

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

**REF** GXNPM1-CE-10

Kasutusjuhend

**IVD** CE

## **Kaubamärke, patente ja autoriõigusi puudutavad avaldused**

### **Trademark, Patents, and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2022–2023 Cepheid.

See Section 28, Revision History for a description of changes.

Cepheid<sup>®</sup>, Cepheidi logo, GeneXpert<sup>®</sup> ja Xpert<sup>®</sup> on Cepheidi USA-s ja teistes maades registreeritud kaubamärgid. Kõik muud kaubamärgid kuuluvad vastavatele omanikele.

TOOTE OSTMISEL SAAB OSTJA LOOVUTAMATU ÕIGUSE SEDA TOODET KASUTADA VASTAVALT KÄESOLEVALE KASUTUSJUHENDILE. OSTJA EI SAA OTSESELT, KAUDSELT EGA ESTOPPELI DOKTRIINI KOHASELT ÜHTEGI MUUD ÕIGUST. LISAKS SELLELE EI SAA OSTJA MINGEID ÕIGUSI TOOTE EDASIMÜÜGIKS.

© 2022–2023 Cepheid.

Muudatuste kirjeldust vt jaotisest Jaotis 28 Redaktsioonijalugu.

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

---

*In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.

## 1 Kaubanduslik nimetus

Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

## 2 Levinud või tavapärane nimetus

Xpert NPM1 Mutation

## 3 Kavandatud kasutus

### 3.1 Sihtotstarve

Test Xpert NPM1 Mutation, mis tehakse süsteemiga Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> Dx System, on *in vitro* diagnostiline test mutantsete NPM1 mRNA transkriptide (tüübid A, B ja D eksonis 12) kvantifitseerimiseks ägeda müeloidse leukeemiaga (AML) patsientide perifeerse vere proovides. Test kasutab automatiseeritud reaalaaja pöördtranskriptsiooni polümeraasi ahelreaktsiooni (RT-PCR) ja teatab mutantse NPM1 ja ABL1 endogeense kontroll-mRNA transkriptide protsendisuhte. Test on mõeldud abivahendina NPM1-mutatsiooniga AML-iga patsientide jälgimisel mutantse NPM1 mRNA transkripti taseme osas. Testi tuleb kasutada koos teiste kliinilis-patoloogiliste teguritega.

Test Xpert NPM1 Mutation ei tee vahet A-, B- ega D-tüüpi mutantsete NPM1 transkriptide vahel ega tuvasta ega jälgi muid haruldasi mutantseid NPM1 tüüpe. See test ei ole mõeldud AML-i diagnoosimiseks.

### 3.2 Sihtkasutaja/-keskkond

Test Xpert NPM1 Mutation on ette nähtud kasutamiseks koolitatud kasutajatele laboris.

## 4 Kokkuvõtte ja selgitus

Äge müeloidleukeemia (AML) on luuüdi müeloidse vere hematopoetiliste tüvirakkude vähk<sup>1,2</sup> millel on teadaolevalt erinevad nukleofosmiini (NPM1) eksoni 12 mutatsioonid<sup>3</sup>. Nukleotiidide insertioon eksonisse 12 põhjustab lugemisraaminihke mutatsiooni ja loob tuumaekspordi signaali (NES). NPM1 geeni mutatsioonid põhjustavad NPM1 ja NPM1-ga suhtlevate valkude aberrantset tsütoplasma lokaliseerumist. NPM1 on üks enim muteerunud genee AML-i puhul ja mutatsioonid esinevad 28–35% kõigist AML-i juhtudest. Kuigi praegu uuritakse mitmeid muteerunud NPM1-le suunatud ravimeid, ei ole praegu saadaval ühtegi FDA poolt heaks kiidetud sihitud ravi.<sup>4</sup>

NPM1 geen kodeerib tuuma süstikvalku, millel on roll tsentrosoomide ja ribosoomide bioloogias, aga ka teiste rakusüsteemide, sh kasvaja supressorradade reguleerimises. NPM1 on nukleolaarne fosfoproteiin, mis toimib süstikuna tuuma ja tsütoplasma vahel. See reguleerib ribosoomiosakeste transporti läbi tuumamembraani. NPM1 mutatsioonid avastati esmakordselt AML-i inimestel pärast avastamist normaalse tuuma asukoha asemel ebanormaalses tsütoplasmaatilises asukohas. Leukeemiliste blastide geneetiline hindamine koos tsütoplasmaatilise NPM1 asukohaga on viinud teadmiseni teadaolevate eksoni 12 lugemisraami nihke mutatsioonide kohta.<sup>3</sup> Kõige sagedasemad NPM1 mutatsioonid on A-tüüp (~75-80%), B-tüüp (~10%) ja D-tüüp (~5%), kõik eksonis 12, mille tulemuseks on lugemisraami nihke mutatsioon nelja nukleotiidi sisestamisel. Mutatsioon põhjustab AML-i patsientidel nukleolaarse lokaliseerimise signaali kadumise ja valgu tsütoplasmaatilise lokaliseerumise kõrvalekalde.<sup>5</sup>

## 5 Protseduuri põhimõte

Test Xpert NPM1 Mutation on automaatne test NPM1 mutatsiooni transkriptide koguse määramiseks NPM1 mutatsiooni / ABL1 suhtena. Test tehakse süsteemiga Cepheid GeneXpert Dx System, mis automatiseerib ja integreerib proovide puhastamise, nukleiinhappe amplifikatsiooni ja sihtjärjestuse tuvastamise lihtsates või keerukates proovides, kasutades reaajas RT-PCR ja pesastatud PCR analüüse. Süsteem koosneb instrumendist, arvutist ja eellaaditud tarkvarast analüüsides analüüsimiseks ja tulemuste vaatamiseks. Süsteemile on vajalikud ühekordselt kasutatavad GeneXpert kassetid, mis sisaldavad RT-PCR ja pesastatud PCR reagente ning milles toimuvad RT-PCR ja pesastatud PCR protsessid. Süsteemide täielikku kirjeldust vt vastavast -st *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Test Xpert NPM1 Mutation sisaldab reagente NPM1 mutatsiooni tuvastamiseks ja ABL1 transkripti endogeense kontrollina perifeerse vere proovides. NPM1 mutatsiooni transkripti kogus kvantifitseeritakse kui NPM1 mutatsiooni/ABL1 protsendisuhe. Testis Xpert NPM1 Mutation on kaks kontrolli – endogeenne kontroll (ABL1) ja sondikontrolli kontroll (PCC). ABL1 endogeenne kontroll normaliseerib NPM1 mutatsiooni sihtmärki ja tagab, et analüüsis kasutatakse piisavalt proovi. PCC kontrollib reaktiivi rehüdratsiooni, PCR-katsuti täitmist ja seda, et kõik reaktsioonikomponendid, sh sondid ja värvained, on kassetis olemas ja töötavad.

## 6 Reagendid ja instrumendid

### 6.1 Komplekti kuuluvad materjalid

Komplekt Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) sisaldab piisavalt reagente 10 analüüsiproovi või kvaliteedikontrolli proovi töötlemiseks. Komplekt sisaldab järgmist.

#### Xpert NPM1 Mutation Reagendid

10 tk komplekti kohta

<b>Proteinase K (PK)</b>	<b>10 x 130 µl viaali kohta</b>
<b>Komponent</b>	<b>Reagendi koostisosa</b>
Proteinaas K	< 5%

<b>Lüüsireagent (LY) (guanidiiniumkloriid)</b>	<b>10 x 5,3 ml viaali kohta</b>
<b>Komponent</b>	<b>Reagendi koostisosa</b>
Guanidiiniumkloriid	25–50%
Uurea	25–50%
Naatriumdodetsüülsulfaat	< 2%

<b>Pesemisreagent</b>	<b>10 x 2,9 ml ampulli kohta</b>
<b>Komponent</b>	<b>Reagendi koostisosa</b>
Etanool	< 50%
Guanidiiniumtiotsüanaat	< 50%

Xpert NPM1 Mutation kassetid integreeritud reaktsioonikatsutitega		10 tk komplektis
Komponent	Reagendi koostisosa	Kogus
Kuulike 1 (külmkuivatatud)	Ensüüm: Taq DNA polümeraas < 50 U/ kuulike	1 tk kasseti kohta
	dNTPs < 0,05%	
Kuulike 2 (külmkuivatatud)	Praimerid ja sondid < 0,005%	1 tk kasseti kohta
Kuulike 3 (külmkuivatatud)	Praimerid ja sondid < 0,005%	1 tk kasseti kohta
Kuulike 4 (külmkuivatatud)	Ensüüm: Taq DNA polümeraas < 50 U/ kuulike	1 tk kasseti kohta
	dNTPs < 0,05%	
Loputusreagent	Kaaliumkloriid < 4%	2 ml igas kassetis
	Naatriumasiid < 0.1%	
	Polüetüleenglükool < 40%	
	Tween 20 < 0,2%	
Elueerimisreagent	Trizma alus < 0,3%	2,5 ml igas kassetis
	Trizma vesinikkloriid < 0,1%	
	Naatriumasiid < 0,05%	

**CD-plaat****1 tk komplektis**

- Analüüsi definitsioonifail (ADF)
- Juhis ADF-i importimiseks GeneXpert tarkvarasse
- Kasutusjuhend (IFU)

**Märkus**

Toote kuulikestes sisalduv veise seerumi albumiin (BSA) on saadud ja toodetud ainult Ameerika Ühendriikidest pärit veiseplasmast. Loomadele ei söödeta mäletsejavalku ega muud loomset valku; loomad läbisid tapmise eel- ja järeltestimise. Töötlemise ajal ei segatud materjali teiste loomsete materjalidega.

**Märkus**

Analüüsisertifikaadid ja partii spetsifikatsioonide andmelehed on saadaval Cepheidi tehnilise toe kaudu.

## 7 Vajalikud materjalid, mis ei kuulu komplekti

- GeneXpert Dx System (katalooginumber erineb olenevalt konfiguratsioonist): GeneXpert instrument, arvuti, võõtkoodiskanner ja kasutusjuhend.
- GeneXpert Dx System jaoks: GeneXpert Dx tarkvaraversioon 6.2 või uuem.
- Printer: kui printer on vajalik, pöörduge soovitatava printeri ostmise asjus Cepheidi tehnilise toe poole.
- Keerissegur
- Mikrotsentrifuug (vähemalt 1000 x g)
- Pipetid ja aerosoolfiltri pipetiotsad
- 50 ml koonilised katsutid
- Reagendi klassi absoluutne etanool
- 1X PBS, pH 7,4

## 8 Hoiustamine ja käsitlemine

- Hoidke Xpert NPM1 Mutation komplekti 2–8 °C juures kuni märgistusel näidatud aegumistähtpäevani.
- Ärge avage kasseti kaant enne, kui olete valmis testi sooritama.
- Ärge kasutage kassette, mille aegumistähtpäev on möödunud.

- Ärge kasutage kassetti, mis on lekkinud.
- Pesureagent on selge, värvitu vedelik. Ärge kasutage häguseks muutunud või värvi muutnud pesureagenti.
- Kaksikümmend (20) minutit enne protseduuri alustamist eemaldage vereproov, kassett ja proovi ettevalmistamise reagentid hoidlast, et lasta neil soojeneda toatemperatuurini (20–30 °C).

## 9 Hoiatused ja ettevaatusabinõud

### 9.1 Üldine

- *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.
- Käideldge kõiki bioloogilisi proove, sh kasutatud kassette ja reagente nii, nagu need oleksid võimalikud nakkuslike materjalide levitajad. Kuna sageli pole võimalik teada, milline proov võib olla nakkuslik, tuleb kõiki bioloogilisi proove käidelda standardseid ettevaatusabinõusid järgides.
- Proovide käitlemise suunised on saadaval USA-s asutustes Centers for Disease Control and Prevention<sup>6</sup> ning Clinical and Laboratory Standards Institute.<sup>7</sup>
- Kemikaalidega töötamisel ja bioloogiliste proovide käsitlemisel järgige oma asutuse ohutusprotseduure.
- Selle testi toimivusnäitajad on kindlaks tehtud ainult EDTA katsutitesse kogutud verega. Analüüsi funktsiooni ei ole muude proovitüüpidega hinnatud.
- Usaldusväärsete tulemuste saamine sõltub proovide asjakohasest võtmisest, transportimisest, säilitamisest ja töötlemisest. Vääraid analüüsitulemusi võib põhjustada vale proovide kogumine, käsitlemine või hoiustamine, tehniline viga, proovide segunemine, või proovi tuvastuspiirist madalam sihttranskript. Väärade testitulemuste vältimiseks tuleb hoolikalt järgida seda kasutusjuhendit ja *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- Testi Xpert NPM1 Mutation tegemine väljaspool soovitatud komplekti või proovide aja ja temperatuurivahemikku võib anda vääraid või kehtetuid tulemusi.
- Bioloogilisi proove, ülekandeseadmeid ja kasutatud kassette tuleb pidada nakkuslike materjalide võimalikeks levitajateks, mis nõuavad standardseid ettevaatusabinõusid. Järgige asutuse keskkonnajäätmete protseduure kasutatud kassettide ja kasutamata reagentide nõuetekohase kõrvaldamise kohta. Nendel materjalidel võib olla ohtlikele keemilistele jäätmetele iseloomulikke omadusi, mille tõttu tuleb kohaldada riiklikke või piirkondlikke käitlusprotseduure. Kui riiklikud või piirkondlikud eeskirjad ei anna selget suunist nõuetekohase kõrvaldamise kohta, tuleb bioloogilised proovid ja kasutatud kassetid kõrvaldada vastavalt Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) meditsiiniliste jäätmete käitlemise ja kõrvaldamise juhiste.<sup>8</sup>

### 9.2 Proov

- Proovi terviklikkuse tagamiseks pidage kinni õigetest hoiustamistingimustest (vt Jaotis 11, Proovide kogumine ja säilitamine). Proovi stabiilsust ei ole hinnatud teistsugustes transporditingimustes peale soovitatute.
- Ärge külmutage EDTA perifeerse vere proovi.
- Õigete tulemuste saamiseks on oluline proovide asjakohane võtmine, hoiustamine ja transportimine.


### 9.3 Test/reagent

- Ärge asendage testi Xpert NPM1 Mutation reagente teiste reagentidega.
- Ärge avage Xpert NPM1 Mutation kasseti kaant, välja arvatud proovi ja pesureagendi lisamiseks.
- Ärge kasutage kassetti, mis on pärast pakendist väljavõtmist kukkunud.
- Ärge kassetti raputage. Kasseti raputamine või kukutamine pärast kasseti kaane avamist võib põhjustada kehtetuid tulemusi.
- Ärge paigutage proovi ID etiketti kasseti kaanele ega kasseti võõtkoodi etiketile.
- Ärge kasutage kassetti, mille võõtkoodi etikett on kahjustatud.
- Ärge kasutage kassetti, mille reaktsioonikatsuti on kahjustatud.
- Testimisel on soovitatav, et Xpert NPM1 Mutation kassetid oleksid toatemperatuuril (20 °C kuni 30 °C).
- Igat Xpert NPM1 Mutation ühekordselt kasutatavat kassetti võib kasutada ühe analüüsi töötlemiseks. Ärge kasutage töödeldud kassette uuesti.
- Viige ühe (1) pesureagendi ampulli kogu sisu pesureagendi kambrisse. Pesureagendi lisamata jätmise võib põhjustada vale tulemus **EI TUVASTATUD (NOT DETECTED)**.
- Ärge kasutage pipetiotsikuid korduvalt.

