 無效  | 18.6   | FAIL | 無效 [ABL 轉錄物不足夠]                    | NA  |
| 12   | 0          | 無效  | 0      | FAIL | 無效 [無 ABL 轉錄物]                     | NA  |
| 13   | 0          | 無結果 | 0      | 無結果  | 錯誤                                 | For example, Error 5017: [ABL] probe check failed |

#### 13.1 陽性 [#-##% (IS) 和 MR#-##]

BCR-ABL 檢測到的數值為 #-##% (IS) 和 MR#-##。

對於“陽性 [#-##% (IS) 和 MR#-##]”結果，BCR-ABL 可檢測到 BCR-ABL Ct 大於或等於 “8” 且小於或等於 cut-off “32” 和 ABL Ct 大於或等於 “8” 且小於或等於 “18”。GeneXpert 軟體使用以下公式計算 % (IS)，其中 Delta Ct (ΔCt) 值是從 ABL Ct 減去 BCR-ABL Ct 獲得的：

 
Δ
C
t


(
I
S
)
=
E

(
Δ
C
t
)


×
100
×
S
c
a
l
i
n
g
F
a
c
t
o
r
(
S
F
)


{\displaystyle \Delta Ct (IS)=E^{ΔCt}\times 100\times Scaling Factor (SF)}

s1. 比例因子 (SF) 為批號特定參數被嵌入試劑匣條碼中。該因子的值及批號特異的 E<sub>ABL</sub> 由每個批號的品管測試決定，使用來自世界衛生組織於國際基因參考平台定量 BCR-ABL 轉錄物的二級標準品。同時，二級標準品及批號特異 E<sub>ABL</sub> 及 SF 值，校正檢測的定量結果為 IS。E<sub>ABL</sub> 設置為 1.92 及 SF 值設為 1.22 顯示於此例。例子:

Lot-specific EΔCt = 1.92; SF = 1.22
Assay’s ABL Ct = 11.3; BCR-ABL Ct = 18.0 ; ΔCt = -6.7
% (IS) = 1.92(-6.7) x 100 x 1.22 = 1.54% (IS)
MRx.xx=log10[100/Determined % (IS)] =log10(100)-log10(1.54)=2–log10(1.54)=MR1.81.
結果: **陽性 [1.54% (IS) and MR1.81]**。見圖 2。

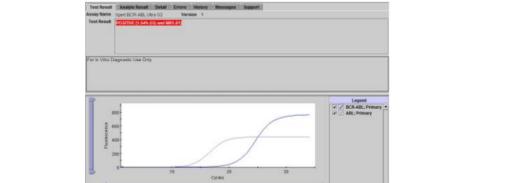


圖 2. GeneXpert DX 查看結果視窗：陽性 [1.54% (IS) 和 MR1.81]

#### 13.2 陽性 [高於 LoQ 上限值]

BCR-ABL 檢測到的數值為 >55% (IS) 和 <MR0.26。對於陽性 [高於 LoQ 上限值] 結果，BCR-ABL 可檢測到 BCR-ABL Ct 大於或等於 “8” 且小於或等於 cut-off “32” 和 ABL Ct 大於或等於 “8” 且小於或等於 “18”。GeneXpert 軟體使用以下公式計算 % (IS)，其中 Delta Ct (ΔCt) 值是從 ABL Ct 減去 BCR-ABL Ct 獲得的：

 
Δ
C
t

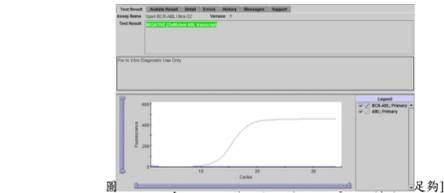

(
I
S
)
=
E

(
Δ
C
t
)


×
100
×
S
c
a
l
i
n
g
F
a
c
t
o
r
(
S
F
)


{\displaystyle \Delta Ct (IS)=E^{ΔCt}\times 100\times Scaling Factor (SF)}

s1. 比例因子 (SF) 為批號特定參數被嵌入試劑匣條碼中。該因子的值及批號特異的 E<sub>ABL</sub> 由每個批號的品管測試決定，使用來自世界衛生組織於國際基因參考平台定量 BCR-ABL 轉錄物的二級標準品。同時，二級標準品及批號特異 E<



