

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

**REF** GXNPM1-CE-10

Használati utasítás

**IVD** CE

## **Védjegy, szabadalmak és szerzői jogi nyilatkozatok**

### **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>, a Cepheid logó, a GeneXpert<sup>®</sup> és az Xpert<sup>®</sup> a Cepheid védjegyei, melyek az Egyesült Államokban és más országokban vannak bejegyezve.

Minden más védjegy az adott birtokos tulajdonát képezi.

A JELEN TERMÉK MEGVÁSÁRLÁSA NEM ÁTRUHÁZHATÓ JOGOT BIZTOSÍT A VÁSÁRLÓNAK A TERMÉK HASZNÁLATÁRA A HASZNÁLATI UTASÍTÁSNAK MEGFELELŐEN. SEMMILYEN MÁS JOGOT NEM RUHÁZ ÁT KIFEJEZETTEN, HALLGATÓLAGOSAN VAGY A KERESÉTI IGÉNY ELVÉVEL. TOVÁBBÁ A TERMÉK MEGVÁSÁRLÁSÁVAL SEMMILYEN VISZONTELDÁSI JOG NEM KERÜL ÁTRUHÁZÁSRA.

© 2022–2023 Cepheid.

A változtatások ismertetését lásd a Rész 28., Módosítások listája c. részben.

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

---

*In vitro* diagnosztikai használatra.

## 1 Védett név

Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

## 2 Szokásos vagy közhasználatú név

Xpert NPM1 Mutation

## 3 Rendeltetés

### 3.1 Rendeltetésszerű használat

Az Xpert NPM1 Mutation teszt, amelyet a Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> Dx System rendszeren végeznek el, egy *in vitro* diagnosztikai teszt a mutáns NPM1 mRNS-transzkriptumainak (A, B és D típusok a 12-es exonban) mennyiségi meghatározására akut mieloid leukémiában (AML) szenvedő betegek perifériás vérmintáiban. A teszt automatizált valós idejű reverz transzkripció polimeráz-láncreakciót (RT-PCR) használ, és a mutáns NPM1 és az ABL1 endogén kontroll mRNS-transzkriptumok százalékos arányát adja eredményként. A teszt célja, hogy segítséget nyújtson az NPM1-mutáns AML-ben szenvedő betegekben a mutáns NPM1 mRNS-transzkriptumszintjének megfigyelésében. A tesztet más klinikopatológiai tényezőkkel együtt kell alkalmazni.

Az Xpert NPM1 Mutation teszt nem tesz különbséget az A, B vagy D típusú mutáns NPM1-transzkriptumok között, és nem detektálja vagy monitorozza a mutáns NPM1 egyéb ritka típusait. Ez a teszt nem az AML diagnosztizálására szolgál.

### 3.2 Rendeltetésszerű felhasználó/környezet

Az Xpert NPM1 Mutation tesztet képzett felhasználók használhatják laboratóriumi környezetben.

## 4 Összegzés és magyarázat

Az akut mieloid leukémia (AML) a mieloid vér vércépző őssejtjeinek rákja a csontvelőben<sup>1,2</sup> és ismert, hogy számos nukleofoszmin (NPM1) exon 12 mutációval rendelkezik.<sup>3</sup> A nukleotidok beépítése a 12-es exonba frameshift mutációt eredményez, és nukleáris exportjelet (NES) hoz létre. Az NPM1 gén mutációi az NPM1 és az NPM1-gyel kölcsönhatásba lépő fehérjék rendellenes citoplazmatikus lokalizációjához vezetnek. Az NPM1 az egyik leginkább mutálódott gén az AML-ben, és a mutációk az összes AML-eset 28-35%-ában előfordulnak. Míg számos, mutált NPM1-et célzó gyógyszert jelenleg is vizsgálnak, jelenleg nem áll rendelkezésre az FDA által jóváhagyott célzott terápia.<sup>4</sup>

Az NPM1 gén a nukleáris shuttle fehérjét kódolja, amely szerepet játszik a centroszóma és riboszóma biológiájában, valamint más sejtrendszerek szabályozásában, beleértve a tumorsuppresszor útvonalakat is. Az NPM1 egy nukleoláris foszfoprotein, amely a sejtmag és a citoplazma között „ingázik”. Szabályozza a riboszómális részecskéknek a sejtmembránján keresztüli szállítását. Az NPM1-mutációkat először AML-es egyéneknél fedezték fel, miután a normális nukleáris hely helyett reendeltes citoplazmatikus elhelyezkedést figyeltek meg. A leukémiás blasztok genetikai értékelése a citoplazmatikus NPM1-hellyel kombinálva a 12-es exon frameshift mutációinak megismeréséhez vezetett.<sup>3</sup> A leggyakoribb NPM1-mutációk az A típusúak (~75–80%), a B típusúak (~10%) és a D típusúak (~5%), mind a 12-es exonban található, ami négy nukleotid beépítéséből adódó frameshift mutációt eredményez. A mutáció a nukleoláris lokalizációs jel elvesztését és a fehérje rendellenes citoplazmatikus lokalizációját okozza AML-es betegekben.<sup>5</sup>