- Ärge kasutage kasseti, kui see on nähtavalt märg või kui kaane tihend on purunenud.
- Ärge kasutage Xpert NPM1 Mutation kasseti, kui reagent on lisatud valesse avasse.
- Ärge avage Xpert NPM1 Mutation kassette pärast analüüsi lõppu.
- Pühendage pipettide ja reagentide komplekt ainult proovi ettevalmistamiseks.
- Kandke puhas laborikilt ja kindaid. Iga proovi käsitlemise vahel vahetage kindaid.
- Proovi või kontrollide lekkimise korral kandke kindaid ja absorbeerige leke paberrätikutega. Seejärel puhastage saastunud ala põhjalikult värskest valmistatud majapidamises kasutatava kloorvalgendi 1:10 lahjendusega. Lõplik aktiivkloori kontsentratsioon peab olema 0,5%, sõltumata teie riigis saadaoleva kloorvalgendi kontsentratsioonist. Kokkupuuteaeg peab olema vähemalt kaks minutit.
- Veenduge, et tööpiirkond oleks kuiv, enne kui kasutate valgendi jäägi eemaldamiseks 70% denatureeritud etanooli. Enne jätkamist laske pindadel kuivada. Teise võimalusena järgige oma asutuse tavapäraseid saastumis- või lekkejuhtumite standardprotseduure. Seadmete puhul järgige tootja soovitusi saastest puhastamiseks.

## 10 Keemilised ohud

**Märkus** All olev teave kehtib kogu toote kohta, mis sisaldab proteinaas K-d, lüüsi-, pesu- ja loputusreagente.

- CLP/GHS ohupiktogramm: 
- Märksõna: DANGER (OHTLIK)
- **UN GHS ohulaused**
  - Väga tuleohtlik vedelik ja aur H225.
  - Põhjustab nahaärritust H315.
  - Põhjustab tugevat silmade ärritust H319.
  - Võib põhjustada unisust või peapööritust H336.
  - Arvatavasti põhjustab geneetilisi defekte H341.
- **UN GHS hoiatuslaused**
  - **Ennetamine**
    - Enne kasutamist lugege erijuhiseid ohutuskaardilt.
    - Enne kasutamist tutvuda erijuhistega.
    - Mitte käidelda enne ohutusnõuetega tutvumist ja nendest arusaamist.
    - Hoida eemal kuumusest, sädemetest, lahtisest tulest ja/või kuumadest pindadest. Mitte suitsetada.
    - Hoida pakend tihedalt suletuna.
    - Vältige aine udu/aurude/pihustite sissehingamist.
    - Pärast käitlemist pesta hoolega.
    - Käidelda üksnes välitingimustes või hästi ventileeritavas kohas.
    - Kanda kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.
    - Kasutada vajalikke isikukaitsevahendeid.
  - **Reaktsioon**
    - TULEKAHJU korral. Kasutada sobivat kustutusvahendit.
    - SISSEHINGAMISE KORRAL: Toimetada kannatanu värske õhu kätte ja asetada mugavasse puhkeasendisse, mis võimaldab kergesti hingata.
    - Halva enesetunde korral võtta ühendust MÜRGISTUSTEABEKESKUSE või arstiga.
    - NAHALE (või juustele) SATTUMISE KORRAL: Võtta saastunud rõivad kohe seljast. Loputada nahka veega/ loputada duši all.
    - Nõuab eriravi, vt täiendavat esmaabiteavet.
    - Võtta saastunud rõivad seljast ja pesta neid enne järgmist kasutamist.
    - Nahaärrituse korral: Pöörduda arsti poole.
    - SILMA SATTUMISE KORRAL: Loputada mitme minuti jooksul ettevaatlikult veega. Eemaldada kontaktläätsed, kui neid kasutatakse ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veel kord.
    - Kui silmade ärritus ei möödu. Pöörduda arsti poole.
    - Kokkupuute või kokkupuutekahtluse korral. Pöörduda arsti poole.
  - **Hoiustamine/kõrvaldamine**

- Hoida jahedas.
- Hoida hästi ventileeritavas kohas.
- Hoida pakend tihedalt suletuna.
- Hoida lukustatult.
- Kõrvaldage sisu ja/või mahuti vastavalt kohalikele, piirkondlikele, riiklikele ja/või rahvusvahelistele määrustele.

## 11 Proovide kogumine ja hoiustamine

- Perifeerse vere proovid tuleb koguda EDTA katsutitesse, järgides teie asutuse juhiseid. Plasmat ei tohi rakkudest eraldada.
- Proove tuleb enne testimist hoida temperatuuril 2 °C kuni 8 °C mitte kauem kui 3 päeva (72 tundi).
- Proovide nõuetekohane kogumine ja hoiustamine on analüüsi toimimiseks kriitilise tähtsusega. Proovi stabiilsust muudes kui allpool Jaotis 12, Protseduur soovitatud hoiustamise tingimustes ei ole testiga Xpert NPM1 Mutation hinnatud.

## 12 Protseduur

### 12.1 Enne alustamist

Kakskümmend (20) minutit enne protseduuri alustamist eemaldage külmkapist vereproov, proovi ettevalmistamise reagentid ja kassetid, et lasta neil toatemperatuurini soojeneda. Tsentrifugeerige proteinaas K (PK) mikrotsentrifuugis korra alla.

---

**Tähtis** Alustage analüüsi 1 tunni jooksul pärast proovireagentidega töödeldud proovi kassetti lisamist.

---

**Tähtis** Enne proovi ettevalmistamist eemaldage kassett kartongpakendist. (Vt Jaotis 12.3, Kasseti ettevalmistamine).

---

### 12.2 Proovi ettevalmistamine

#### 12.2.1 Proovi ettevalmistamine teadmata valgete vereliblede (WBC) arvuga või proovide ettevalmistamine, mille sisaldus on alla 30 miljoni WBC/ml

1. Lisage uue märgistatud 50 ml koonilise katsuti põhja 100 µl proteinaas K-d (PK).
2. Veenduge, et vereproov on hästi segunenud, pöörates verevõtukatsutit vahetult enne pipeteerimist 8 korda ümber. Vt EDTA verevõtukatsuti tootja juhiseid.
3. Lisage juba PK-d sisaldavasse katsutisse 4 ml vereproovi.
4. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 3 sekundit.
5. Inkubeerige toatemperatuuril 1 minut.
6. Lisage samasse katsutisse 2,5 ml lüüsiireagenti (LY).

---

**Märkus** Hoidke allesjäänud lüüsiireagent alles, et seda sammus 13 uuesti kasutada.

---

7. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit.
8. Inkubeerige toatemperatuuril 5 minutit.
9. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit.
10. Inkubeerige toatemperatuuril 5 minutit.
11. Segage proov, koputades 10 korda katsuti põhja.
12. Kandke 1 ml valmistatud lüüsiireagenti uude märgistatud 50 ml koonilisse katsutisse.

---

**Märkus** Ülejäänud lüüsiireagent võib hoida temperatuuril 2–8 °C kuni 48 tundi või temperatuuril -20 °C või madalamal kuni 1 kuu.

---

13. Lisage uude lüüsiireagenti sisaldavasse koonilisse tuubi 1,5 ml sammus 6 allesjäänud LY-d.
14. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit.
15. Inkubeerige toatemperatuuril 10 minutit.
16. Lisage samasse koonilisse katsutisse 2 ml reagenti klassi absoluutset etanooli (kasutaja peab ise hankima).



17. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit. Pange kõrvale.
18. Visake ära kõik järelejäänud PK või LY reagentid.

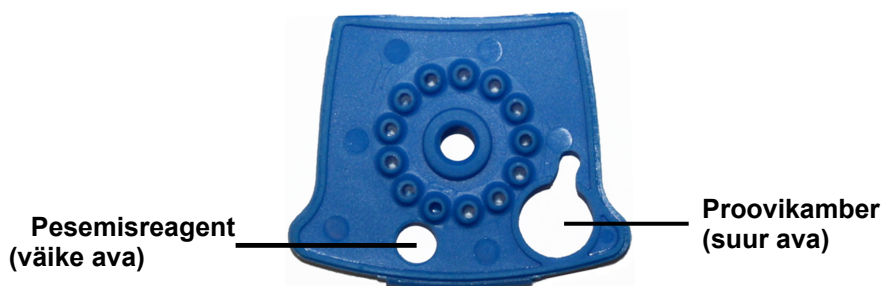
### 12.2.2 Proovi ettevalmistamine leukotsüütide arvuga 30 miljonit WBC/ml või rohkem

1. Lisage uue 50 ml koonilise katsuti põhja 100 µl PK-d.
2. Veenduge, et vereproov on hästi segunenud, pöörates verevõtukatsutit vahetult enne pipeteerimist 8 korda ümber. Vt EDTA verevõtukatsuti tootja juhiseid.
3. PK-d juba sisaldavasse katsutisse lisage 250 µl vereproovi ja 3,75 ml 1xPBS-i (pH 7,4, tarnib kasutaja).
4. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 3 sekundit.
5. Inkubeerige toatemperatuuril 1 minut.
6. Lõpliku lüsaadi valmistamiseks järgige samme 6–17 Jaotis 12.2.1-s.
7. Visake ära kõik järelejäänud PK või LY reagentid.

## 12.3 Kasseti ettevalmistamine

Proovi lisamiseks Xpert NPM1 Mutation kasseti tehke järgmist.

1. Eemaldage kassett kartongpakendist.
2. Kontrollige kasseti kahjustuste suhtes. Kui kassett on kahjustatud, ärge seda kasutage.
3. Avage kassett, tõstes kasseti kaas üles ja kandke kogu ühe (1) pesureagendi ampulli sisu pesureagendi kambrisse (väikese avaga). Vt Joonis 1.
4. Pipeteerige kogu ettevalmistatud proovi sisu (4,5 ml) proovikambrisse (suur ava). Vt Joonis 1.



Joonis 1. Xpert NPM1 Mutation Kassett (vaade ülalt)

5. Sulgege kasseti kaas. Veenduge, et kaas sulgub kindlalt, klõpsatuse saatel. Käivitage analüüs (vt Jaotis 12.4, Analüüsi käivitamine).

## 12.4 Analüüsi alustamine

**Tähtis** Enne analüüsi alustamist veenduge, et süsteemis töötab GeneXpert Dx tarkvaraversioon 6.2 või uuem ja et tarkvarasse on imporditud õige analüüsi definitsioonifail. Selles jaotises on loetletud vaikumisi läbitavad etapid süsteemi GeneXpert Dx System käitamisel.

**Märkus** Järgitavad sammud võivad siin toodetest erineda, kui süsteemid administraator on süsteemi vaiketöövoogu muutnud.

1. Lülitage süsteem GeneXpert sisse, lülitades esmalt sisse instrumendi GeneXpert Dx ja seejärel arvuti. GeneXpert Dx tarkvara käivitub automaatselt; kui ei käivitu, topeltklõpsake GeneXpert Dx tarkvara otsetee ikooni Windowsi® töölaual.
2. Logige oma kasutajanime ja parooli abil sisse GeneXpert tarkvarasse.
3. **Süsteemi GeneXpert** aknas klõpsake käsku **Testi loomine (Create Test)** (GeneXpert Dx). Avaneb aken **Testi loomine (Create Test)**
4. Skannige või sisestage patsiendi ID (Patient ID). Kui tipite Patsiendi ID (Patient ID) sisse, veenduge, et Patsiendi ID (Patient ID) on sisestatud õigesti. Patsiendi ID (Patient ID) on seotud testi tulemustega ning seda kasutatakse aknas **Tulemuste vaatamine (View Results)**. Avaneb dialoogiboks **Skanni proovi ID võotkoodi (Scan Sample ID barcode)**.
5. Skannige või tippige sisse Proovi ID (Sample ID). Kui tipite Proovi ID (Sample ID) sisse, veenduge, et Proovi ID (Sample ID) on sisestatud õigesti. Proovi ID (Sample ID) kuvatakse akna **Tulemuste vaatamine (View Results)**

vasakul poolel ja kõikidel aruannetel. Avaneb dialoogiboks **Skanni kasseti vötkoodi (Scan Cartridge Barcode)**.

6. Skannige Xpert NPM1 Mutation kasseti vötkoodi. Vötkoodi teabe abil täidab tarkvara automaatselt järgmiste väljade ruudud: Reagenti partii ID (Reagent Lot ID), Kasseti SN (Cartridge SN) ja Aegumiskuupäev (Expiration Date).

**Märkus**

Kui Xpert NPM1 Mutation kasseti vötkoodi ei saa skannida, korra analüüsi uue kassetiga. Kui olete skanninud kasseti vötkoodi tarkvaras ja analüüsi definitsioonifaili pole saadaval, ilmub kuva teatega, et analüüsi definitsioonifaili pole süsteemi laaditud. Sellise kuva ilmumisel võtke ühendust Cepheidi tehnilise toega.

7. Klõpsake **Testi käivitamine (Start Test)**. Võimalik, et peate ilmuvasse dialoogiboksi sisestama oma parooli.
8. Avage vilkuv roheline tulega instrumendimooduli luuk ja laadige kassett.
9. Sulgege luuk. Test käivitub ja roheline tuli ei vilgu enam. Kui analüüs on lõppenud, lülitub tuli välja.
10. Enne mooduli luugi avamist ja kasseti eemaldamist oodake, kuni süsteem avab luugi lukust.
11. Kõrvaldage kasutatud kassetid ettenähtud proovide jäätmekonteineritesse vastavalt asutuse tavapraktikale.

**Märkus**

Aeg tulemuseni on vähem kui 3 tundi (ligikaudu 30 minutit välist proovi ettevalmistamist ja vähem kui 2,5 tundi analüüsi käitamise aega).

## 13 Tulemuste vaatamine ja printimine

Selles jaotises on loetletud tulemuste vaatamise ja printimise põhisammud. Üksikasjalikke juhiseid tulemuste vaatamise ja printimise kohta vt väljaandest *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Tulemuste vaatamiseks klõpsake ikooni **Tulemuste vaatamine (View Results)**
- Pärast analüüsi lõpuleviimist klõpsake ekraanil **Tulemuste vaatamine (View Results)** nuppu **Aruanne (Report)**, et kuvada ja/või genereerida aruande PDF-faili.

## 14 Kvaliteedikontroll

Iga kassett sisaldab ABL1 endogeenset kontrolli ja sondikontrolli kontrolli (PCC).

**ABL1 endogeenne kontroll** — ABL1 endogeenne kontroll kontrollib, et analüüsiga on kasutatud piisavalt proovi. Lisaks tuvastab see kontroll prooviga seotud reaalaja PCR-analüüsi inhibitsiooni. ABL1 kinnitab nõuetekohasust, kui määratud vastuvõtukriteeriumid on täidetud.

**Sondikontrolli kontroll (Probe Check Control (PCC))** - Enne PCR-reaktsiooni algust mõõdab GeneXpert süsteem sondide fluorestsentssignaali, et jälgida kuulikeste rehüdratsiooni, reaktsioonikatsuti täitumist ja seda, kas kõik reaktsioonikomponendid on kassetis töökorras. PCC kinnitab nõuetekohasust, kui määratud vastuvõtukriteeriumid on täidetud.