**13.5 無效 [ABL 轉錄物不足夠]**  
BCR-ABL 檢測到或未檢測到，ABL Ct 大於 “18” 。當檢測到或未檢測到 BCR-ABL 時，GeneXpert 軟體首先看 ABL Ct 以確認 ABL Ct 是否小於或等於 “18”，以確保具有“足夠的 ABL 轉錄物”。請參閱第 15 節，故障排除指南。

例子：  
Assay's BCR-ABL Ct = 0；ABL Ct = 24 is greater than “18”.  
**結果：無效 [ABL 轉錄物不足夠]**。見圖 6。

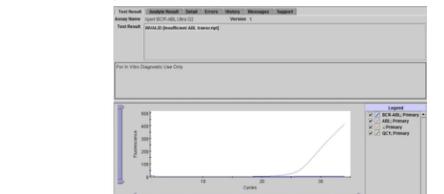


圖 6. GeneXpert Dx 查看結果視窗：無效 [ABL 轉錄物不足夠]



圖 7. GeneXpert Dx 查看結果視窗：錯誤

#### 14. 分析限制

- 該產品僅供體外診斷使用。
- 注意：**聯邦法律限制本設備只能由有執照的從業者銷售或按其訂單銷售。
- 該檢測不與外部校正一起使用。
- 低於MR4.5的檢測精度未得到證明或保證。
- 該檢測不適用於確定是否停止 TKI 治療，也不適用於終止後的監測。
- 本產品測試的性能僅使用本包裝說明書中提供的步驟進行評估。對這些步驟修改可能會改變測試的性能。
- 本產品已通過 EDTA 管中採集的血液驗證。
- 不要使用肝素作為抗凝劑，因為它會抑制 PCR 反應。
- 檸檬酸鈉 (NaCitrate)、血清棕黃層和骨髓樣本類型尚未經過驗證。
- 錯誤的測試結果可能因樣本採集、處理或儲存不當或樣本混淆而產生，必須仔細遵守本包裝說明書中的說明，以避免出現錯誤結果。
- 本產品僅設計用於檢測而非區分 p210 BCR-ABL 融合轉錄物 e13a2/b2a2 和 e14a2/b3a2。除了這些使用說明中描述的那些之外，尚未評估檢測其他融合轉錄物的能力。該測試未檢測次要或微斷點、遺缺或突變。
- 本產品並非旨在檢測白血病患者外周血樣本中可能存在的 e1a2 (p190)、e19a2 (p230) 或其他輕微變位。
- 本產品不會檢測到與斷點相鄰的部分序列被刪除的異常 e13a2/b2a2 融合轉錄物。
- 對於某些白細胞計數非常高（高於 3000 萬個細胞/mL）的樣本，由於樣本中 BCR-ABL 或 ABL 數值過高，本產品可能會報告無效（類型 2）結果。有關其他信息，請參閱表 4，故障排除指南。
- 一些 ABL 轉錄數值非常低或白細胞低於 150,000 個細胞/mL 的樣本可能被報告為無效（類型 1）。不確定的結果並不排除患者體內存在非常低數值的白血細胞。
- 具有 e19a2 微斷點的 CML p230 轉錄本在高目標水平（高於 LoD 3.52 個對數）進行測試時，可能會報告低於測定 LoD（0.0030% (IS)/MR4.52）的 BCR-ABL 陽性結果。
- 引物或探針結合區域的突變或多態性可能會影響新變異或未知變異的檢測，並可能導致假陰性結果。
- 一些 BCR-ABL1 轉錄物數值非常低（即低於 LoD 0.0030% (IS) 或高於 MR4.52）的患者可能被報告為陰性 [足夠的 ABL 轉錄]。因此，未檢測到的結果並不排除患者體內存在低水平的白血細胞。
- 該測定已驗證可用於 GeneXpert Dx 系統（GX-I、GX-II、GX-IV、GX-XVI）。