## 5 Az eljárás elve

Az Xpert NPM1 Mutation teszt egy automatizált vizsgálati eljárás az NPM1-mutáció transzkriptumainak mennyiségi meghatározására az NPM1-mutáció/ABL1 arány formájában. A tesztet a Cepheid GeneXpert Dx System rendszeren kell végezni, amely automatizálja és integrálja a mintatisztítást, a nukleinsav-amplifikációt és a célszekvencia kimutatását a mintában vagy összetett mintákban valós idejű RT-PCR- és beágyazott PCR-tesztek segítségével. A rendszer egy műszerből, egy számítógépből és egy, a tesztek futtatására és az eredmények megtekintésére szolgáló, előre betöltött szoftverből áll. A rendszerhez egyszer használatos, eldobható GeneXpert kazettákra van szükség, amelyek az RT-PCR és beágyazott PCR reagenseket tartalmazzák, és amelyekben az RT-PCR és beágyazott PCR folyamatok lezajlanak. A rendszer teljes körű leírását lásd a megfelelő dokumentumban: *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Az Xpert NPM1 Mutation teszt magában foglalja az NPM1-mutáció kimutatására szolgáló reagenseket és az ABL1-transzkriptumot endogén kontrollként a perifériás vérmintákban. Az NPM1-mutációs transzkriptum mennyisége az NPM1-mutáció/ABL1 százalékos arányaként határozható meg. Az Xpert NPM1 Mutation teszt kettő kontrollt tartalmaz – az endogén kontrollt (ABL1) és a próbaellenőrző kontrollt (PCC). Az ABL1 endogén kontroll normalizálja az NPM1-mutációs célt, és garantálja, hogy a teszt során elegendő mintát használnak. A PCC ellenőrzi a reagens rehidratációját, a PCR cső megtöltését, valamint azt, hogy minden reakciós komponens – beleértve a próbákat és festékeket – jelen van a kazettában, és működőképes.

## 6 Reagensek és műszerek

### 6.1 Biztosított anyagok

Az Xpert NPM1 Mutation készlet (GXNPM1-CE-10) 10 tesztminta vagy minőség-ellenőrző minta feldolgozásához elegendő reagenst tartalmaz. A készlet a következőket tartalmazza:

Xpert NPM1 Mutation Reagensek	készletenként 10 darab
<b>Proteináz K (PK)</b>	<b>10 x 130 µl fiolánként</b>
<b>Komponens</b>	<b>Reagens-összetevő</b>
Proteináz K	<5%
<b>Lízisreagens (LY) (Guanidinium-klorid)</b>	<b>10 x 5,3 ml fiolánként</b>
<b>Komponens</b>	<b>Reagens-összetevő</b>
Guanidinium-klorid	25–50%
Karbamid	25–50%
Nátrium-dodecil-szulfát	<2%
<b>Mosóreagens</b>	<b>10 x 2,9 ml ampullánként</b>
<b>Komponens</b>	<b>Reagens-összetevő</b>
Etanol	<50%
Guanidinium-tiocianát	<50%

Xpert NPM1 Mutation kazetták integrált reakciócsövekkel		Készletenként 10 darab
Komponens	Reagens-összetevő	Mennyiség
Gyöngy 1 (fagyasztással szárítva)	Enzim: Taq DNS-polimeráz <50 E/gyöngy	Kazettánként 1 db
	dNTP-k <0,05%	
Gyöngy 2 (fagyasztással szárítva)	Primerek és próbák <0,005%	Kazettánként 1 db
Gyöngy 3 (fagyasztással szárítva)	Primerek és próbák <0,005%	Kazettánként 1 db
Gyöngy 4 (fagyasztással szárítva)	Enzim: Taq DNS-polimeráz <50 E/gyöngy	Kazettánként 1 db
	dNTP-k <0,05%	
Öblítőreagens	Kálium-klorid <4%	Kazettánként 2 ml
	Nátrium-azid <0,1%	
	Polietilén-glikol <40%	
	Tween-20 <0,2%	
Elúciós reagens	Trizma bázis <0,3%	Kazettánként 2,5 ml
	Trizma hidroklorid <0,1%	
	Nátrium-azid <0,05%	

**CD****Készletenként 1 darab**

- Tesztdefiníciós fájl (ADF)
- Utasítás az ADF GeneXpert szoftverbe való importálásához
- Használati utasítás

**Megjegyzés**

A termék gyöngyeiben található marha szérumalbumint (BSA) kizárólag amerikai egyesült államokbeli szarvasmarhaplazmából készítették és gyártották. Az állatokat nem etették kérődzők fehérjével vagy más állati fehérjével; az állatok ante- és post-mortem tesztelésen is megfeleltek. Feldolgozás során nem keverték az anyagot más állati anyagokkal.