## 15 Tulemuste tõlgendamine

Süsteem GeneXpert tõlgendab tulemusi mõõdetud fluorestsentssignaalide järgi automaatselt, kasutades süsteemiseseid arvutusalgortime, ja näitab neid aknas Tulemuste vaatamine (View Results). Võimalikke tulemusi ja tõlgendusi vt Tabel 1-s.

Tabel 1. Xpert NPM1 Mutation Testi tulemused ja nende tõlgendamine

Tulemus	Tõlgendamine
<b>NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED)</b> Vt Joonis 2, Joonis 3, Joonis 4	Tuvastati NPM1 mutatsiooni transkript. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (NPM1 Mutation DETECTED) – NPM1 mutatsiooni transkript tuvastati, selle tsükliävi (Ct) on kehtivas vahemikus ja lõpp-punkt ületab seatud läve.</li> <li>Võimalikud tuvastatud tulemused:               <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [#.###%]; Joonis 2.</li> <li>NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [üle ülemise LoQ-i]; Joonis 3.</li> <li>NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [alla LoD-i; &lt;#.###%]; Joonis 4.</li> </ul> </li> <li>ABL LÄBITUD (PASS) – ABL transkript tuvastati, selle tsükliävi (Ct) on kehtivas vahemikus ja lõpp-punktis seatud lävest kõrgem.</li> <li>Sondikontroll LÄBITUD (PASS) – kõik sondikontrolli tulemused on nõuetekohased.</li> </ul>
<b>NPM1 mutatsiooni EI TUVASTATUD (NOT DETECTED)</b> Vt Joonis 5	NPM1 mutatsiooni transkripti ei tuvastatud. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutatsiooni EI TUVASTATUD (NOT DETECTED) [Piisav ABL transkript] – NPM1 mutatsiooni transkripti ei tuvastatud ja selle tsükli ävi (Ct) on null või kõrgem kehtiva vahemiku ülemisest otsast ja/või lõpp-punkt on seatud lävest madalam.</li> <li>ABL LÄBITUD (PASS) – ABL transkript tuvastati, selle tsükliävi (Ct) on kehtivas vahemikus ja lõpp-punktis seatud lävest kõrgem.</li> <li>Sondikontroll LÄBITUD (PASS) – kõik sondikontrolli tulemused on nõuetekohased.</li> </ul>
<b>KEHTETU (INVALID)</b> Vt Joonis 6, Joonis 7, Joonis 8, Joonis 9, Joonis 10	NPM1 mutatsiooni transkripti taset ei saa määrata, kuna proov sisaldab liigset NPM1 mutatsiooni transkripti ja/või liigset või ebapiisavat ABL transkripti. Vt Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend, täiendavate juhiste saamiseks proovi uuesti testimiseks. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutatsioon KEHTETU (INVALID) – NPM1 tsükli ävi (Ct) oli üle nulli ja allpool kehtiva vahemiku alumist piiri (Joonis 8, Joonis 9)</li> <li>ABL NURJUNUD (FAIL) – ABL tsükliävi (Ct) ei olnud kehtivas vahemikus ja lõpp-punkt oli seatud lävest madalam (Joonis 6, Joonis 7, Joonis 8, Joonis 10)</li> <li>Sondikontroll – LÄBITUD (PASS); kõik sondikontrolli tulemused on nõuetekohased.</li> </ul>
<b>VIGA (ERROR)</b> Vt Joonis 11	NPM1 mutatsiooni transkripti taset ei saa määrata. Vt Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend, täiendavate juhiste saamiseks proovi uuesti testimiseks. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutatsioon TULEMUS PUUDUB (NO RESULT)</li> <li>ABL TULEMUS PUUDUB (NO RESULT)</li> <li>Sondikontroll NURJUNUD (FAIL) – kõik sondikontrolli tulemused või üks neist on nurjunud.</li> <li>Sondikontroll LÄBITUD (PASS) või ei kohaldu (NA (not applicable)) ja rõhu katkemine (Pressure Abort)*.</li> </ul> <p>*Kui sondikontroll läbib, põhjustas vea lubatud vahemikku ületav maksimumrõhu piir või süsteemikomponendi rike.</p>
<b>TULEMUS PUUDUB (NO RESULT)</b>	NPM1 mutatsiooni transkripti taset ei saa määrata. Kogutud andmete hulk oli analüüsi tulemuse saamiseks ebapiisav. See võib näiteks juhtuda, kui operaator poolelioleva analüüsi peatab. Vt Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend, täiendavate juhiste saamiseks proovide uuesti testimiseks. <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1 mutatsioon TULEMUS PUUDUB (NO RESULT)</li> <li>ABL TULEMUS PUUDUB (NO RESULT)</li> <li>Sondikontroll ei kohaldu (NA (not applicable))</li> </ul>

## 16 Kvantitatiivsed tulemused

Xpert NPM1 Mutation kvantitatiivsed väljundid on esitatud NPM1 mutatsiooni/ABL1 protsentuaalse suhtena. Komplektidele on määratud partiipõhised efektiivsuse ( $E_{\Delta Ct}$ ) ja skaleerimisteguri (SF) väärtused, mis seovad NPM1 mutatsiooni (A, B ja D) ja ABL1 transkriptide kvantifitseerimise sünteetilise NPM1 mutatsiooni ja ABL1 *in vitro* transkribeeritud RNA (IVT-RNA) primaarsete standardite kopeerimisega.

Tabel 2. Näited testi Xpert NPM1 Mutation tulemustest

Analüüs	NPM1 mutant		ABL		Xpert NPM1 Mutation Testi tulemused	Märkused
	Ct	Tulemus <sup>a</sup>	Ct	Tulemus <sup>a</sup>		
1	5,2	KEHTETU (INVALID)	5,8	NURJUS (FAIL)	KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge NPM1 mutatsioon ja ABL transkriptid]	–
2	9	KEHTETU (INVALID)	5,5	NURJUS (FAIL)	KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrged ABL transkriptid]	–
3	5,5	KEHTETU (INVALID)	8,5	LÄBITUD (PASS)	KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrged NPM1 mutatsiooni transkriptid]	–
4	25,0	KEHTETU (INVALID)	21,8	NURJUS (FAIL)	KEHTETU (INVALID) [Ebapiisav ABL-i transkript]	–
5	0	KEHTETU (INVALID)	0	NURJUS (FAIL)	KEHTETU (INVALID) [ABL-i transkript puudub]	–
6	8,5	POS	13,6	LÄBITUD (PASS)	NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [üle ülemise LoQ-i]	–
7	22,5	POS	14,8	LÄBITUD (PASS)	NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [1,05%]	Teatatud väärtus: 1,05%
8	27,9	POS	14,0	LÄBITUD (PASS)	NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [alla LoD-i; <0,030%]	–
9	0	NEG	14,6	LÄBITUD (PASS)	NEGATIIVNE (NEGATIVE) [Piisav ABL-i transkript]	–
10	0	TULEMUS PUUDUB (NO RESULT)	0	TULEMUS PUUDUB (NO RESULT)	VIGA (ERROR)	Näiteks, Viga 5017 [ABL] sondikontroll ebaõnnestus ([ABL] probe check failed)

<sup>a</sup> Täpsemat teavet leiata GeneXpert Dx süsteemitarvara vahekaardilt Analüüdi tulemused (Analyte Results).

## 16.1 NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [#.#%]

NPM1 mutatsioon on tuvastatud #.#% tasemel.

Tulemuse „**NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [#.#%]**“ korral on NPM1 mutatsioon tuvastatav, kui NPM1 mutatsiooni Ct on suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "32" ja ABL Ct on suurem kui "6" või sellega võrdne ja väiksem kui 20 või sellega võrdne. Tarkvara GeneXpert arvutab %, kasutades järgmist võrrandit, kus Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) väärtus saadakse ABL Ct miinus NPM1 mutatsiooni Ct:

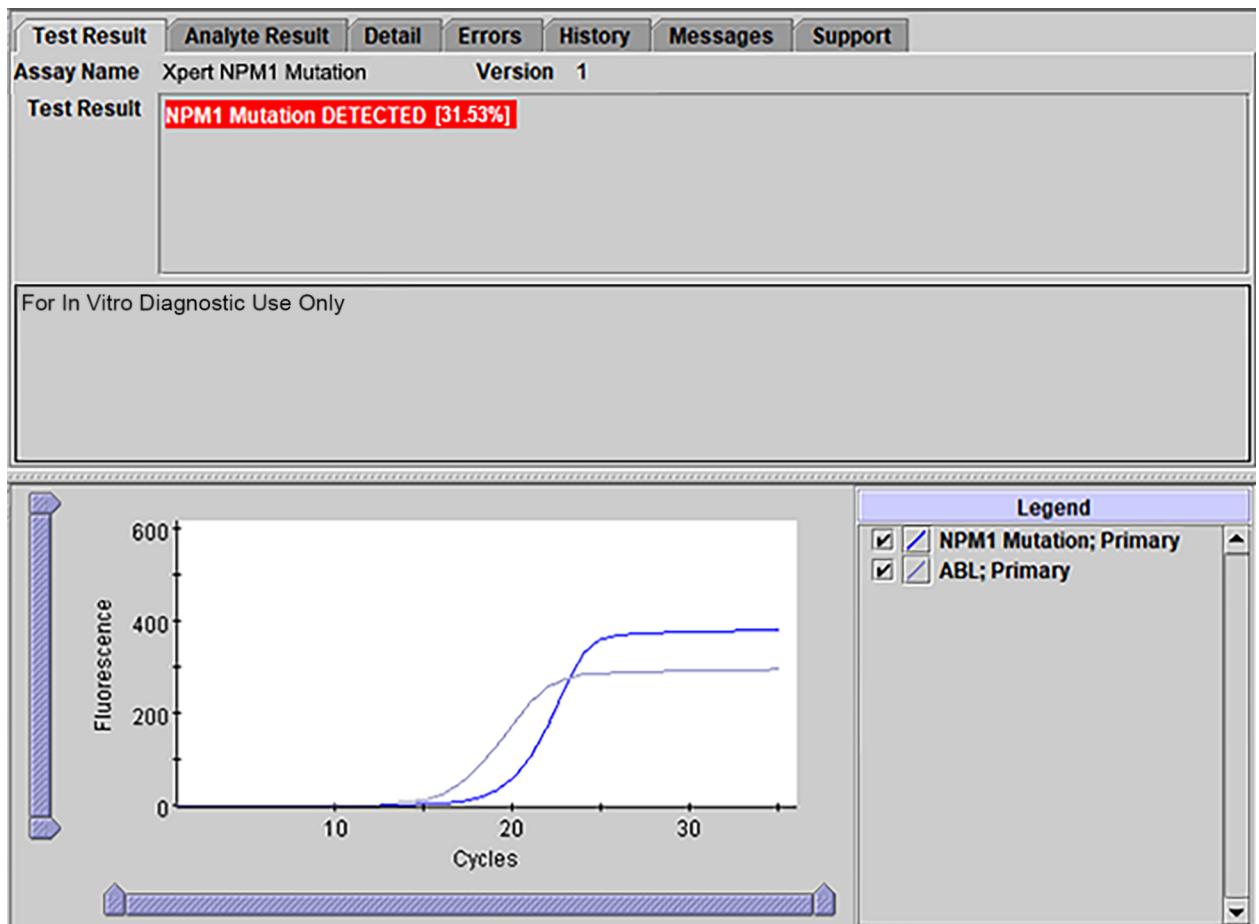
$$\% = E_{\Delta Ct}^{\Delta Ct} \times 100 \times \text{skaleerimistegur}$$

### Märkus

Skaleerimistegur (SF) on partiispetsiifiline parameeter, mis sisaldub analüüsikasseti võõtkoodis. Selle teguri väärtus ja partiispetsiifiline analüüsi efektiivsus ( $E_{\Delta Ct}$ ) määratakse iga analüüsipartii kvaliteedikontrolli testimisel, kasutades esmaseid standardeid, mis on kalibreeritud sünteetilise NPM1 mutatsiooni ja ABL1 *in vitro* transkribeeritud RNA (IVT-RNA) kalibraatorite NPM1 mutatsiooni transkripti kvantifitseerimiseks koopiaarvude järgi. Siin näidatud näite puhul on  $E_{\Delta Ct}$  väärtuseks 1,95 ja SF väärtuseks 1,79.

**Näide:** Partii spetsiifiline  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Analüüsi ABL Ct = 14,5; NPM1 mutatsiooni Ct = 17,1;  $\Delta Ct = -2,6$   
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

**Tulemus:** **NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [31.53%]** Vt Joonis 2.



**Joonis 2. GeneXpert Dx aken Tulemuste vaatamine.  
 NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [31.53%]**

## 16.2 NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [üle ülemise LoQ-i]

NPM1 mutatsioon on tuvastatud > 500% tasemel.

Tulemuse „**NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [üle ülemise LoQ-i]**“ korral on NPM1 mutatsioon tuvastatav, kui NPM1 mutatsiooni Ct on suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "32" ja ABL Ct on suurem kui "6" või sellega võrdne ja väiksem kui "20" või sellega võrdne. Tarkvara GeneXpert arvutab %, kasutades järgmist võrrandit, kus Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) väärtus saadakse ABL Ct miinus NPM1 mutatsiooni Ct:

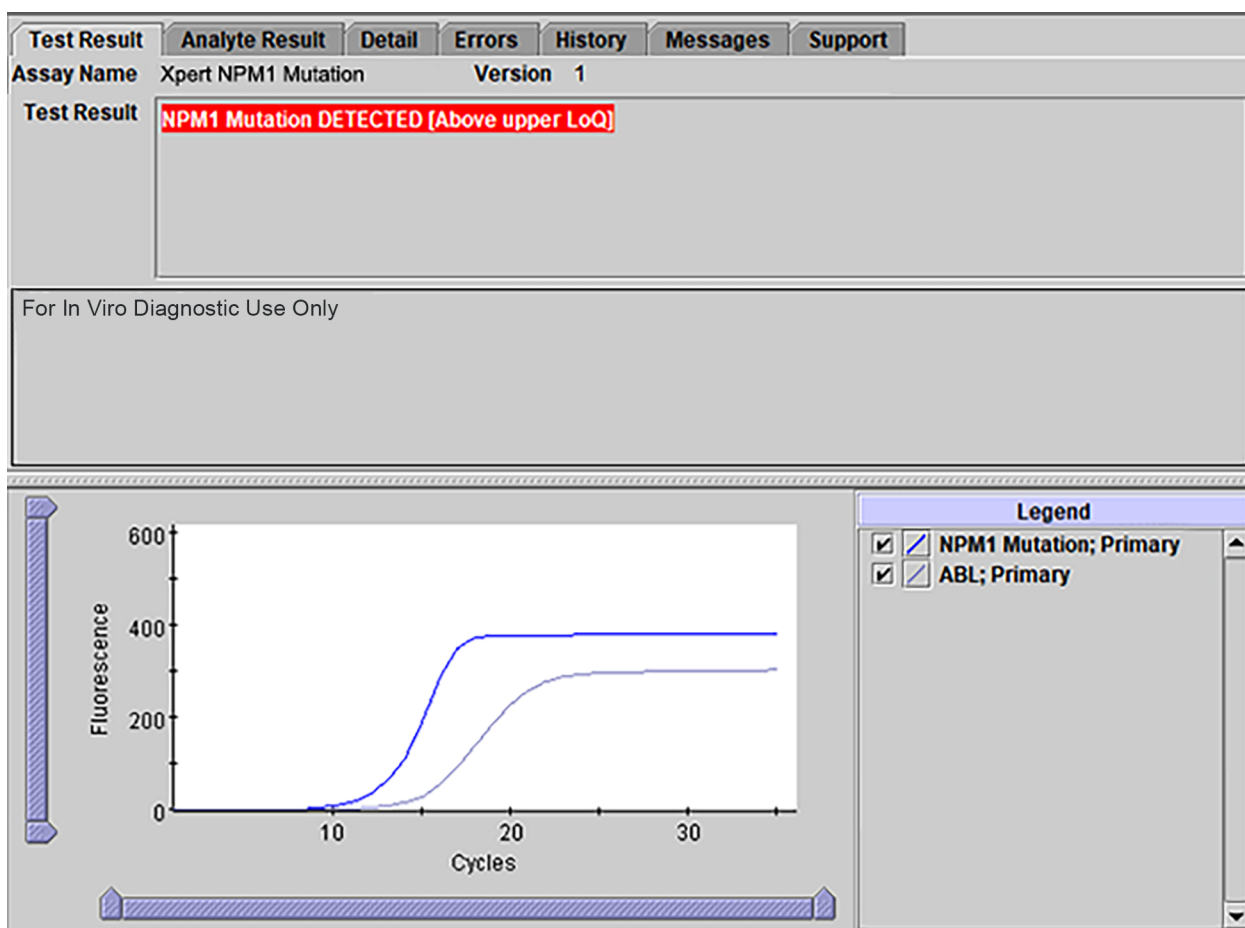
$$\% = E_{\Delta Ct}^{\Delta Ct} \times 100 \times \text{skaleerimistegur (SF)}$$