#### 15. 故障排除指南

| 測試結果                               | 可能原因   | 建議  |
|------------------------------------|--|---|
| 無效                                 | <p>類型 1: 內源性控制 ABL 失效：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>樣本質量差</li> <li>RT-PCR 抑制</li> <li>ABL Ct &gt; 18，和/或終點 &lt; 200</li> </ul> <p>類型 2: 由於樣本含有過量的 BCR-ABL 和/或 ABL 轉錄本 (Ct &lt; 8)，因此無法確定 BCR-ABL 轉錄物數值</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>檢查樣本質量（例如，超出樣本存儲要求，包括時間和溫度）。</li> <li>按照第 16.1 節，錯誤或無效（類型 1）重新測試步驟中所述的步驟，使用原始樣本（如果可用）或保留的裂解液和新試劑匣重複測試。</li> <li>按照第 16.2 節，錯誤（代碼 2008）或無效（類型 2）重新測試步驟中所述的步驟，使用原始樣本（如果可用）或保留的裂解液和新試劑匣重複測試。</li> </ul> |
| 錯誤 (代碼 2008)                       | 壓力超過限制（錯誤信息 2008）  | <ul style="list-style-type: none"> <li>檢查樣本質量</li> <li>檢查 WBC 計數是否嚴重過高</li> <li>按照第 16.2 節，錯誤（代碼 2008）或無效（類型 2）重新測試步驟中所述的步驟，使用原始樣本（如果可用）或保留的裂解液和新試劑匣重複測試。</li> </ul>  |
| 錯誤 (代碼 5006, 5007, 5008, and 5009) | 探針檢查失敗   | 按照第 16.1 節，錯誤或無效（類型 1）重新測試步驟中所述的步驟，使用原始樣本（如果可用）或保留的裂解液和新試劑匣重複測試。  |
|                                    |  | 這不是錯誤代碼的詳盡列表。   |

|     |                                  |  |
|-----|----------------------------------|--|
| 無結果 | 數據收集失敗。例如，操作員停止了正在進行的測試或發生了電源故障。 | 按照第 16.1 節，錯誤或無效（類型 1）重新測試步驟中所述的步驟，使用原始樣本（如果可用）或保留的裂解液和新試劑匣重複測試。 |
|-----|----------------------------------|--|

#### 16. 重新測試

##### 16.1 ERROR 或 INVALID（類型 1）的重新測試步驟

由於 ABL 循環閾值 (Ct) 超過最大有效 Ct cut-off (Ct>18) 或終點低於閾值設置 (<200)，因此重新測試樣本時出現 ERROR 或 INVALID 結果。另請參閱表 4，故障排除指南。

- 如果有足夠的血液樣本量，請按照第 9.2 節，樣本準備中的步驟從原始血液樣本收集管中重新測試。
- 如果血液樣本量不足，可以使用第 9.2 節，樣本準備，步驟 12 中保留的裂解物進行重新測試。
  - 如果保留來自第 9.2 節，樣本準備，步驟 12 的裂解物，則冷凍保存，使用前解凍至室溫。
  - 使用震盪混合器在最大設置下連續混合樣本 10 秒，確保裂解液充分混合，然後將其放置 3 分鐘以讓氣泡沉澱。轉到步驟 3。
- 將 1 mL 製備的裂解液轉移到 50 mL 錐形管中。
- 於含有裂解物的新錐形管中，加入 1.5 mL 裂解試劑 (LY)。
- 將樣本用振盪混合器在最高轉速下連續攪 10 秒鐘。
- 在室溫下育溫 10 分鐘。
- 再於同一錐形管中，加入 2 mL 試劑級無水乙醇（未提供）。
- 將樣本用振盪混合器在最大轉速下連續混合 10 秒。
- 打開試劑匣蓋，將清洗試劑（1）瓶的全部內容物轉移到清洗試劑槽（小開口）。參見圖 1。
- 將準備之樣本的全部內容物移入樣本槽（大開口）。參見圖 1。
- 關閉試劑匣。啟動測試（請參閱第 9.5 節，啟動測試）。