**Megjegyzés**

Az elemzési igazolások és tételspecifikus adatlapok a Cepheid műszaki ügyfélszolgálatától szerezhetők be.

## 7 Szükséges, de nem biztosított anyagok

- GeneXpert Dx System (a katalógusszám konfigurációnként eltérő): GeneXpert műszer, számítógép, vonalkódszkenner, kezelői kézikönyv.
- GeneXpert Dx System: 6.2 vagy frissebb GeneXpert Dx szoftververzió
- Nyomtató: Ha nyomtatóra van szükség, vegye fel a kapcsolatot a Cepheid műszaki ügyfélszolgálatával, hogy megbeszéljék az ajánlott nyomtató megvásárlását.
- Vortex keverő
- Microcentrifuga (1000 x g minimum)
- Pipetták és aeroszol szűrő pipettahegyek
- 50 ml-es kúpos csövek
- Reagens minőségű abszolút etanol
- 1X PBS, pH 7,4

## 8 Tárolás és kezelés

- Az Xpert NPM1 Mutation készlet tartalma 2–8 °C hőmérsékleten tárolható a címkén feltüntetett eltarthatósági ideig.
- Ne nyissa ki a kazetta fedelét, ameddig készen nem áll a teszt elvégzésére.
- Ne használjon olyan kazettát, amelynek eltarthatósági ideje lejárt.
- Ne használjon szivárgó kazettát.
- A mosó reagens tiszta, szintelen folyadék. Ne használjon zavarossá vált vagy elszíneződött mosó reagenset.
- Az eljárás elkezdése előtt húsz (20) perccel vegye ki a vérmintát, a kazettát és a minta-előkészítő reagenset a tárolójukból, és hagyja, hogy szobahőmérsékletre (20–30 °C) melegegjenek.

## 9 Figyelmeztetések és óvintézkedések

### 9.1 Általános

- *In vitro* diagnosztikai használatra.
- Minden biológiai mintát, beleértve a használt kazettákat és reagenset is, fertőző ágensek átvitelére alkalmasként kezeljen. Mivel gyakran lehetetlen tudni, hogy melyik lehet fertőző, ezért minden biológiai mintát a standard óvintézkedések betartásával kell kezelni.
- A minták kezelésére vonatkozó irányelvek az egyesült államokbeli Járványügyi és Betegségmegelőzési Központ<sup>6</sup>, valamint a Klinikai és Laboratóriumi Minősítő Intézet (CLSI) megkeresésével érhetők el.<sup>7</sup>
- Kövesse intézménye biztonsági eljárásait a vegyszerek használatával és a biológiai minták kezelésével kapcsolatban.
- A teszt teljesítményjellemzőit kizárólag EDTA-csővekbe levett vérrrel határozták meg. A teszt funkcionalitását nem értékelték más mintatípusokkal.
- A megbízható eredmények a megfelelő mintagyűjtés, -szállítás, -tárolás és -feldolgozás függvényei. Helytelen vizsgálati eredmények adódhatnak a nem megfelelő mintagyűjtésből, kezelésből vagy tárolásból, technikai hibából, a minták összekeveréséből, vagy azért, mert a mintában lévő cél transzkriptumok a teszt kimutatási határértéke alatt vannak. A hibás eredmények elkerüléséhez a használati utasítás és a *GeneXpert Dx System Operator Manual* pontos betartása szükséges.
- Amennyiben az Xpert NPM1 Mutation tesztet az ajánlott készlet- vagy mintatárolási hőmérséklet-tartományokon és időn kívül végzi, az hibás vagy érvénytelen eredményeket okozhat.
- A biológiai mintákat, szállítóeszközöket és a használt kazettákat fertőző ágensek átvitelére alkalmasnak és standard óvintézkedéseket igénylőnek kell tekinteni. A használt kazetták és fel nem használt reagens megfelelő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse intézménye hulladékokra vonatkozó környezetvédelmi eljárásait. Ezek az anyagok kémiaiilag veszélyes hulladékok tulajdonságaival rendelkezhetnek, ezért specifikus nemzeti vagy regionális ártalmatlanítási eljárásokat igényelhetnek. Ha a nemzeti vagy regionális előírások nem nyújtanak világos utasítást a megfelelő ártalmatlanítással kapcsolatban, akkor a biológiai mintákat és a használt kazettákat a WHO (World Health Organization, Egészségügyi Világszervezet) egészségügyi hulladékkezelésre és -ártalmatlanításra vonatkozó irányelveit követve kell ártalmatlanítani<sup>8</sup>.