### Märkus

Skaleerimistegur (SF) on partiispetsiifiline parameeter, mis sisaldub analüüsikasseti vöötkoodis. Selle teguri väärtus ja partiispetsiifiline analüüsi efektiivsus ( $E_{\Delta Ct}$ ) määratakse iga analüüsipartii kvaliteedikontrolli testimisel, kasutades esmaseid standardeid, mis on kalibreeritud sünteetilise NPM1 mutatsiooni ja ABL1 *in vitro* transkribeeritud RNA (IVT-RNA) kalibraatorite NPM1 mutatsiooni transkripti kvantifitseerimiseks koopiaarvude järgi. Siin näidatud näite puhul on  $E_{\Delta Ct}$  väärtuseks 1,95 ja SF väärtuseks 1,79.

**Näide:** Partii spetsiifiline  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Analüüsi ABL Ct = 13,4; NPM1 mutatsiooni Ct = 10,2;  $\Delta Ct = 3,2$   
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$  on suurem kui määratletud testi ülemine LoQ 500% juures

**Tulemus:** NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [üle ülemise LoQ-i]. Vt Joonis 3.



Joonis 3. GeneXpert Dx aken Tulemuste vaatamine. NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [üle ülemise LoQ-i]

### 16.3 NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [alla LoD-i; <0,030%]

NPM1 mutatsioon on tuvastatud < 0,030%% tasemel.

Tulemuse „**NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [alla LoD-i; <0,030%]**“ korral on NPM1 mutatsioon tuvastatav, kui NPM1 mutatsiooni Ct on suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "32" ja ABL Ct on suurem kui "6" või sellega võrdne ja väiksem kui 20 või sellega võrdne. Tarkvara GeneXpert arvutab %, kasutades järgmist võrrandit, kus Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) väärtus saadakse ABL Ct miinus NPM1 mutatsiooni Ct:

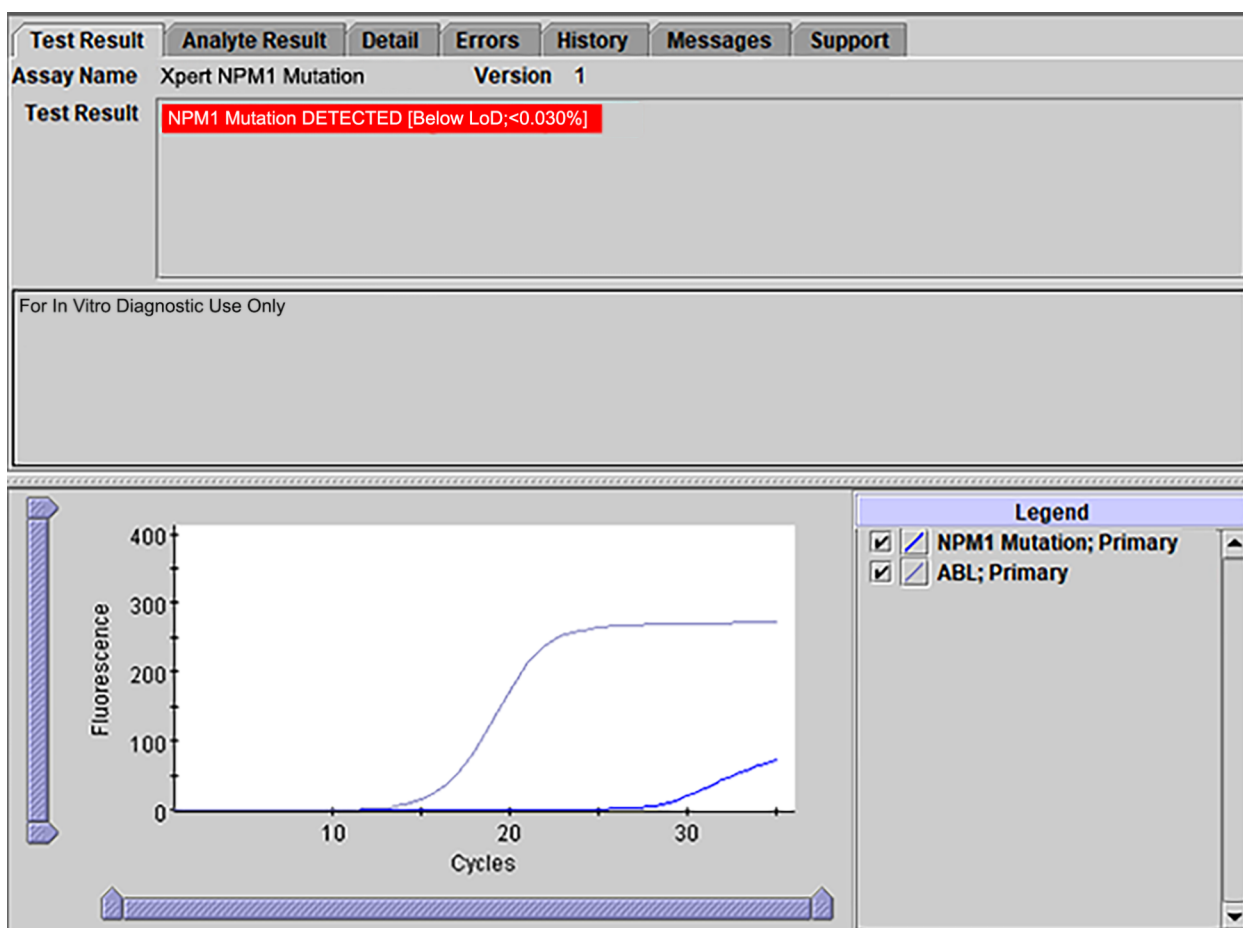
$$\% = E_{\Delta Ct}^{\Delta Ct} \times 100 \times \text{skaleerimistegur (SF)}$$

#### Märkus

Skaleerimistegur (SF) on partiispetsiifiline parameeter, mis sisaldub analüüsikasseti vötkoodis. Selle teguri väärtus ja partiispetsiifiline analüüsi efektiivsus ( $E_{\Delta Ct}$ ) määratakse iga analüüsipartii kvaliteedikontrolli testimisel, kasutades esmaseid standardeid, mis on kalibreeritud sünteetilise NPM1 mutatsiooni ja ABL1 *in vitro* transkribeeritud RNA (IVT-RNA) kalibraatorite NPM1 mutatsiooni transkripti kvantifitseerimiseks koopiaarvude järgi. Siin näidatud näite puhul on  $E_{\Delta Ct}$  väärtuseks 1,95 ja SF väärtuseks 1,79.

**Näide:** Partii spetsiifiline  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Analüüsi ABL Ct = 14,3; NPM1 mutatsiooni Ct = 28,8;  $\Delta Ct = -14,5$   
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$  on väiksem kui määratletud analüüsi LoD 0,030% juures

**Tulemus:** **NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [alla LoD-i; <0,030%]**. Vt Joonis 4.



Joonis 4. GeneXpert tulemuste vaatamise aken: NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [alla LoD-i; <0,030%]

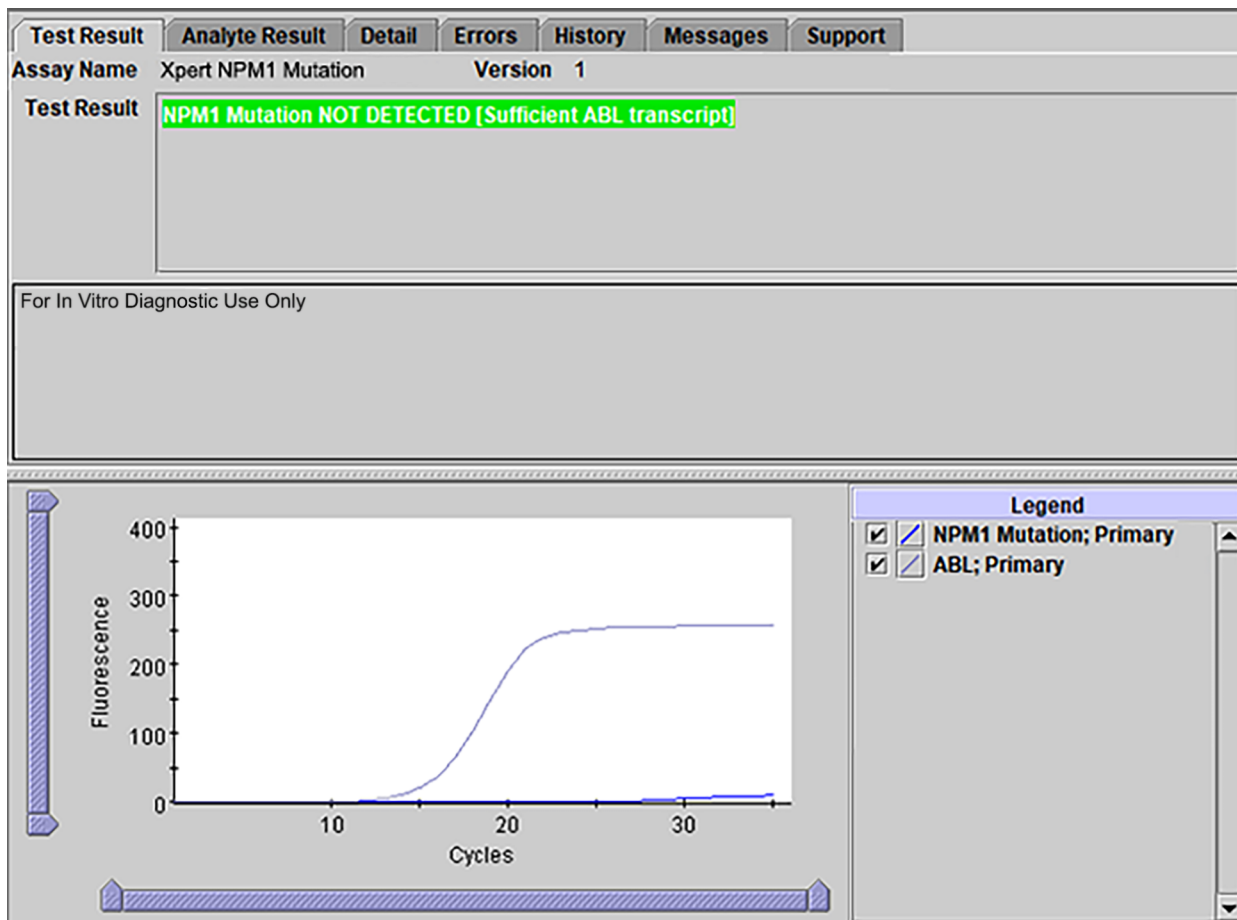
## 16.4 NPM1 mutatsiooni EI TUVASTATUD (NOT DETECTED) [Piisav ABL-i transkript]

NPM1 mutatsiooni ei tuvastatud, kui NPM1 Ct oli võrdne "0" või suurem kui "32" ja ABL Ct oli suurem kui "6" ja väiksem või võrdne "20".

Tarkvara GeneXpert nõuab, et testi jaoks ABL Ct oleks suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "20", et test Xpert NPM1 Mutation tagaks "Piisav ABL-i transkript (Sufficient ABL transcript)". Vt Jaotis 15, tulemuste tõlgendamine, tabel 1.

**Näide:** Analüüsi NPM1 mutatsiooni Ct = 0; ABL Ct = 14,0 on vahemikus "6" kuni "20".

**Tulemus:** **NPM1 mutatsiooni EI TUVASTATUD (NOT DETECTED) [Piisav ABL-i transkript]**. Vt Joonis 5.



Joonis 5. GeneXpert tulemuste vaatamise aken: NPM1 mutatsiooni EI TUVASTATUD (NOT DETECTED) [Piisav ABL-i transkript]



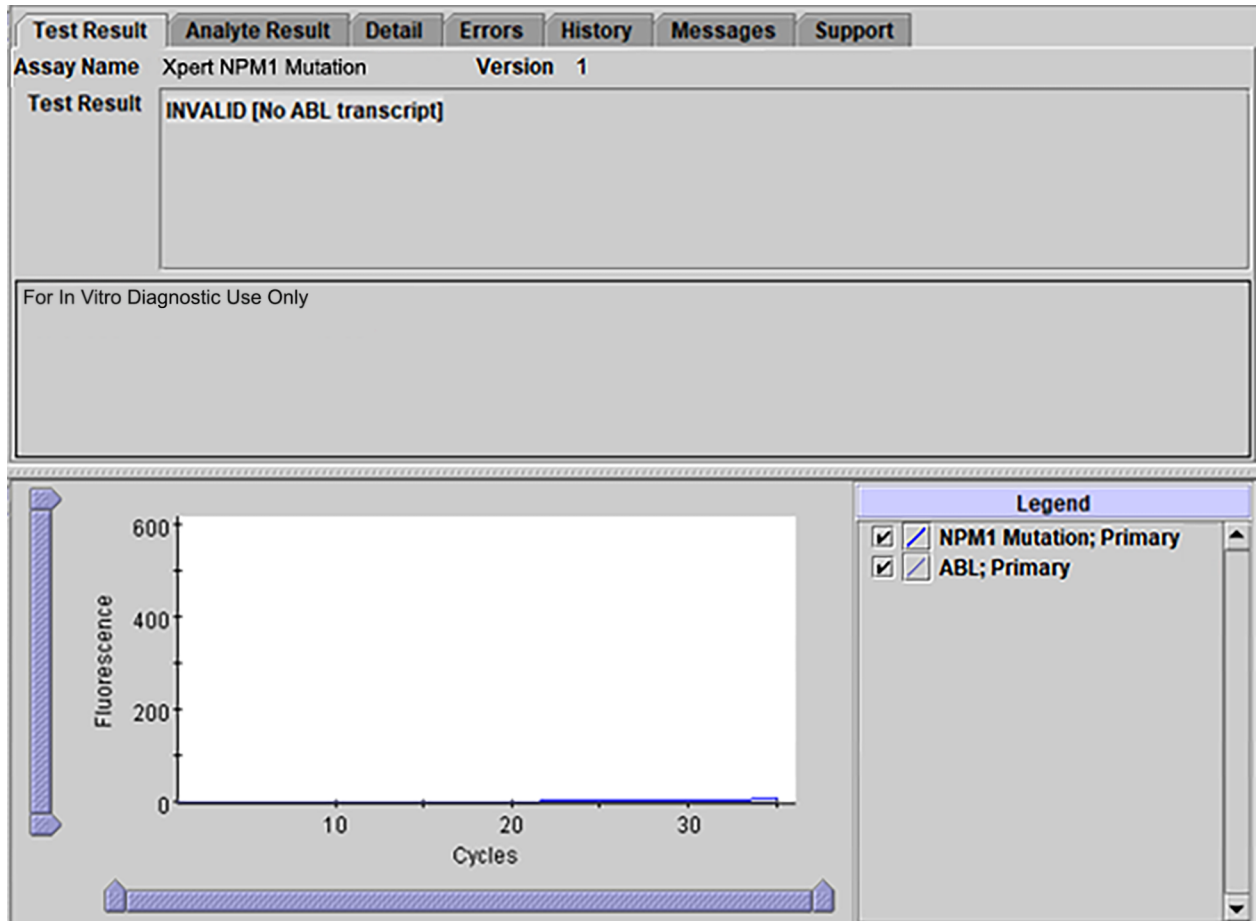
## 16.5 KEHTETU (INVALID) [ABL-i transkript puudub]

NPM1 mutatsioon tuvastati või ei tuvastatud, kui ABL Ct oli võrdne "0".