##### 16.2 錯誤（代碼 2008）或無效（類型 2）的重新測試程序

重新測試 BCR-ABL 和/或 ABL 轉錄物數值低於有效最大 Ct 截止值 (Ct<8) 和/或超過壓力限制時的樣本。另請參閱表 4，故障排除指南。

- 在新的 50 mL 錐形管的底部，加入 100 μL PK（蛋白酶 K）。
- 如果有足夠的血樣本量，用原採血管重新攪測。移液前立即將採血管倒置 8 次，確保血液樣本充分混合。跳到步驟 3。
  - 或者，如果血液樣本量不足，可以從第 9.2 節，樣本準備，步驟 12 中保留的裂解物中進行重新測試。
    - 如果保留來自第 9.2 節，樣本準備，步驟 12 的裂解物，則冷凍保存，使用前解凍至室溫。
    - 使用震盪混合器在最大設置下連續混合樣本 10 秒，確保裂解液充分混合，然後將其放置 3 分鐘以讓氣泡沉澱。轉到步驟 4。
- 加入 50 μL 血液樣本（如果有）已經含有蛋白酶 K 的試管中，或 80 μL 來自第 9.2 節，樣本準備，步驟 12 的剩餘裂解液。
  - 使用震盪混合器以最大設置連續混合樣本 3 秒。
  - 在室溫下育溫 1 分鐘。
- 向裝有裂解液的新錐形管中加入 2.5 mL 裂解試劑 (LY)。
- 使用震盪混合器以最大設置連續混合樣本 10 秒。
- 在室溫下育溫 10 分鐘。
- 再於同一錐形管中，加入 2 mL 試劑級無水乙醇（未提供）。
- 將樣本用振盪混合器在最大轉速下連續混合 10 秒。
- 打開試劑匣蓋，將清洗試劑（1）瓶的全部內容物轉移到清洗試劑槽（小開口）。參見圖 1。
- 將準備之樣本的全部內容物移入樣本槽（大開口）。參見圖 1。
- 關閉試劑匣。啟動測試（請參閱第 9.5 節，啟動測試）。

17. 預期值  
本產品經由 BCR-ABL mRNA（轉錄 e13a2/b2a2 或 e14a2/b3a2）和 ABL 內源性品管 mRNA 的定量檢測，涵蓋了監測 CML（橫跨 MR 1 到 4.5）的關鍵臨床決策點。本產品預期檢測範圍 0.0030 至 55% (IS) (MR 4.52 至 MR 0.26) 內。

#### 18. 性能特徵

##### 18.1 臨床效能

本產品在美國的四家機構進行了多中心臨床研究，其中一家進行臨床效能評估。另外三個機構僅作為樣本採集點。該研究是從不同疾病階段的 CML 患者中，前瞻性收集新鮮的、EDTA 全血檢體進行，在初步診斷後，無論是否已經接受過酪氨酸激酶抑制劑治療或其他 CML 治療。此外，研究包括前處理後，已冷凍裂解物儲存的剩餘樣本。這些樣本是從同一患者群體的 EDTA 全血製備的。本產品性能與 FDA 批准的分子檢測進行了比較，該檢測測定的量化轉錄類型 p210 (e13a2/b2a2 或 e14a2/b3a2) 的 mRNA，並使用 ABL 作為內源性對照 mRNA 轉錄本。最初共有 266 個符合條件的樣本被納入研究，其中 57 個因樣本不當而被排除，分別為過時採用法步驟 (27 件)、受試者未完成收集 (8 件)、運輸或測試延遲 (6 件)、測量量不足 (6 件)、對比測試失敗 (6 件) 或未依據標準程序操作進行本產品測試 (4 件)；留下 209 個測試的樣本。

在 209 個樣本中，97.1% (203/209) 在本產品第一次測試時成功得到結果，初始不確定率為 2.9% (6/209)，重新測試後 99.5% (208/209) 成功，最終不確定率為 0.5% (1/209)。

在可用於分析的 208 個樣本中，150 個 (72.1%) 是冷凍樣本，58 個 (27.9%) 是新鮮的、前瞻性的收集的樣本，其人口統計信息是可用的。在新鮮樣本中，24 份 (41.4%) 來自女性受試者，34 份 (58.6%) 來自男性受試者。提供新鮮樣本的受試者平均年齡為 60.5 歲（範圍 28-85 歲）。

在可用於分析的 208 個結果中，147 個結果在兩種檢測的定量報告範圍內 [Xpert BCR-ABL Ultra 0.0030% - 55% (IS)/MR4.52 - MR0.26 和用於比較分析對比方法 0.0020% - 50% (IS)/MR4.72 - MR0.30]；其中 117 個來自冷凍的剩餘裂解物，其中 30 個是新鮮的前瞻性收集的樣本。使用 Deming 回歸分析來評估本產品與對比方法性能，以確定斜率 and 截距。圖 8 顯示了 147 個測試 (MR 值) 的 Deming 回歸和線性回歸分析結果。