### 9.2 Minta

- Tartsa fenn a megfelelő tárolási feltételeket a minta sértetlenségének biztosítása érdekében (lásd: Rész 11, Mintagyűjtés és tárolás). A minta stabilitását nem értékelték az ajánlottaktól különböző szállítási körülmények között.
- Ne fagyassza le az EDTA perifériás vérmintát.
- A minta megfelelő levétele, tárolása és szállítása alapvető fontosságú a helyes eredmények biztosításához.

### 9.3 Teszt/reagens


- Ne helyettesítse az Xpert NPM1 Mutation reagenset más reagensekkel.
- Ne nyissa fel az Xpert NPM1 Mutation kazetta fedelét, kivéve minta és mosóreagens hozzáadásához.
- Ne használjon olyan kazettát, amelyet leejtettek, miután eltávolították a csomagolásból.
- Ne rázza a kazettát. A kazetta fedelének kinyitását követően a kazetta rázása vagy leejtése érvénytelen eredményeket okozhat.
- Ne helyezze a minta azonosítócímkéjét a kazettafedélre vagy a kazettán lévő vonalkódcímkére.
- Ne használjon sérült vonalkóddal rendelkező kazettát.

- Ne használjon olyan kazettát, amelynek sérült a reakciócsöve.
- Javasoljuk, hogy az Xpert NPM1 Mutation kazetták szobahőmérsékletűek (20 °C és 30 °C között) legyenek, amikor tesztelésre használják őket.
- Minden egyszer használatos Xpert NPM1 Mutation kazettával egy tesztet lehet feldolgozni. Ne használja újra a már feldolgozott kazettákat.
- Egy (1) mosóreagens-ampulla teljes tartalmát juttassa a mosóreagens-kamrába. A mosóreagens hozzáadásának elmulasztása hamis **NEM KIMUTATHATÓ (NOT DETECTED)** eredményt okozhat.
- Ne használja újra a pipettahegyeket.
- Ne használja a kazettát, ha az nedvesnek látszik vagy a fedelének lezárása láthatóan sérült.
- Ne használja az Xpert NPM1 Mutation kazettát, ha egy reagenst nem a megfelelő nyílásba helyeztek.
- Ne nyissa ki az Xpert NPM1 Mutation kazettákat a teszt befejeződése után.
- A pipetták és reagensek egy készletét kizárólag a minta-előkészítéshez használja.
- Viseljen tiszta laboratóriumi köpenyt és kesztyűt. Cseréljen kesztyűt az egyes minták kezelése között.
- A minták vagy a kontrollok kiömlése esetén viseljen kesztyűt, és itassa fel a kiömlött folyadékot papírtörülővel. Ezután alaposan tisztítsa meg a szennyezett területet frissen elkészített háztartási klórtartalmú fehérítő 1:10 arányban hígított keverékével. A végleges aktívklór-koncentrációnak 0,5%-nak kell lennie, függetlenül az Ön országában használt háztartási fehérítő koncentrációjától. Hagyjon legalább két perces érintkezési időt.
- Győződjön meg róla, hogy a munkaterület száraz, mielőtt 70%-os denaturált etanolt használ a fehérítő maradványainak eltávolítására. Mielőtt továbblépne, hagyja teljesen megszáradni a felületeket. Alternatívaként követheti intézménye szennyeződési vagy kiömlési eseményekre vonatkozó standard eljárásait is. Berendezés szennyeződése esetén kövesse a gyártó dekontaminálására vonatkozó ajánlásait.

## 10 Kémiai veszélyek

### Megjegyzés

Az alábbi információk a teljes termékre vonatkoznak, beleértve a következőket: proteináz K, lízis, mosó és öblítő reagensek.

- CLP GHS veszélyt jelző piktogram: 
- Figyelmeztetés: VESZÉLY
- **Az ENSZ GHS veszélyekre vonatkozó mondatai**
  - Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz H225.
  - Bőrirritáló hatású H315.
  - Súlyos szemirritációt okoz H319.
  - Álmoságot vagy szédülést okozhat H336.
  - Feltehetően genetikai károsodást okoz H341.
- **Az ENSZ GHS óvintézkedésekre vonatkozó mondatai**
  - **Megelőzés**
    - Speciális utasításokért használat előtt tekintse meg a Biztonsági adatlapot.
    - Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat.
    - Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.
    - Hőtől, szikrától, nyílt lángtól és/vagy forró felületektől távol tartandó. Tilos a dohányzás.
    - Az edény szorosan lezárva tartandó.
    - Kerülje a pára, gőz vagy spray belélegzését.
    - A használatot követően alaposan meg kell mosakodni.
    - Kizárólag szabadban vagy jól szellőző helyiségben használható.
    - Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.
    - Az előírt egyéni védőfelszerelés használata kötelező.
  - **Teendők**
    - TŰZ esetén: A tűzoltáshoz megfelelő oltószert használjon.
    - BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni.
    - Rosszullét esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.
    - HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozással.