Tarkvara GeneXpert nõuab, et testi jaoks ABL Ct oleks suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "20", et test Xpert NPM1 Mutation tagaks "Piisav ABL-i transkript (Sufficient ABL transcript)". Vt Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend.

**Näide:** Analüüsi NPM1 mutatsiooni Ct = 0; ABL Ct = 0.

**Tulemus:** **KEHTETU (INVALID) [ABL-i transkript puudub]**. Vt Joonis 6.



Joonis 6. GeneXpert tulemuste vaatamise aken: KEHTETU (INVALID) [ABL-i transkript puudub]

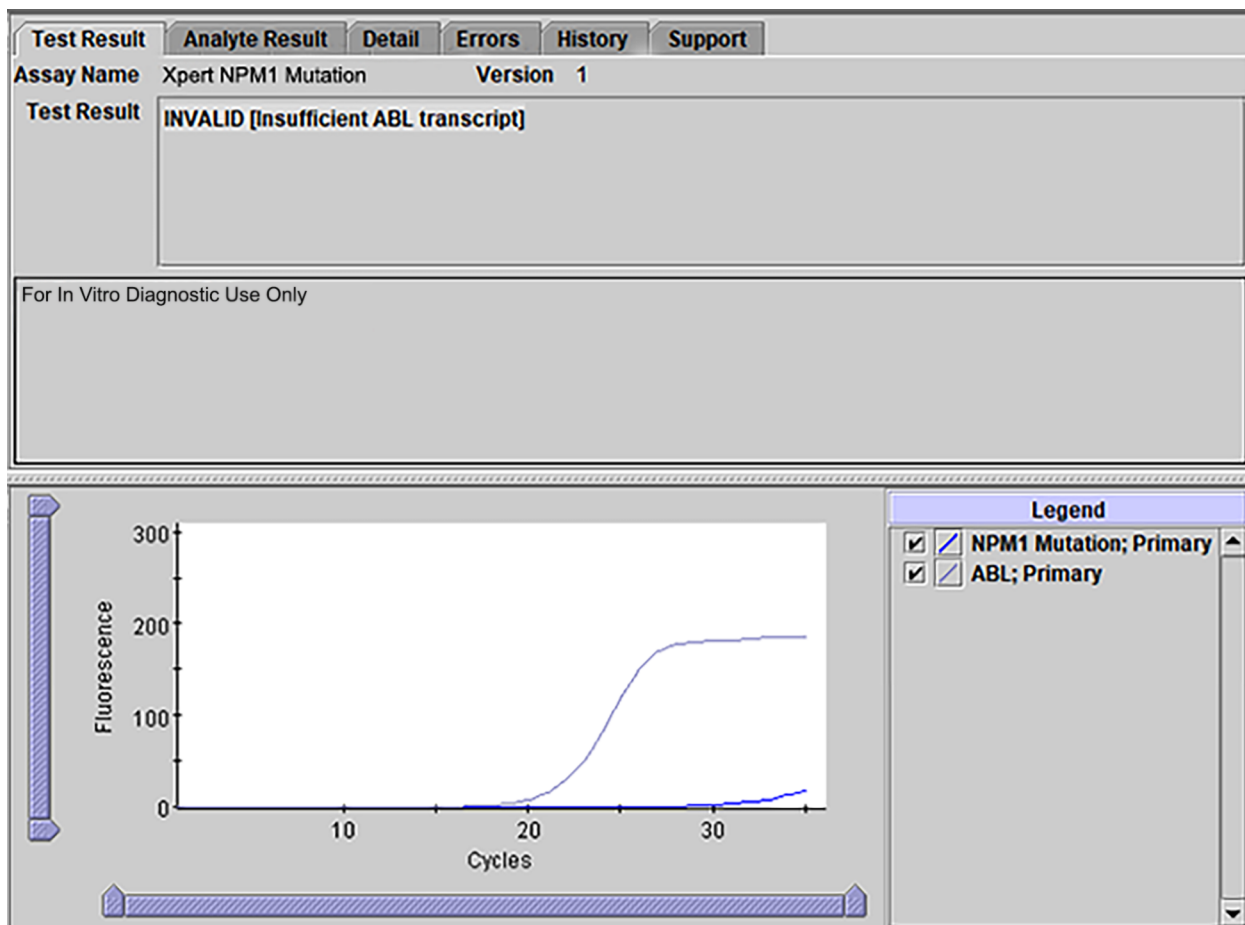
## 16.6 KEHTETU (INVALID) [Ebapiisav ABL-i transkript]

NPM1 mutatsioon tuvastati või ei tuvastatud, kui ABL Ct oli suurem kui "20".

Tarkvara GeneXpert nõuab, et testi jaoks ABL Ct oleks suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "20", et test Xpert NPM1 Mutation tagaks "Piisav ABL-i transkript (Sufficient ABL transcript)". Vt Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend.

**Näide:** Analüüsi NPM1 mutatsiooni Ct = 33,3; ABL Ct = 20,2 on suurem kui "20".

**Tulemus:** **KEHTETU (INVALID) [Ebapiisav ABL-i transkript]**. Vt Joonis 7.



Joonis 7. GeneXpert tulemuste vaatamise aken: KEHTETU (INVALID) [Ebapiisav ABL-i transkript]

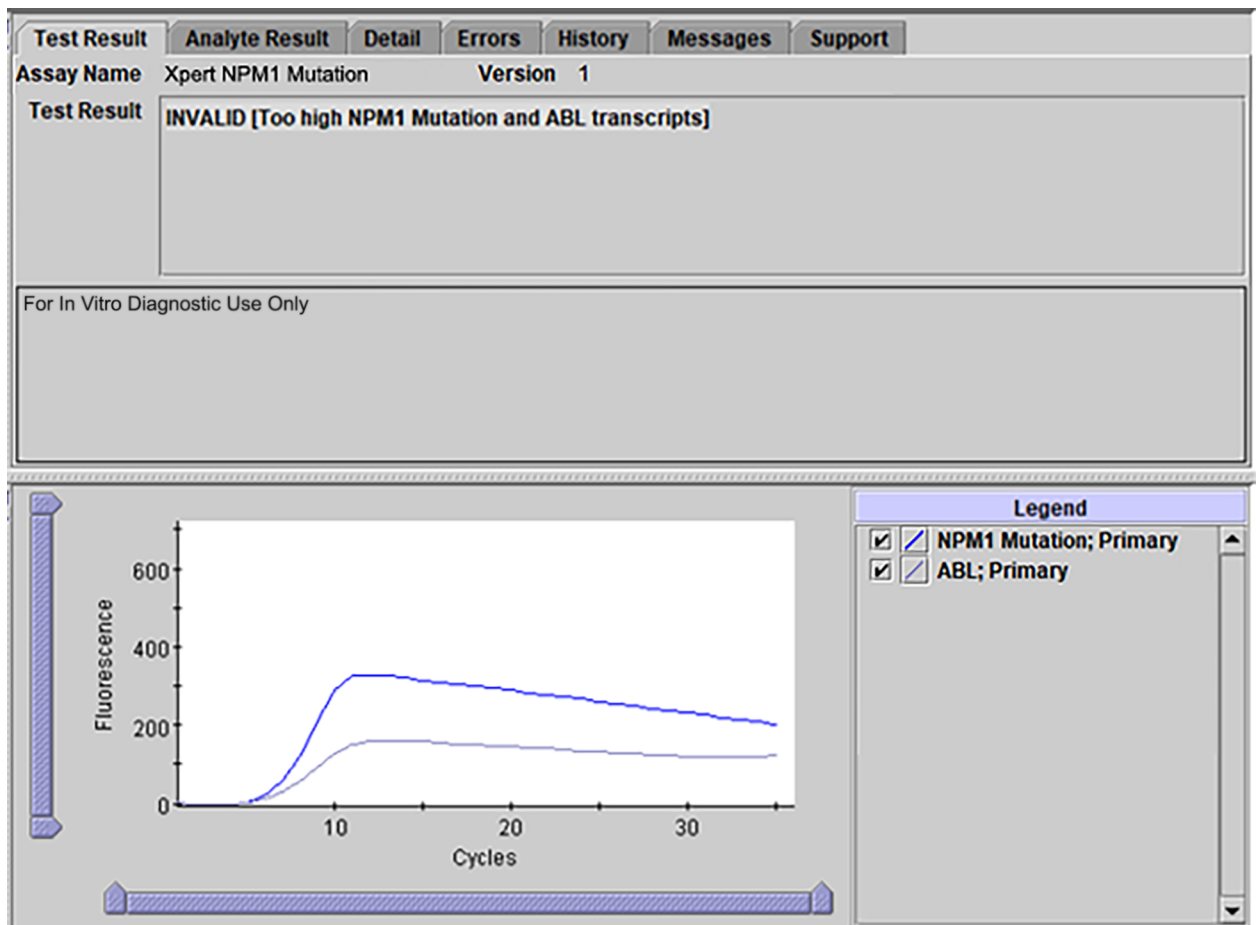
## 16.7 KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge NPM1 mutatsioon ja ABL transkript]

NPM1 mutatsioon tuvastati nii NPM1 mutatsiooni kui ka ABL Ct-de korral, mis olid suuremad kui "0" ja väiksemad kui "6".

Tarkvara GeneXpert nõuab, et testi jaoks ABL Ct oleks suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "20", et test Xpert NPM1 Mutation tagaks "Piisav ABL-i transkript (Sufficient ABL transcript)". Vt Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend.

**Näide:** Analüüsi NPM1 mutatsiooni Ct = 5,4 on suurem kui "0" ja väiksem kui "6"; ABL Ct = 5,9 on väiksem kui "6".

**Tulemus:** **KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge NPM1 mutatsioon ja ABL transkript]**. Vt Joonis 8.



Joonis 8. GeneXpert Dx aken Tulemuste vaatamine. KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge NPM1 mutatsioon ja ABL transkript]

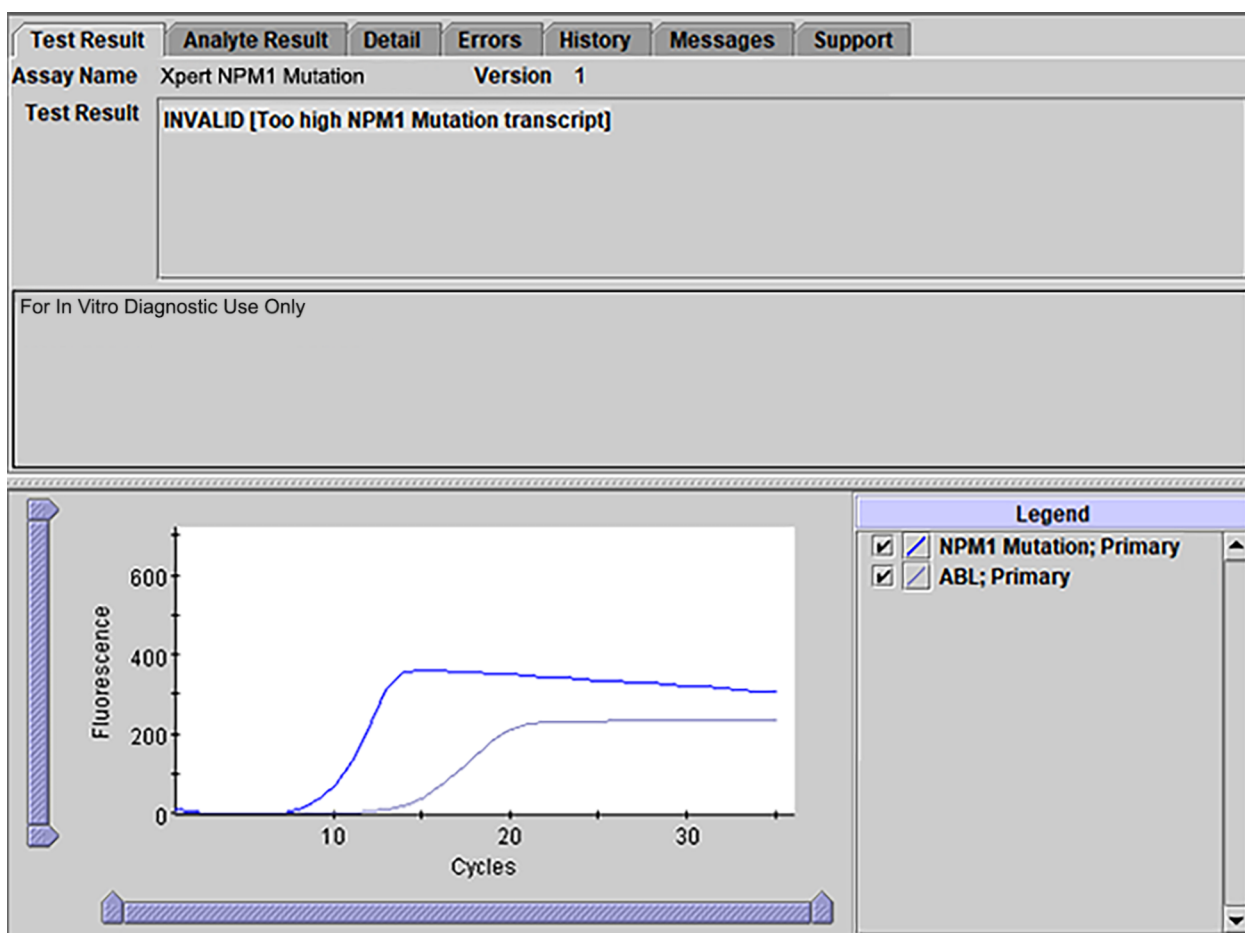
## 16.8 KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge NPM1 mutatsiooni transkript]

NPM1 mutatsioon tuvastati, kui NPM1 mutatsiooni Ct oli suurem kui "0" ja väiksem kui "6" ning ABL Ct oli suurem kui "6" ja väiksem kui "20" või sellega võrdne.