圖 8. Deming 和線性回歸分析

Deming 回歸的斜率 and 截距分別為 1.0266 和 0.0600。根據這些結果，於 MMR (MR3) 的預測偏差值為 Bland-Altman 差異區間為 0.0969 - 0.1519。

147 個定量結果進行了 Bland-Altman 差異分析，評估可報告範圍內的本產品和對比方法檢測。Bland-Altman 圖（見圖 9）顯示結果平均差異落在平均值的上下 2SD。圖同時顯示了橫跨 MR 範圍的偏差趨勢線。

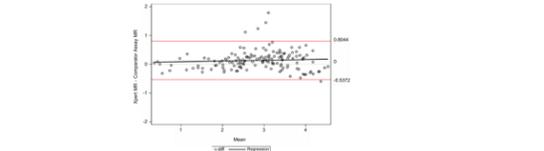


圖 9. 本產品和對比方法 MR Bland-Altman 差異分析  
平均差 (偏差) 結果計算為 0.1336，SD 為 0.3354。大多數 (96.6%, 142/147) 結果落在 2SD 範圍內（介於 -0.5372 和 0.8044 之間）。

#### 19. 分析性能

19.1 WHO 套組的可追溯性  
本產品使用 3 個批號來測量並對 WHO 標準參考套組，並將測量值與參考套組的使用說明書中公佈的進行比較，證明了通過 RQ-PCR (NIBSC 代碼：09/138) 定量 BCR-ABL 易位的第一個世界衛生組織 (WHO) 國際遺傳參考套組的可追溯性。每個檢測測試批號至少對 4 個參考套組進行 10 次重複測試。本產品以不同批號通過回歸計算 WHO 主要套組每個級別 MR 值。（即，WHO 參考套組被視為臨床樣本，並擬合檢測標準曲線的線性回歸模型）。此外，通過額外的回歸分析將測量的 MR 值與套組公佈的 MR 值進行比較，以確定斜率 and 截距值。線性的斜率接近於 1 (0.96 到 1.1)，計算得出的截距接近於 0 (-0.03 到 -0.06)。

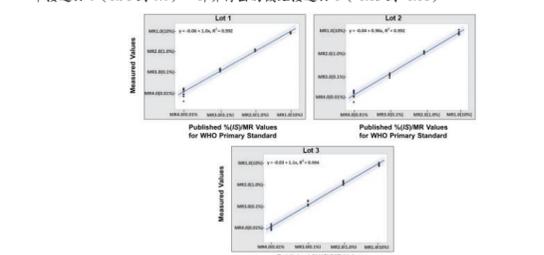


圖 10. WHO 主要參考套組的測量值與發布值，批號對批號  
以本產品測試產生的 MR 值 (y 軸) 與 WHO 主要套組的使用說明書中發布的 MR 值 (x 軸) 作圖。這三個批號由 (黑色) 數據點表示。回歸分析和信賴區間分別基於每個批號的數據。

#### 19.2 線性/動態範圍

使用具有 e13a2/b2a2 或 e14a2/b3a2 斷點的高值的特異性 CML 臨床樣本，對兩個主要斷點 e13a2/b2a2 和 e14a2/b3a2 分別獨立評估線性。來自每個高值 BCR-ABL CML 轉錄的已處理樣本使用已如 CML 陰性臨床樣本稀釋製備至 ~50% (IS)/MR.30 至 0.00625% (IS)/MR5.20 的目標範圍。測試套組中包含陰性樣本，在兩個測試批號進行測試，每個試劑批號做 4 重複。

根據 CLSI EP06-A 進行測試和統計分析。對一階、二階和三階多項式進行了線性回歸分析。如果多項式回歸係數不顯著 (p 值 > 0.05)，則每個斷點的結果被認為是線性的。兩種轉錄斷點的線性回歸曲線如下圖 11 和圖 12 所示。