- Szakellátás, lásd a kiegészítő elsősegély-nyújtási információkat.
- A szennyezett ruhát le kell vetni és az újbóli használat előtt ki kell mosni.
- Bőrirritáció esetén: Orvosi ellátást kell kérni.
- **SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN:** Óvatosan öblítse vízzel több percen keresztül! Távolítsa el a kontaktlencsét, ha van és ezt könnyű megtenni. Folytassa az öblítést.
- Ha a szemirritáció nem múlik el: Orvosi ellátást kell kérni.
- Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Orvosi ellátást kell kérni.
- **Tárolás/ártalmatlanítás**
  - Hűvös helyen tartandó.
  - Jól szellőző helyen tárolandó.
  - Az edény szorosan lezárva tartandó.
  - Elzárva tárolandó.
  - A tartalmat és/vagy a tartályt a helyi, regionális, nemzeti és/vagy nemzetközi előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.

## 11 A minta levétele és tárolása

- A perifériás vérmintákat EDTA-csövekbe kell levenni az intézmény irányelveit követve. A plazmát tilos elválasztani a sejtektől.
- A mintákat a tesztelés előtt legfeljebb 3 napig (72 óráig) 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten lehet tárolni.
- A teszt funkciója szempontjából kritikus fontosságú a minták megfelelő levétele és tárolása. A minta stabilitását nem értékelték az alábbi Rész 12 Eljárás fejezetben felsoroltaktól különböző tárolási körülmények között az Xpert NPM1 Mutation teszttel.

## 12 Eljárás

### 12.1 Kezdés előtt

Az eljárás elkezdése előtt húsz (20) perccel vegye ki a vérmintát, a minta-előkészítő reagenseket és kazettákat a hűtött tárolójukból, és hagyja, hogy szobahőmérsékletre melegedjenek. Rövid ideig centrifugálja le a proteináz K-t (PK) egy mikrocentrifugában.

---

**Fontos** Indítsa el a tesztet 1 órán belül a mintareagenssel kezelt minta kazettához való hozzáadása után.

---

**Fontos** A minta előkészítése előtt vegye ki a kazettát a kartoncsomagolásból. (Lásd: Rész 12.3, A kazetta előkészítése).

---

### 12.2 A minta előkészítése

#### 12.2.1 Ismeretlen fehérvérsejtszámú (FVS) minta vagy 30 millió FVS/ml alatti minták előkészítése

1. Adagoljon 100 µl PK-t (proteináz K) egy új, címkézett 50 ml-es kúpos cső aljára.
2. Gondoskodjon arról, hogy a vérminta jól el legyen keverve azáltal, hogy a vérvételi csövet 8-szor megfordítja közvetlenül a pipettázás előtt. Az EDTA vérvételi csőre vonatkozóan tekintse meg a gyártó utasításait.
3. A proteináz K-t már tartalmazó csőhöz adjon hozzá 4 ml vérmintát.
4. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 3 másodpercig.
5. Inkubálja 1 percig szobahőmérsékleten.
6. Ugyanahhoz a mintához adjon hozzá 2,5 ml lízis reagenst (LY).

---

**Megjegyzés** Tartsa meg a megmaradó lízis reagenst, hogy a 13. lépésben újra használhassa.

---

7. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 10 másodpercig.
8. Inkubálja 5 percig szobahőmérsékleten.
9. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 10 másodpercig.
10. Inkubálja 5 percig szobahőmérsékleten.



11. Keverje össze a mintát azáltal, hogy 10-szer megütögeti a cső alját.
12. Az előkészített lizátumból vigyen át 1 ml-t egy új, 50 ml-es kúpos csőbe.

**Megjegyzés**

A megmaradó lizátum 2–8 °C-on tárolható legfeljebb 48 óráig, illetve -20 °C-on vagy alacsonyabb hőmérsékleten legfeljebb 1 hónapig.

13. A lizátumot tartalmazó új, kúpos csőhöz adjon hozzá 1,5 ml-t a megtartott lízis reagensből (LY) a 6. lépésből.
14. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 10 másodpercig.
15. Inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten.
16. Ugyanahhoz a kúpos csőhöz adjon hozzá 2 ml reagens minőségű abszolút etanolt (a felhasználó által biztosítandó).
17. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 10 másodpercig. Tegye félre.
18. Ártalmatlanítsa a megmaradó PK vagy LY reagensket.