Tarkvara GeneXpert nõuab, et testi jaoks ABL Ct oleks suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "20", et test Xpert NPM1 Mutation tagaks "Piisav ABL-i transkript (Sufficient ABL transcript)". Vt Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend.

**Näide:** Analüüsi NPM1 mutatsiooni Ct = 5,8 on suurem kui "0" ja väiksem kui "6"; ABL Ct = 13 on vahemikus "6" kuni "20".

**Tulemus:** **KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge NPM1 mutatsiooni transkript]**. Vt Joonis 9.



Joonis 9. GeneXpert tulemuste vaatamise aken: KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge NPM1 mutatsiooni transkript]

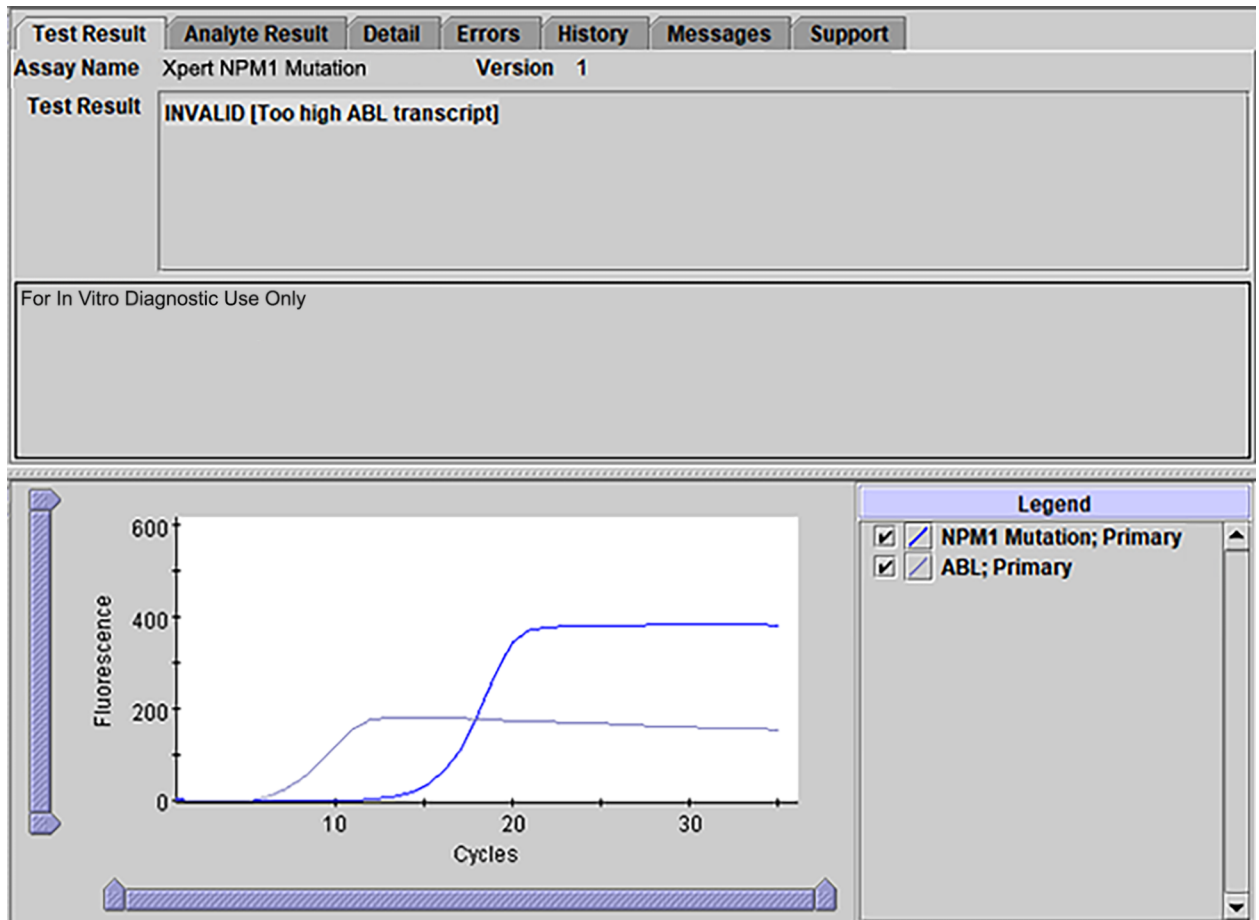
## 16.9 KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge ABL1 mutatsiooni transkript]

NPM1 mutatsioon tuvastati, kui NPM1 mutatsiooni Ct oli suurem kui "6" ja väiksem kui "32" või sellega võrdne ning ABL Ct ei olnud võrdne "0" ja väiksem kui "6".

Tarkvara GeneXpert nõuab, et testi jaoks ABL Ct oleks suurem või võrdne "6" ja väiksem või võrdne "20", et test Xpert NPM1 Mutation tagaks "Piisav ABL-i transkript (Sufficient ABL transcript)". Vt Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend.

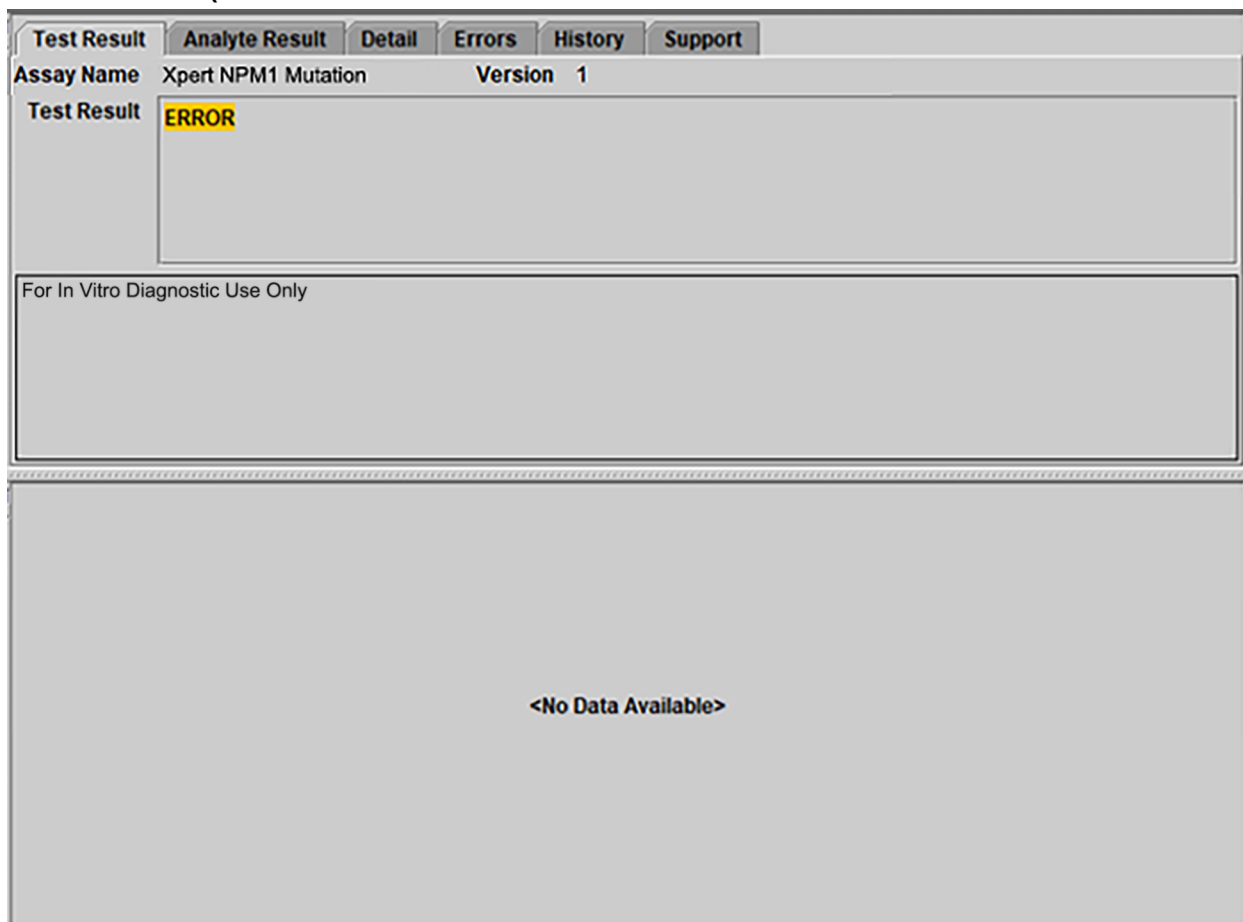
**Näide:** Analüüsi NPM1 mutatsiooni Ct = 13,2; ABL Ct = 5,8 on väiksem kui "6".

**Tulemus:** **KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge ABL transkript]**. Vt Joonis 10.



Joonis 10. GeneXpert tulemuste vaatamise aken: KEHTETU (INVALID) [Liiga kõrge ABL transkript]

## 16.10 VIGA (ERROR)



Joonis 11. GeneXpert tulemuste vaatamise aken: VIGA (ERROR)

## 17 Analüüsi piirangud

- Analüüs ei ole ette nähtud kasutamiseks väliste kalibraatoritega.
- Protseduuride muutmine võib analüüsi toimivust muuta.
- See toode on mõeldud kasutamiseks ainult EDTA katsutitesse kogutud verega.
- Ärge kasutage hepariini antikoagulandina, kuna see võib pärssida PCR reaktsiooni.
- Naatriumsitraadi, trombotsüütide-leukotsüütide kiht ja luuüdi proovide tüübid ei ole valideeritud.
- Proovide ebaõige kogumine, käitlemine, hoiustamine või proovide segunemine võib põhjustada ebaõigeid analüüsitulemusi. Väärade testitulemuste vältimiseks tuleb hoolikalt järgida kasutusjuhendit.
- Mutatsioonid või polümorfismid praimerite või sondide siduvusaladel võivad mõjutada uute või tundmatute variantide tuvastamist ja põhjustada väärtulemusi.
- Liiga kõrge valgete vereliblede arv võib põhjustada kassetis survet ja põhjustada katsete katkemist või ebatäpseid tulemusi.
- Mõned proovid, mille ABL transkripti tase on väga madal või valgete vereliblede sisaldus on alla 150 000 raku/ml, võivad anda tulemuse **KEHTETU (INVALID)** (1. tüüp). Määratlemata tulemus ei välista väga madalat leukeemiliste rakkude sisaldust patsiendil.

# 18 Tõrkeotsingu juhend

Tabel 3. Tõrkeotsingu juhend

Analüüsi tulemus	Võimalikud põhjused	Soovitused
<b>KEHTETU (INVALID)</b>	1. tüüp: endogeense kontroll ABL-i rike: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Halb proovi kvaliteet</li> <li>• RT-PCR inhibitsioon</li> <li>• ABL Ct &gt; 20 ja/või lõpp-punkt &lt; 100</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kontrollige proovi kvaliteeti (nt proovide säilitamisnõue on ületatud, sh aeg ja temperatuur).</li> <li>• Korrake analüüsi originaalprooviga (kui see on saadaval) või allesjäänud lüsaadiga ja uue kassetiga, järgides toimingut, mis on kirjeldatud jaotises Jaotis 19.1 VIGA (ERROR) või KEHTETU (INVALID) (1. tüüp) uuesti testimise protseduur.</li> </ul>
	2. tüüp: NPM1 mutatsiooni transkripti taset ei saa määrata, kuna proov sisaldab liigset NPM1 mutatsiooni ja/või ABL transkripte (Ct < 6)	Korrake testi originaalprooviga (kui see on saadaval) või allesjäänud lüsaadiga ja uue kassetiga, järgides toimingut, mis on kirjeldatud jaotises Jaotis 19.2 VIGA (ERROR) (kood 2008) või KEHTETU (INVALID) (2. tüüp) uuesti testimise protseduur.
<b>VIGA (ERROR)</b> (Kood 2008)	Rõhk ületab piiri (veateade 2008)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kontrollige proovi kvaliteeti</li> <li>• Kontrollige, kas valgete vereliblede arv on oluliselt suurenenud</li> <li>• Korrake testi originaalprooviga (kui see on saadaval) või allesjäänud lüsaadiga ja uue kassetiga, järgides toimingut, mis on kirjeldatud jaotises Jaotis 19.2 VIGA (ERROR) (kood 2008) või KEHTETU (INVALID) (2. tüüp) uuesti testimise protseduur.</li> </ul>
<b>VIGA (ERROR)</b> (Kood 5006, 5007, 5008, ja 5009*)  *See ei ole ammendav VIGA (ERROR) koodide loend.	Sondikontroll nurjus	Korrake analüüsi originaalprooviga (kui see on saadaval) või allesjäänud lüsaadiga ja uue kassetiga, järgides toimingut, mis on kirjeldatud jaotises Jaotis 19.1 VIGA (ERROR) või KEHTETU (INVALID) (1. tüüp) uuesti testimise protseduur.
<b>TULEMUS PUUDUB (NO RESULT)</b>	Andmete kogumise tõrge. Näiteks peatas operaator poolelioleva analüüsi või tekkis elektrikatkestus.	Korrake analüüsi originaalprooviga (kui see on saadaval) või allesjäänud lüsaadiga ja uue kassetiga, järgides toimingut, mis on kirjeldatud jaotises Jaotis 19.1 VIGA (ERROR) või KEHTETU (INVALID) (1. tüüp) uuesti testimise protseduur.

## 19 Kordustestimised

### 19.1 VIGA (ERROR) või KEHTETU (INVALID) (1. tüüp) uuesti testimise protseduur

Testige uuesti proove, mille tulemus on **VIGA (ERROR)** või **KEHTETU (INVALID)**, kuna ABL-i tsükli lävi (Ct) ületab maksimaalse kehtiva Ct (Ct >20) või lõpp-punkt on allpool läve seadistust (<100). Vt ka Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend.

1. Kui saadaval on piisav kogus vereproovi, testige uuesti algsest vereproovi kogumiskatsutist, järgides jaotises Jaotis 12.2 kirjeldatud protseduuri.

-VÕI-

Kui vereproovi maht on ebapiisav, saab uuesti testida allesjäänud lüsaadiga jaotises Jaotis 12.2.1, sammus 12.

- a. Kui jaotise Jaotis 12.2.1 sammus 12 allesjäänud lüsaati hoitakse külmutatuna, sulatage see enne kasutamist toatemperatuurini.
  - b. Veenduge, et lüsaat on hästi segatud, segades proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit ja jätke see 3 minutiks kõrvale, et mullid settiksid.
2. Kandke 1 ml valmistatud lüsaati uude 50 ml koonilisse katsutisse.
  3. Lõpliku lüsaadi valmistamiseks järgige samme 13–17 Jaotis 12.2.1-s.
  4. Avage kassett, tõstes kasseti kaas üles ja kandke kogu pesureagendi (1) ampulli sisu pesureagendi kambrisse (väikese avaga). Vt Joonis 1.
  5. Pipeteerige kogu ettevalmistatud proovi sisu proovikambrisse (suur ava). Vt Joonis 1.
  6. Sulgege kasseti kaas. Käivitage analüüs (vt Jaotis 12.4, Analüüsi käivitamine).