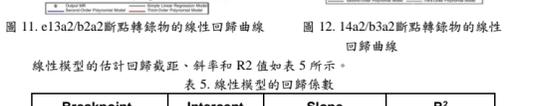


圖 11. e13a2/b2a2 斷點轉錄物的線性回歸曲線

圖 12. e14a2/b3a2 斷點轉錄物的線性回歸曲線

線性模型的估計回歸截距、斜率 and R2 值如表 5 所示。

表 5. 線性模型的回歸係數

| Breakpoint | Intercept | Slope   | R <sup>2</sup> |
|------------|-----------|---------|----------------|
| e13a2/b2a2 | -0.05833  | 0.99501 | 0.98304        |
| e14a2/b3a2 | 0.03647   | 1.03153 | 0.9788         |

整體來講，觀察到測試數據支持線性範圍從至少 55% (IS)/MR 0.26 到 ~0.0019% (IS)/MR4.75，最大 SD 為 0.26。LOQ 可報告線性範圍從 55% (IS)/MR0.26 到 0.0030% (IS)/MR4.52。

#### 19.3 分析靈敏度 (偵測限、最低定量限、空白值限)

最低偵測限 (LoD) 為使用 e13a2/b2a2 或 e14a2/b3a2 斷點的高值 CML 陽性檢體 [ >10% (IS)/MR1 ] 及低值 CML 陽性檢體 <0.1% (IS)/MR3 ] 經序列稀釋後測得。稀釋濃度與檢體中每一斷點的數據皆為獨立收集，並使用概率回歸分析。分析結果得出 e13a2/b2a2 斷點的偵測限為 0.0035% (IS)/MR4.45，而 e14a2/b3a2 斷點的估算偵測限為 0.0030% (IS)/MR4.52。

表 6 為採用 CLSI EP17-A2 所描述的非參數方法學驗證偵測限結果。將分別代表兩個斷點的兩隻 CML 陽性檢體稀釋至 0.0030% (IS)/MR4.52，在 e13a2/b2a2 斷點中，兩名操作員在四天內使用四種試劑批號進行了 94 次重複測試，而在 e14a2/b3a2 斷點中，兩名操作員在七天內使用四種試劑批號進行了 101 次重複測試。

表 6. 以 % (IS)/MR 為單位驗證的偵測限

| Breakpoint | Positives/Replicates | % of Positives | Median % (IS)/MR    |
|------------|----------------------|----------------|---------------------|
| e13a2/b2a2 | 90/94                | 95.74%         | 0.0030% (IS)/MR4.52 |
| e14a2/b3a2 | 97/101               | 96.04%         | 0.0029% (IS)/MR4.54 |

由於本產品並不能分辨 e13a2/b2a2 及 e14a2/b3a2 兩個斷點，故採用兩者中數值較高者做為偵測限。因此，對於本產品的 e13a2/b2a2 及 e14a2/b3a2 之偵測限為 0.0030% (IS)/MR4.52。

定量限 (LoQ) 為從偵測限 (LoD) 的數據推算得出。% (IS) 和 MR 值的均值及標準差為透過以相等於 LoD, 0.0030% (IS)/MR4.52 或者以陽性率大於或等於 95% 做重複計算。由於本試驗的 LoQ 受制於 LoD，因此 LoQ 確定與 LoD 相等，為 0.0030% (IS)/MR 4.52。另外此結果也根據了標準差小於或等於 0.36 的驗收標準進行驗證，e13a2/b2a2 (估算標準差範圍 MR0.27-MR0.34) 和 e14a2/b3a2 (估算標準差範圍 MR0.29-MR0.31) 的 MR 值標準差皆在可接受標準內。

空白值限 (LoB) 為使用 50 份推定的非 CML，正常的健康捐贈者抽取至 EDTA 管的血液檢體驗證而得。在測試中未觀察到任何可測量的 BCR-ABL 數值，因此整體的 LoB 為 0.00% (IS)。

#### 19.4 分析特異性

本產品的分析特異性及臨床特異性之評估為通過分析 50 支非 CML 的健康捐贈者和 20 支白血血 (AML, ALL) 的 EDTA 全血檢體而得。斷點特異性之評估為通過在健康捐贈者的 EDTA 全血檢體中摻入 5 種不同的白血血細胞株，其中包含 3 種類型的白血血 (CML, ALL 和 APL) 及 5 種易病轉錄斷點：將 K562 (CML/e14a2/b3a2) 及 BV173 (CML/e13a2/b2a2) 做為陽性品管，並評估 SUP-B15 (ALL/e1a2), AR230 (CML/e19a2) 和 NB4 (APL/PML/RARA) 之特異性。