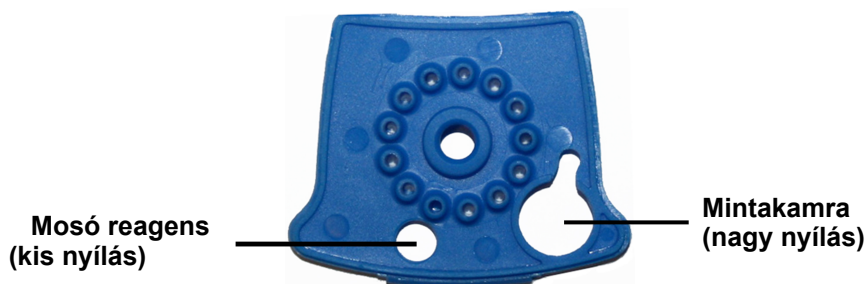
**12.2.2 Minta előkészítése 30 millió WBC/ml vagy annál nagyobb fehérvérsejtszámmal**

1. Adagoljon 100 µl PK-t egy új, 50 ml-es kúpos cső aljára.
2. Gondoskodjon arról, hogy a vérminta jól el legyen keverve azáltal, hogy a vérvételi csövet 8-szor megfordítja közvetlenül a pipettázás előtt. Az EDTA vérvételi csőre vonatkozóan tekintse meg a gyártó utasításait.
3. A PK-t már tartalmazó csőbe adagoljon 250 µl vérmintát és 3,75 ml 1xPBS-t (pH 7,4, a felhasználó által biztosítandó).
4. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 3 másodpercig.
5. Inkubálja 1 percig szobahőmérsékleten.
6. Kövesse a Rész 12.2.1 6–17. lépéseit a végső lizátum elkészítéséhez.
7. Ártalmatlanítsa a megmaradó PK vagy LY reagensket.

**12.3 A kazetta előkészítése**

A minta Xpert NPM1 Mutation kazettába helyezéséhez:

1. Vegye ki a kazettát a kartoncsomagolásból.
2. Vizsgálja meg a kazettát sérülés nyomait keresve. Ne használja, ha sérült.
3. Nyissa ki a kazettát a kazetta fedelének megemelésével, és vigye át egy (1) mosóreagens-ampulla teljes tartalmát a mosóreagens kamrájába (kis nyílás). Lásd Ábra 1.
4. Az előkészített minta teljes tartalmát (4,5 ml) pipettázza a mintakamrába (nagy nyílás). Lásd Ábra 1.



. ábra1. Xpert NPM1 Mutation Kazetta (felülnézet)

5. Csukja be a kazetta fedelét. Győződjön meg róla, hogy a fedél biztosan a helyére kattan. Indítsa el a tesztet (lásd: Rész 12.4, A teszt indítása).

**12.4 A teszt indítása**

**Fontos** Mielőtt elkezdheti a tesztet, győződjön meg róla, hogy a rendszeren az GeneXpert Dx szoftver 6.2 vagy későbbi verziója fut, és hogy a helyes tesztdefiníciós fájl importálva lett a szoftverbe. Ez a rész a GeneXpert Dx System működésének alapértelmezett lépéseit sorolja fel.

**Megjegyzés**

A követendő lépések az itt leírtaktól eltérhetnek, ha a rendszergazda módosította a rendszer alapértelmezett munkamenetét.

1. Kapcsolja be a GeneXpert rendszert úgy, hogy először bekapcsolja a GeneXpert Dx műszert, majd bekapcsolja a számítógépet. A GeneXpert Dx szoftver automatikusan elindul, vagy lehet, hogy kétszer az GeneXpert Dx szoftver parancsikonzára kell kattintani a Windows® asztalon.
2. Lépjen be az GeneXpert szoftverbe a felhasználóneve és jelszava segítségével.
3. A **GeneXpert rendszer** ablakban kattintson a **Teszt létrehozása (Create Test)** (GeneXpert Dx) lehetőségre. Megnyílik a **Teszt létrehozása (Create Test)** ablak.
4. Szkenelje vagy gépelje be a betegazonosítót (Patient ID). Ha begépel a Betegazonosítót, győződjön meg róla, hogy a Betegazonosítót helyesen gépel be. A Betegazonosító (Patient ID) a teszteredményhez kapcsolódik, illetve minden jelentéshez, és az **Eredmények megtekintése (View Results)** ablakban látható. Megjelenik a **Mintaazonosító vonalkód szkennelése (Scan Sample ID barcode)** párbeszédablak.
5. Szkenelje vagy gépelje be a Mintaazonosítót (Sample ID). Ha begépel a Mintaazonosítót, győződjön meg róla, hogy a Mintaazonosítót helyesen gépel be. A Mintaazonosító (Sample ID) az **Eredmények megtekintése (View Results)** ablak és az összes jelentés bal oldalán látható. Megjelenik a **Kazetta vonalkód szkennelése (Scan Cartridge Barcode)** párbeszédablak.
6. Szkenelje be a Xpert NPM1 Mutation kazettán található vonalkódot. A vonalkód-információ segítségével a szoftver automatikusan kitölti a következő mezőket: Reagens tételazonosítója (Reagent Lot ID), Kazetta sorozatszáma (Cartridge SN) és Lejárat dátum (Expiration Date).