### 19.2 VIGA (ERROR) (kood 2008) või KEHTETU (INVALID) (2. tüüp) uuesti testimise protseduur

Testige uuesti proove, mille NPM1 mutatsioon ja/või ABL transkripti tase on alla kehtiva minimaalse Ct (Ct > 0 ja Ct < 6) ja/või kui rõhupiir on ületatud. Vt ka Jaotis 18, Tõrkeotsingu juhend.

1. Lisage uue 50 ml koonilise katsuti põhja 100 µl PK-d (proteinaas K).
2. Veenduge, et vereproov või järelejäänud lüsaat jaotise Jaotis 12.2 punktist 12 on hästi segatud, pöörates tuubi 8 korda vahetult enne pipeteerimist.
3. Katsutisse, mis juba sisaldab Proteinaas K-d, lisage 250 µL vereproovi ja 3,75 ml PBS-i (pH 7,4, tarnib kasutaja), kui see on saadaval, või 60 µL allesjäänud lüsaati jaotise Jaotis 12.2.1 sammust 12.
  - a. Kui jaotise Jaotis 12.2.1 sammus 12 allesjäänud lüsaati hoitakse külmutatuna, sulatage see enne kasutamist toatemperatuurini.
  - b. Veenduge, et lüsaat on hästi segatud, segades proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit ja jätke see 3 minutiks kõrvale, et mullid settiksid.
4. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 3 sekundit.
5. Inkubeerige toatemperatuuril 1 minut.
6. PBS-iga vereproovi kordustestamiseks järgige lõpliku lüsaadi valmistamiseks jaotise Jaotis 12.2.1 samme 6–17. Allesjäänud lüsaadi kordustestamiseks järgige alltoodud samme a–g, et valmistada lõplik lüsaat.
  - a. Säilitatud lüsaadi kordustestitava prooviga katseklaasi lisage 2,5 ml LY-d.
  - b. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit.
  - c. Inkubeerige toatemperatuuril 5 minutit.
  - d. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit.
  - e. Inkubeerige toatemperatuuril 5 minutit.
  - f. Lisage samasse katsutisse 2 ml reagendi klassi absoluutset etanooli (tarnib kasutaja).
  - g. Segage proovi keerissegistiga maksimaalsel seadistusel pidevalt 10 sekundit. Pange kõrvale.
7. Avage kassett, tõstes kasseti kaas üles ja kandke kogu pesureagendi (1) ampulli sisu pesureagendi kambrisse (väikese avaga). Vt Joonis 1.
8. Pipeteerige kogu ettevalmistatud proovi sisu proovikambrisse (suur ava). Vt Joonis 1.
9. Sulgege kasseti kaas. Käivitage analüüs (vt Jaotis 12.4, Analüüsi käivitamine).



## 20 Oodatavad väärtused

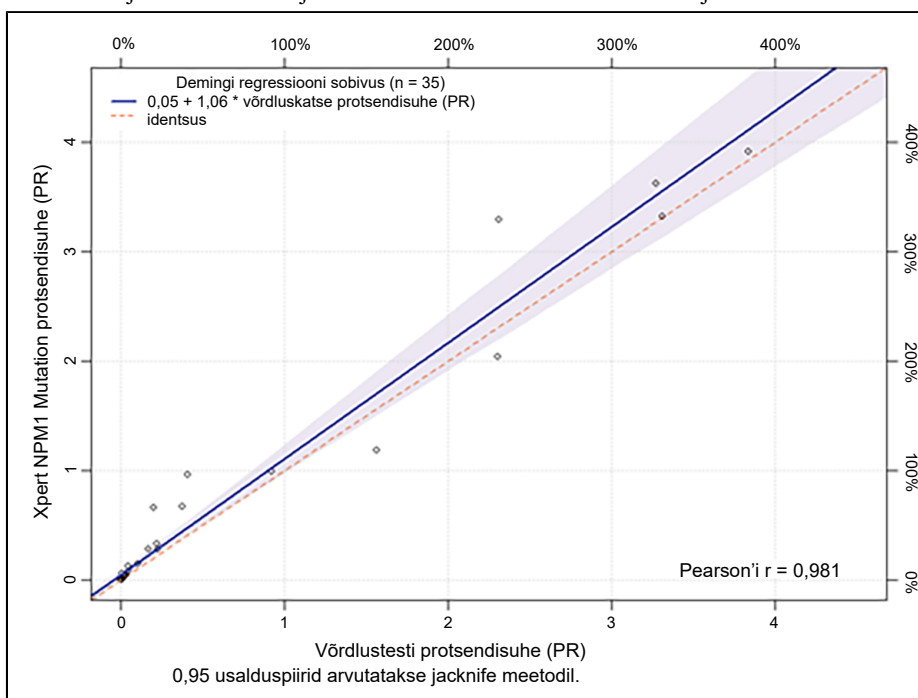
Xpert NPM1 Mutation vahemik hõlmab peamisi kliinilisi otsustuspunkte AML-i jälgimiseks. Oodatavad väärtused on väljendatud NPM1 mutatsiooni mRNA ja ABL mRNA suhtena ning jäävad vahemikku 0,030% kuni 500%. Sellest vahemikust madalamad mõõtmised on teatatud kui tuvastamata või allpool tuvastuspiiri (LoD). Sellest vahemikust kõrgemad mõõtmised on esitatud kvantitatiivset piiri (LoQ) ületavatena. Vt üksikasjade osas Jaotis 15-te.

## 21 Kliiniline toimivus

Mitmekeskuseline vaatlusmeetodite võrdlusuring viidi läbi kolmes laboris Ameerika Ühendriikides ja ühes laboris väljaspool Ameerika Ühendriike. Uuringusse kaasati proovid 40 eraldiseisvalt AML-i patsiendilt, kellel oli NPM1 mutatsioon ühest ajahetkest ja kogu testi Xpert NPM1 Mutation dünaamilises vahemikus. Patsientidelt, kellelt proovid võeti, koguti vanus ja sugu. Sooline jaotus oli 11 meest (27,5%) ja 29 naist (72,5%). Kõik proovid olid 16–81-aastastelt patsientidelt, kelle keskmine vanus oli 59,7 aastat.

Kõik 40 proovi andsid kehtivad testitulemused. 36 proovi 40-st andsid tulemused mõlema testi kvantitatiivses vahemikus. Neli proovi jäeti Demingi regressioonist välja, kuna proovid olid negatiivsed testis Xpert NPM1 Mutation ja/või võrdlustestis. Üks lisa proov jäeti välja, kuna see oli võõrtulemus. Kokku kaasati Demingi regressioonianalüüsi 35 proovi.

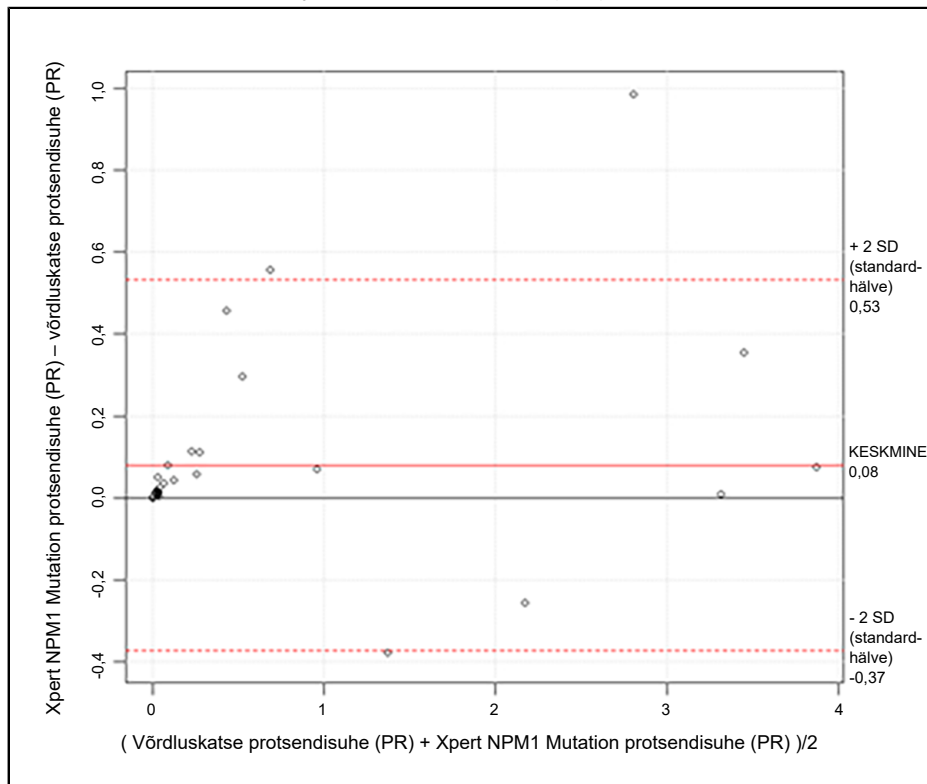
Testi Xpert NPM1 Mutation toimivust võrreldes võrdlustestiga hinnati kalde ja vabaliikme määramisega Demingi regressiooni abil. Joonis 12 esitab Demingi regressioonianalüüsi tulemused, sh 35 proovi kalde, vabaliikme ja samasusjoone. 95% usalduspiirid arvutati jackknife meetodil ja kuvatakse Pearsoni korrelatsioonikordaja.



Joonis 12. Demingi regressioon protsendisuhete jaoks

Demiingi regressioonianalüüsi protsendisuhete kalle ja vabaliige olid vastavalt 1,06 ja 0,05 ning Pearsoni korrelatsioon testi Xpert NPM1 Mutation ja võrdlustesti mõõtmiste vahel oli 0,981.

Bland-Altmani analüüsi protsendisuite erinevuse osas hinnati 35 proovi puhul, mille kvantitatiivsed tulemused jäid testi Xpert NPM1 Mutation ja võrdlustesti lineaarsesse vahemikku. Joonis 13 näitab Bland-Altmani graafikut kahe testi vahelise protsendisuite erinevusega võrreldes iga proovi keskmise protsendisuite tulemuste suhtes. Graafik näitab ka uuringus täheldatud keskmise erinevuse kahte ülemist ja alumist standardhälvet (2SD).



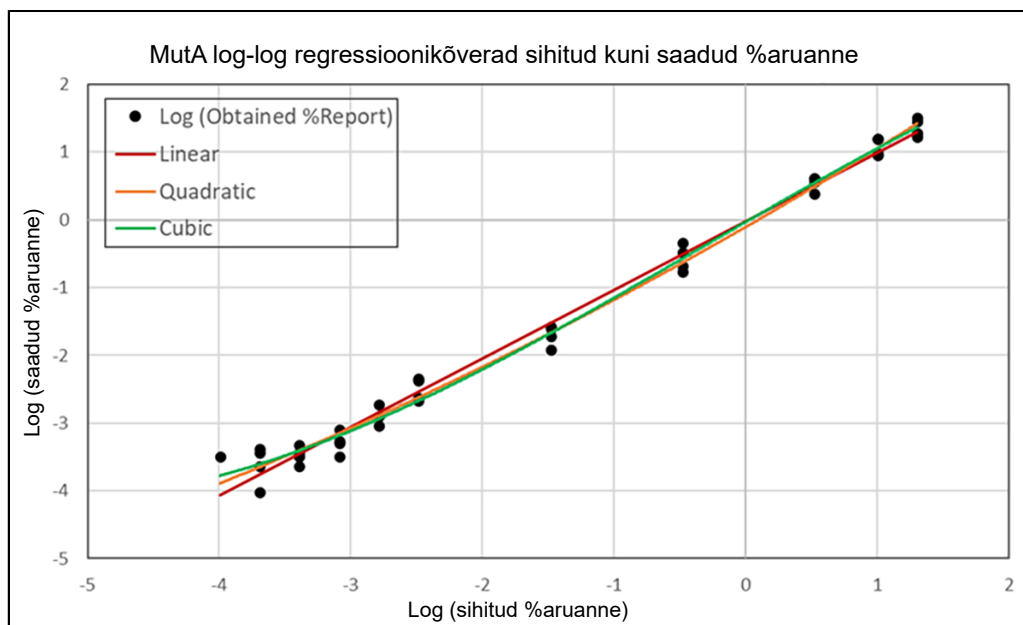
**Joonis 13. Bland-Altmani graafik Xpert NPM1 Mutation & võrdlustesti protsendisuite jaoks**

Keskmine erinevus oli 0,08 protsendisuites testi Xpert NPM1 Mutation ja võrdlustesti tulemuste vahel. Enamik (91,4%, 32/35) tulemustest jäi keskmise erinevuse 2SD piiresse.

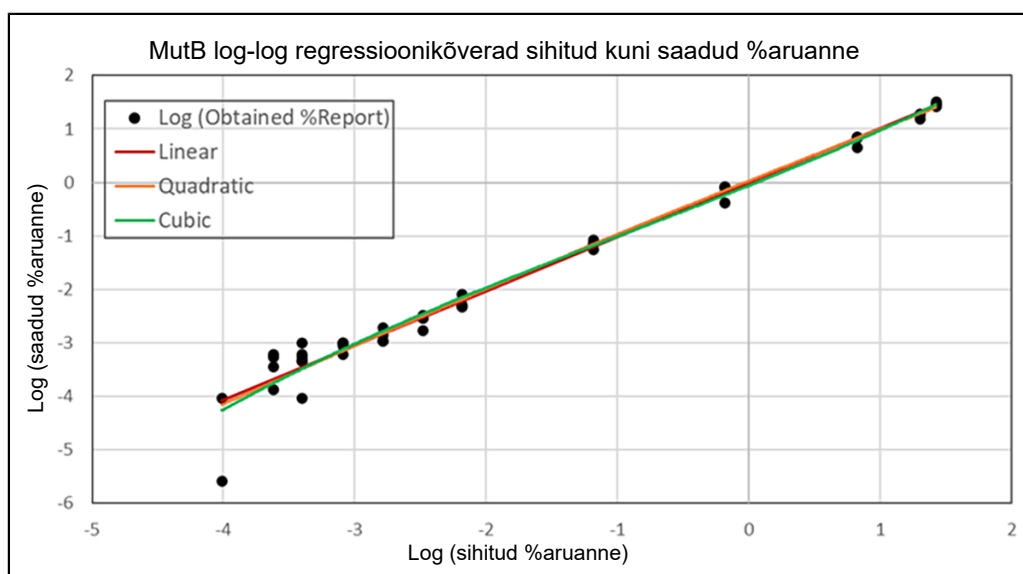
## 22 Analüütilised andmed

### 22.1 Lineaarne/dünaamiline vahemik

Lineaarsus määrati iga kolme NPM1 mutandi alatüübi, mutA, mutB ja mutD jaoks, kasutades rakulüsaate, mis sisaldavad iga alatüübi transkripti kõrge tasemel. Selliseid lüsaate lahjendati taustlüsaadis, mis oli valmistatud eeldatavalt NPM1 mutatsioon-negatiivsetelt doonoritelt kuni sihtvahemikuni ~ 0,01–2500% NPM1 mutatsiooni / ABL. Kõiki tasemeid testiti ühel reagendipartiil neljas korduses. Testimine ja statistilised analüüsid viidi läbi vastavalt standardile CLSI EP06-A<sup>9</sup>. Iga alatüübi regressioonikõverad on näidatud Joonis 14, Joonis 15, ja Joonis 16. Iga alatüübi lineaarne vahemik ja nende lineaarse mudeli koefitsiendid on kokku võetud Tabel 4.