在本研究中，本產品均未在任何健康非 CML 的檢體或 AML/ALL 白血血檢體中偵測到 BCR-ABL 訊號。

在白血血細胞株測試中，具有主要的 p210 轉錄斷點的 CML 細胞株 (K562 和 BV173) 產生了預期的陽性結果。具有 p230 e19a2 轉錄斷點之 CML 細胞株 (AR230) 在基於 K562 細胞數量 10% (IS)/MR1.00 標準的四次重複測試中有一次報告為 POSITIVE Below LoD; >MR4.52 / <0.0030% (IS)。細胞株 AR230 的陽性結果相比於 LoD 高了 3.52 個 Log，並且未觀察到低於 1% (IS)/MR2.00 和 0.1% (IS)/MR3.00 的數值。因此，本產品與 CML 相關的 210 BCR-ABL 融合轉錄是具有特異性的，同時對非 CML 的 EDTA 血液檢體也具有 100% 的分析特異性。

#### 19.5 殘餘汗液

此研究為驗證單次使用、單包裝的 GeneXpert 試劑匣可避免殘餘污染發生在相同 GeneXpert 模組，測試方法為在高濃度的陽性檢體執行後操作陰性檢體。研究包含在執行後用 4.5x10<sup>6</sup> 個 K562 細胞之 CML 陰性血液，混合結果為 ~10% BCR-ABL/ABL (IS) 的 “BCR-ABL detected” 檢體 (模擬 CML 陽性血液) 之後，於同一 GeneXpert 模組，立即處理 “BCR-ABL was not detected” 的 EDTA 正常檢體 (CML 陰性血液)。以此順序上機，分別測試四個 GeneXpert 模組，共測試 20 次，所有 20 個 BCR-ABL 陽性檢體正確報告為 **陽性 [##% (IS) 和 MR##]**，而所有 20 個 BCR-ABL 陰性檢體正確報告為 **陰性 [ABL 轉錄物足夠]**。

19.6 潛在干擾物質  
本研究評估了五種存在於 EDTA 全血檢體中並可能干擾本產品性能的潛在物質。EDTA 全血檢體測試，並分為三個級別：>1% (IS)/<MR2, 0.1-1% (IS)/MR3-MR2 和 <0.1% (IS)/>MR3。每個級別均包含五隻檢體。測試對照組由相對應的 BCR-ABL 轉錄濃度級別組成，並且不加入干擾物質。每隻 CML 檢體在 5 種單獨的干擾物質存在及不存在的情況下重複測試 4 次。

若與對照組相比測得的平均 % (IS)/MR 在 3 倍以內，則此測試物質將被認為是無干擾性的。

本研究中所評估的物質均未發現對本產品的測試有顯著的臨床抑制效應。儘管在某些測試條件下觀察到一些變異性和統計學上的顯著差異 (p<0.05)，但測試組和對照組的 % (IS)/MR 比率仍在可接受的 3 倍範圍內。

表 7. 使用 Xpert BCR-ABL Ultra 測試的潛在干擾物質

| 干擾物質                          | 測試濃度           |
|-------------------------------|----------------|
| Unconjugated Bilirubin        | 20 mg/dL       |
| Cholesterol, Total            | 500 mg/dL      |
| Triglycerides, Total (Lipids) | 1800 mg/dL     |
| Heparin                       | 3500 U/L       |
| EDTA (short draw)             | 750 mg/dL (5X) |

#### 20. 精密度與再現性

在本研究中，本產品試驗的精密度與再現性為在多個試驗中心評估而得，並根據指引文件 CLSI EP05-A3, “Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline” 以及 CLSI EP15-A3, “User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline”。

樣本為將 11 支檢體組成一個套組，其中包含 4 支 BCR-ABL 陰性檢體、2 支接近偵測限的檢體以及 5 支對應 MR 數值 1-4 的檢體，並採用本產品所檢測的兩個目標斷點 e13a2/b2a2 和 e14a2/b3a2。檢體套組是由將來自 CML 患者的高數值 BCR-ABL/ABL 檢體的裂解物以健康捐贈者的全血稀釋至理想的濃度值。表 8 為在本研究中使用的 11 支檢體。