### Megjegyzés

Ha a Xpert NPM1 Mutation kazettán lévő vonalkód nem szkennelhető, ismétlje meg a tesztet egy új kazettával. Ha beszkennelte a kazetta vonalkódját a szoftverbe, és a tesztdefiníciós fájl nem áll rendelkezésre, akkor képernyő jelenik meg, amely jelzi, hogy a tesztdefiníciós fájl nem lett betöltve a rendszerbe. Ha ez a képernyő jelenik meg, forduljon a Cepheid műszaki támogatásához.

7. Kattintson a **Teszt elkezdése (Start Test)** lehetőségre. Lehet, hogy be kell írnia a jelszavát a megjelenő párbeszédablakba.
8. Nyissa ki a zöld fényel villogó műszermodul ajtaját, és tölts be a kazettát.
9. Zárja be az ajtót. A teszt elindul, és a zöld fény folyamatosan világít. Ha a teszt befejeződött, a fény kikapcsol.
10. Várjon, amíg a rendszer kioldja az ajtózárat, mielőtt kinyitná a modul ajtaját, és eltávolítaná a kazettát.
11. Dobja ki a használt kazettákat a megfelelő minta-hulladékartályba az intézménye standard gyakorlatának megfelelően.

### Megjegyzés

Az eredmény eléréséig eltelt idő kevesebb, mint 3 óra (a minta lemezen kívüli előkészítése körülbelül 30 perc, a tesztelési idő pedig kevesebb mint 2,5 óra).

## 13 Eredmények megtekintése és kinyomtatása

Ez a rész felsorolja az eredmények megtekintésének és kinyomtatásának alapvető lépéseit. Az eredmények megtekintésével és nyomtatásával kapcsolatos részletesebb utasításokat lásd itt: *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Az eredmények megtekintéséhez kattintson az **Eredmények megtekintése (View Results)** ikonra.
- A teszt befejezésekor kattintson az **Eredmények megtekintése (View Results)** ablak **Jelentés (Report)** gombjára a PDF jelentésfájl megtekintéséhez és/vagy létrehozásához.

## 14 Minőség-ellenőrzés

Mindegyik teszt tartalmaz egy endogén kontrollt (ABL1) és egy próbaellenőrző kontrollt (Probe Check Control, PCC).

**ABL1 endogén kontroll** – Az ABL1 endogén kontroll ellenőrzi, hogy a teszt során elegendő mintát használnak-e. Ezenkívül a kontroll kimutatja a valós idejű PCR reakció mintához kapcsolódó gátlását. Az ABL1 sikeres, ha megfelel a hozzárendelt elfogadási kritériumoknak.

**Próbaellenőrző kontroll (PCC)** – A PCR-reakció elkezdése előtt a GeneXpert rendszer megméri a fluoreszcens jelet a próbákából a gyöngyök rehidratálásának, a reakciócső megtöltésének, valamint annak megfigyelése érdekében, hogy minden reakciós komponens működőképes-e a kazettában. A PCC sikeres, ha megfelel a hozzárendelt elfogadási kritériumoknak.

## 15 Az eredmények értelmezése

Az eredményeket automatikusan értelmezi a GeneXpert a mért fluoreszcens jelek és a beépített számítási algoritmusok segítségével, és ezek világosan megjelennek az Eredmények megtekintése (View Results) ablakban. A lehetséges eredményeket és értelmezéseket a Táblázat 1 mutatja.