Joonis 14. MutA regressioonikõverad



Joonis 15. MutB regressioonikõverad



Joonis 16. MutD regressioonikõverad

Tabel 4. Lineaarsete vahemike ja lineaarse mudeli koefitsientide kokkuvõte

Alatüüp	Lineaarne vahemik	Vabaliige	Kalle	R <sup>2</sup>
mutA	0,010–2020%	-0,0223	1,0134	0,989
mutB	0,010–2673%	-0,0061	1,0174	0,978
mutD	0,014–2783%	-0,1163	0,9389	0,981

Kokkuvõttes näitas test Xpert NPM1 Mutation linearsust vahemikus 0,014–2020% NPM1 mutatsiooni / ABL-i. LoQ ja tarkvara ülempiiriga piiratud dünaamiline vahemik on 0,030–500%.

## 22.2 Analüütiline tundlikkus (tuvastuspiir, kvantifitseerimise piir, tühja proovi piir)

Tuvastuspiir (LoD) on madalaim NPM1 mutatsiooni/ABL tase, mille puhul 95% proovidest esitatakse järjekindlalt kui „**NPM1 mutatsioon TUVASTATUD (DETECTED) [###.###%]**“. LoD määrati mutA, mutB ja mutD alatüüpide jaoks individuaalselt, testides NPM1-mutatsioon-positiivsete rakulüsaatide ja iga mutatsiooni alatüüpi sisaldavate kliiniliste lüsaatide seerialahjendusi. Vastavad LoD-d hinnati ja kontrolliti vastavalt standardile CLSI EP17-A2<sup>10</sup>. Saadud analüüsid andsid LoD 0,025% mutA, 0,023% mutB ja 0,030% mutD jaoks (Tabel 5). Testi Xpert NPM1 Mutation üldiseks LoD-ks võetakse kolme alatüübi kõrgeim LoD 0,030% tasemel.

Kvantiteerimise piir (LoQ) on madalaim NPM1 mutatsiooni/ABL tase, millest kõrgemal saab proove kvantifitseerida standardhällbega  $\leq 0,36$  logi vähendamisega (LR), kui keskmine LR on üle 3,5. Vastavalt standardile CLSI EP17-A2<sup>10</sup> hinnati ja kontrolliti LoQ-sid 0,025% mutA alatüübi, 0,023% mutB alatüübi ja 0,030% mutD alatüübi puhul (Tabel 5). Testi Xpert NPM1 Mutation üldiseks LoQ-ks loetakse kolme alatüübi kõrgeim LoQ 0,030%.

Tühja proovi piir (LoB) on kõrgeim NPM1 mutatsiooni/ABL tulemus, mida oodatakse 95% eeldatavalt NPM1-mutatsioon-negatiivsete doonorite tühjade proovide hulgas. Vastavalt standardile CLSI EP17-A2<sup>10</sup> hinnati ja kontrolliti testi Xpert NPM1 Mutation LoB tasemel 0,0085% (Tabel 5).

**Tabel 5. Testi Xpert NPM1 Mutation tuvastamispiir, kvantifitseerimise piir ja tühja proovi piir [%NPM1 mutatsioon/ABL]**

Alatüüp	LoD [%NPM1 mutatsioon/ABL]	LoQ [%NPM1 mutatsioon/ABL]	LoB [%NPM1 mutatsioon/ABL]
mutA	0,025%	0,025%	0,0085%
mutB	0,023%	0,023%	
mutD	0,030%	0,030%	

## 22.3 Analüütiline spetsiifilisus

Testi Xpert NPM1 Mutation analüütiline spetsiifilisus määrati kahekümne viielt tervelt doonorilt võetud EDTA-ga töödeldud perifeerse vere proovide testimise teel.

Selles uuringus hinnatud NPM1 mutatsiooniga negatiivsetest proovidest ei saadud tulemust NPM1 mutatsioon **TUVASTATUD** (NPM1 Mutation DETECTED). Seega on test Xpert NPM1 Mutation spetsiifiline AML-iga seotud mutantsete NPM1 mRNA transkriptide suhtes (tüübid A, B ja D eksonis 12), mis on seotud AML-iga ja selle analüütiline spetsiifilisus EDTA perifeerse vere proovide puhul on 100%.

## 22.4 Ülekanduva saastumise hindamine

Viidi läbi uuring, et näidata, et ühekordselt kasutatavad iseseisvad GeneXpert kassetid hoiavad ära saastumise ülekandumise kassetidest, mis töötavad järjestikku samas instrumendimoodulis. Eeldatavalt NPM1-mutatsiooniga negatiivset proovi testiti pärast kõrge NPM1-mutatsiooniga positiivset proovi samas GeneXpert moodulis. Testimiskeemi korrati 10 korda kahel GeneXpert moodulil (kokku 22 negatiivset ja 20 positiivset). Kõik positiivse proovi testimised andsid oodatud tulemuse „**NPM1 mutatsioon TUVASTATUD [#.##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.##%])**“ ja kõik negatiivsete proovide testimised andsid oodatud tulemuse „**NPM1 mutatsiooni EI TUVASTATUD [Piisav ABL-i transkriptsioon] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**“.

## 22.5 Potentsiaalselt segavad ained

Selles uuringus hinnati viit ainet, mis võivad esineda EDTA perifeerse vere proovides ja mis võivad testi läbiviimist häirida. Testitud ühendid ja tasemed (vt Tabel 6) põhinesid CLSI dokumendi EP07-ED3 juhistel<sup>11</sup>. Segavaid aineid testiti EDTA perifeerse vere proovides, mis olid valmistatud kultiveeritud NPM1-mutatsioonipositiivsete rakkude lüsaatidest, mis esindasid kolme taset: > 1%, 0,1–0,5% ja negatiivsed. Testikontrollid koosnesid samadest proovidest ilma potentsiaalselt segavate aineteta. Iga taset testiti viie individuaalse interferentsi puudumisel ja juuresolekul 4 replikaati seisundi kohta. Aine loeti mittehäirivaks, kui selle juuresolekul oli täheldatud keskmine % suhe kontrollrühmaga võrreldes 3-kordse erinevusega.

Ühegi selles uuringus hinnatud segava aine puhul ei täheldatud testile Xpert NPM1 Mutation kliiniliselt olulist pärssivat toimet. Statistiliselt olulisi erinevusi (p-väärtus < 0,05) üheski katsetingimustes ei täheldatud ning testi- ja kontrolltingimuste vahelised protsendisused olid vastuvõetavas 3-kordses vahemikus.

**Tabel 6. Testitud potentsiaalselt segavad ained kasutades testi Xpert NPM1 Mutation**

Segavad ained	Testitud kontsentratsioon
Konjugeerimata bilirubiin	20 mg/dl
Kolesterool, üld	500 mg/dl
Triglütseriidid, üld (lipiidid)	3000 mg/dl
Hepariin	3500 U/l
EDTA (lühike tõmme)	930 mg/dl

## 23 Reprodutseeritavus ja kordustäpsus

Uuring ehitati üles kooskõlas CLSI EP05-A3 mitmfaktoriliste uuringute standardis sätestatud üldpõhimõtetega. See viidi läbi kolmes laboris. Uuringu ülesehitus hõlmas proovipaneeli liikmeid, mis sisaldasid mutatsioone A, B ja D kahes kontsentratsioonis. Seitset paneeliliiget testiti kahes korduses, kaks korda päevas, kokku 6 päeva jooksul mõlema operaatore poolt kolmes erinevas laboris (3 laborit × 2 operaatorit × 3 partiid × 2 päeva × 2 tsükli × 2 kordust = 144 testi tulemused / paneeli liige). Reprodutseeritavuse ja kordustäpsuspaneelid valmistati Cepheid ja need koosnevad seitsmest paneeliliikmest, nagu on näidatud Tabel 7. Paneelid valmistati simuleeritud EDTA perifeerse vere (PB) maatriksis.

**Tabel 7. Paneelide reprodutseeritavus ja kordustäpsus**

Paneeli liige	Sihhtmärk	Taseme protsendisuhe (PR)
1	Negatiivne	–
2	NPM1 mutatsioon A	Mõõdukalt positiivne (~5%)
3	NPM1 mutatsioon A	Madalalt positiivne (~0,2%)
4	NPM1 mutatsioon B	Mõõdukalt positiivne (~5%)
5	NPM1 mutatsioon B	Madalalt positiivne (~0,2%)
6	NPM1 mutatsioon D	Mõõdukalt positiivne (~5%)
7	NPM1 mutatsioon D	Madalalt positiivne (~0,2%)

Kahe operaatore poolt kolmes laboris analüüsitud iga paneeliliikme kohta kehtivate tulemustega proovide arv on näidatud Tabel 8.

**Tabel 8. Reprodutseeritavus ja kordustäpsus. Kehtivate tulemustega proovide arv**

Paneeli liige	Labor 1			Labor 2			Labor 3			Proovid kokku
	Op 1	Op 2	Labor	Op 1	Op 2	Labor	Op 1	Op 2	Labor	
1 Negatiivne	24/24 <sup>a</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>a</sup>	(24/24) <sup>b</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>b</sup>	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
2 LR1.3: mut A (suhe ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
3 LR2.7: mut A (suhe ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
4 LR1.3: mut B (suhe ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
5 LR2.7: mut B (suhe ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
6 LR1.3: mut D (suhe ~5%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
7 LR2.7: mut D (suhe ~0,2%)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) <sup>c</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>c</sup>	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

<sup>a</sup> Kahel negatiivsel proovil olid kehtivad, kuid tuvastatud tulemused (valepositiivne (FP))

<sup>b</sup> Ühel negatiivsel proovil oli kehtiv, kuid tuvastatud tulemus (FP)

<sup>c</sup> Ühel LR 2.7: mut D (suhe ~0,2%) proovil oli kehtiv, kuid tuvastamata tulemus (valenegatiivne (FN))

Kvantitatiivseid tulemusi analüüsiti pesastatud dispersioonanalüüsiga (ANOVA) juhuslike efektide ja variatsioonikordaja (CV) abil. Iga positiivse proovi standardhälbe ja dispersiooni ANOVA arvutuste tulemused on esitatud Tabel 9. Iga komponendi (labor/instrument, operaator, partii, päev, tsükkel) dispersioon ja protsent kogu dispersioonist on näidatud SD ja iga komponendi panuse protsentides.

**Tabel 9. Variatsioonikordaja (CV) tulemused: Protsendisuhe (PR)**

Paneeli liige	N	Keskmine	Labor		Op		Partii		Päev		Analüüs		Analüüsi sisene		Kokku	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1.3: mut A (suhe ~5%)	144	4,3%	0,00	6,14	0,00	0,00	0,00	4,29	0,00	8,91	0,00	4,36	0,01	17,83	0,01	21,74
LR2.7: mut A (suhe ~0,2%)	144	0,2%	0,00	0,00	0,00	12,43	0,00	0,00	0,00	23,71	0,00	0,00	0,00	74,56	0,00	79,22
LR1.3: mut B (suhe ~5%)	144	5%	0,00	8,24	0,00	0,00	0,01	11,50	0,00	7,19	0,00	0,00	0,01	20,88	0,01	26,23
LR2.7: mut B (suhe ~0,2%)	144	0,2%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,28	0,00	20,68
LR1.3: mut D (suhe ~5%)	144	4,2%	0,00	5,15	0,00	0,00	0,01	12,91	0,00	8,78	0,00	0,00	0,01	18,30	0,01	24,60
LR2.7: mut D (suhe ~0,2%)	143 <sup>a</sup>	0,2%	0,00	10,86	0,00	0,00	0,00	12,91	0,00	6,77	0,00	0,00	0,00	22,83	0,00	29,18

<sup>a</sup> Ühte proovi Xpert NPM1 ei tuvastanud ja see jäeti analüüsist välja, kuna puudus kvantitatiivne mõõtmine.

Mõeldukalt positiivsete proovide LR1.3: mut A, mut B ja mut D (~5% suhe) kvantitatiivseid väärtusi andva protsendisuhete variatsioonikoefitsient (CV) oli vahemikus 21,74 kuni 26,23 ja madalalt positiivsete proovide puhul LR2.7: mut A, mut B ja mut D (suhe ~0,2%) oli vahemikus 20,68 kuni 79,22.

## 24 Viited

1. Saultz JN, Garzon R. Acute myeloid leukemia: A concise review. *J Clin Med.* 2016; 5(3). doi:10.3390/jcm5030033
2. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2015; 373(12): 1136-1152. doi:10.1056/NEJMra1406184
3. Diagnostic Molecular Pathology. A Guide to Applied Molecular Testing. <https://www.medic4arab.com/2017/01/diagnostic-molecular-pathology-guide-to.html>. Accessed September 16, 2020.
4. Kunchala P, Kuravi S, Jensen R, McQuirk J, Balusu R. When the good go bad: Mutant NPM1 in acute myeloid leukemia. *Blood Rev.* 2018; 32(3): 167-183. doi:10.1016/j.blre.2017.11.001
5. Heath EM, Chan SM, Minden MD, Murphy T, Shlush LI, Schimmer AD. Biological and clinical consequences of NPM1 mutations in AML. *Leukemia.* 2017; 31(4): 798-807. doi:10.1038/leu.2017.30
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (lähtuda uusimast redaktsioonist).
8. Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>
9. CLSI EP06-A:2003 Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach, 1st Edition
10. CLSI EP17-A2:2012 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition
11. CLSI EP07-ED3:2018 Interference Testing in Clinical Chemistry, 3rd Edition
12. CLSI EP05-A3:2014 Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition

## 25 Cepheidi peakontorite aadressid

### Ettevõtte peakontor

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Tel: + 1 408 541 4191  
Faks: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Euroopa peakontor

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Tel: + 33 563 825 300  
Faks: + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 26 Tehniline abi

Enne Cepheidi tehnilise toe poole pöördumist koguge järgmine teave.

- Toote nimetus
- Partii number
- Instrumendi seerianumber
- Veateated (olemasolu korral)
- Tarkvaraversioon ja olemasolu korral arvutihoolduse sildi number

### USA

Tel: + 1 888 838 3222  
E-post : techsupport@cepheid.com





















### Prantsusmaa

Tel: + 33 563 825 319  
E-post : support@cepheideurope.com

Kõigi Cepheidi tehnilise toe kontorite kontaktandmed on saadaval meie veebisaidil: [www.cepheid.com/en\\_US/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en_US/support/contact-us).



## 27 Sümbolite tabel

Sümbol	Tähendus
	Katalooginumber
	CE-märgis – vastavus Euroopa nõuetele
	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
	Partii kood
	Korduvalt mitte kasutada
	Juhinduge kasutusjuhendist
	Tootja
	Tootmisriik
	Sisaldab piisavalt <i>n</i> testi jaoks
	Kontroll
	Aegumiskuupäev
	Temperatuuripiirang
	Bioloogilised ohud
	Ettevaatust
	Tuleohtlikud vedelikud
	Reproduktiiv- ja elunditoksilisus
	Hoiatus
	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses
	Volitatud esindaja Šveitsis
	Importija



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA  
Tel: + 1 408 541 4191  
Faks: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
Prantsusmaa  
Tel: + 33 563 825 300  
Faks: + 33 563 825 301



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



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



## 28 Redaktsioonijalugu

Jaotis	Muudatuse kirjeldus
23	Parandati viga jaotises „Reprodutseeritavus ja kordustäpsus“.