表 8. Xpert BCR-ABL Ultra 的再現性套組

| Sample No. | Description         | % (IS)                  |
|------------|---------------------|-------------------------|
| 1          | MR1.0 e13a2/b2a2    | BCR-ABL at ~10% (IS)    |
| 2          | MR1.0 e14a2/b3a2    | BCR-ABL at ~10% (IS)    |
| 3          | MR2.0 e13a2/b2a2    | BCR-ABL at ~1% (IS)     |
| 4          | MR2.0 e14a2/b3a2    | BCR-ABL at ~1% (IS)     |
| 5          | MR3.0 e13a2/b2a2    | BCR-ABL at ~0.1% (IS)   |
| 6          | MR3.0 e14a2/b3a2    | BCR-ABL at ~0.1% (IS)   |
| 7          | MR4.0 e13a2/b2a2    | BCR-ABL at ~0.01% (IS)  |
| 8          | MR4.0 e14a2/b3a2    | BCR-ABL at ~0.01% (IS)  |
| 9          | Near LoD e13a2/b2a2 | BCR-ABL at ~0.005% (IS) |
| 10         | Near LoD e14a2/b3a2 | BCR-ABL at ~0.005% (IS) |
| 11         | Negative            | BCR-ABL Not Detected    |

套組中的每一支檢體在四天內，每天由三個不同的操作員在三個不同的地點進行兩次重複測試，並使用了三個不同批號的 Xpert BCR-ABL Ultra 試劑，每個操作員使用一個批號。總共是 (3 個地點 x 3 個批號 x 1 個操作員) 批號 x 4 天 x 2 次操作/操作員 x 2 次重複測試 = 144 次重複測試/每支檢體。

定量的結果經由標準差分析 (ANOVA) 後分析而得，並將每支檢體的標準差分析列於表 9。

表 9. 再現性研究：標準差分析的結果

| Sample                   | N                | Mean (MR) | Site/Instrument SD | Operator/Lot SD | Day SD | Within-run SD | Total SD <sup>a</sup> |
|--------------------------|------------------|-----------|--------------------|-----------------|--------|---------------|-----------------------|
| Target MR1.0 e13a2/b2a2  | 144              | 0.96      | 0                  | 0.05            | 0.01   | 0.06          | 0.08                  |
| Target MR1.0 e14a2/b3a2  | 144              | 0.99      | 0                  | 0.06            | 0      | 0.08          | 0.1                   |
| Target MR2.0 e13a2/b2a2  | 143              | 2.04      | 0                  | 0.06            | 0.02   | 0.10          | 0.11                  |
| Target MR2.0 e14a2/b3a2  | 144              | 2.09      | 0.03               | 0.07            | 0.02   | 0.10          | 0.13                  |
| Target MR3.0 e13a2/b2a2  | 144              | 2.89      | 0.06               | 0.04            | 0.03   | 0.10          | 0.12                  |
| Target MR3.0 e14a2/b3a2  | 144              | 3.12      | 0.06               | 0.06            | 0      | 0.11          | 0.15                  |
| Target MR4.0 e13a2/b2a2  | 143 <sup>b</sup> | 3.67      | 0.03               | 0.02            | 0      | 0.15          | 0.15                  |
| Target MR4.0 e14a2/b3a2  | 144              | 3.91      | 0.05               | 0.08            | 0.04   | 0.14          | 0.17                  |
| Target MR>4.0 e13a2/b2a2 | 140 <sup>c</sup> | 4.36      | 0.04               | 0.04            | 0      | 0.33          | 0.33                  |
| Target MR>4.0 e14a2/b3a2 | 143 <sup>d</sup> | 4.22      | 0.03               | 0.08            | 0      | 0.17          | 0.19                  |

a. 本研究中，本產品之測試為透過 GeneXpert Dx 及 GeneXpert Infinity 系統進行，並整合檢體純化與核酸萃取步驟。因此本測試中的整體變異性 (表示為 Total SD) 包含檢體的處理與 RT-qPCR 的步驟所造成的變異性。

b. 自分析中刪除了三個因連對 CLSI EP15-A3 99% 水平異常值的樣本。

c