Táblázat 1. Xpert NPM1 Mutation teszteredmények és értelmezésük

Eredmény	Értelmezés
<p><b>NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ (NPM1 Mutation DETECTED)</b></p> <p>Lásd Ábra 2, Ábra 3, Ábra 4</p>	<p>Az NPM1-mutáció transzkriptuma kimutatható.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ (NPM1 Mutation DETECTED) – az NPM1 transzkriptuma kimutatható, és a ciklusküszöb (Ct) az érvényes tartományon belül, a végpont pedig a beállított küszöbérték felett van.</li> <li>Lehetséges kimutatható eredmények: <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1-MUTÁCIÓ KIMUTATHATÓ [#,%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#,%]); Ábra 2.</li> <li>NPM1-MUTÁCIÓ KIMUTATHATÓ [Felső LoQ felett] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); Ábra 3.</li> <li>NPM1-MUTÁCIÓ KIMUTATHATÓ [LoD alatt; &lt;#,%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; &lt;#,%]); Ábra 4.</li> </ul> </li> <li>ABL SIKERES (PASS) – az ABL transzkriptuma kimutatható, és a ciklusküszöb (Ct) az érvényes tartományon belül, a végpont pedig a beállított küszöbérték felett van.</li> <li>Próbaellenőrzés SIKERES (PASS) – minden próbaellenőrzés eredménye sikeres.</li> </ul>
<p><b>NPM1-mutáció NEM KIMUTATHATÓ (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</b></p> <p>Lásd Ábra 5</p>	<p>Az NPM1-mutáció transzkriptuma nem kimutatható.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1-mutáció NEM KIMUTATHATÓ [Elegendő ABL-transzkriptum] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – az NPM1 transzkriptuma nem volt kimutatható, és a ciklusküszöb (Ct) nulla vagy az érvényes tartomány felső vége feletti, és/vagy a végpont a beállított küszöbérték alatt van.</li> <li>ABL SIKERES (PASS) – az ABL transzkriptuma kimutatható, és a ciklusküszöb (Ct) az érvényes tartományon belül, a végpont pedig a beállított küszöbérték felett van.</li> <li>Próbaellenőrzés SIKERES (PASS) – minden próbaellenőrzés eredménye sikeres.</li> </ul>
<p><b>ÉRVÉNYTELEN (INVALID)</b></p> <p>(Lásd itt Ábra 6, Ábra 7, Ábra 8, Ábra 9, Ábra 10)</p>	<p>Az NPM1-mutáció transzkriptumszintje nem határozható meg, mert a minta többlet NPM1-mutációs transzkriptumot és/vagy többlet vagy elégtelen ABL-transzkriptumot tartalmaz. A minta ismételt teszteléséhez lásd: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>NPM1-mutáció ÉRVÉNYTELEN (NPM1 Mutation INVALID) – az NPM1 ciklusküszöbe (Ct) nulla felett és az érvényes tartomány alsó határa alatt volt (Ábra 8, Ábra 9)</li> <li>ABL SIKERTELEN (FAIL) – az ABL ciklusküszöbe (Ct) nem volt az érvényes tartományon belül, vagy a végpont a beállított küszöbérték alatt volt (Ábra 6, Ábra 7, Ábra 8, Ábra 10).</li> <li>Próbaellenőrzés – SIKERES (PASS); minden próbaellenőrzés eredménye sikeres.</li> </ul>

Eredmény	Értelmezés
<b>HIBA (ERROR)</b> Lásd Ábra 11	<p>Az NPM1-mutáció transzkriptumszintje nem határozható meg. A minta ismételt teszteléséhez lásd: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• NPM1-mutáció NINCS EREDMÉNY (NO RESULT)</li><li>• ABL NINCS EREDMÉNY (NO RESULT)</li><li>• Próbaellenőrzés – SIKERTELEN (FAIL) – az összes vagy az egyik próbaellenőrzés eredménye sikertelen.</li><li>• Próbaellenőrzés SIKERES (PASS) vagy NA (nem alkalmazható), és Nyomásmegszakítás (Pressure Abort)*.</li></ul> <p>*A próbaellenőrzés sikeres teljesítése esetén a hibát az okozta, hogy a maximális nyomáskorlát túllépte az elfogadható tartományt, vagy egy rendszerkomponens meghibásodott.</p>
<b>NINCS EREDMÉNY (NO RESULT)</b>	<p>Az NPM1-mutáció transzkriptumszintje nem határozható meg. Nem gyűjtöttek elegendő adatot a teszteredmény megállapításához. Például olyankor fordulhat elő, ha a kezelő leállított egy folyamatban lévő tesztet. A minta ismételt teszteléséhez lásd: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• NPM1-mutáció NINCS EREDMÉNY (NO RESULT)</li><li>• ABL NINCS EREDMÉNY (NO RESULT)</li><li>• Próbaellenőrzés NA (nem alkalmazható)</li></ul>

## 16 Kvantitatív eredmények

Az Xpert NPM1 Mutation kvantitatív eredményei az NPM1-mutáció/ABL1 százalékos arányaként vannak kifejezve. A készletekhez tételspecifikus hatékonysági ( $E_{\Delta Ct}$ ) és skálázási faktort (SF) rendelnek, amelyek az NPM1-mutációs (A, B és D) és az ABL1-transzkriptumok mennyiségi meghatározását a szintetikus NPM1-mutációs és ABL1 *in vitro* átírt RNS (IVT-RNS) elsődleges standardjainak másolatszámaihoz kötik.

Táblázat 2. Példák az Xpert NPM1 Mutation teszt eredményeire

Teszt	NPM1-mutáns		ABL		Xpert NPM1 Mutation Teszteredmények	Megjegyzések
	CT	Eredmény <sup>a</sup>	CT	Eredmény <sup>a</sup>		
1	5,2	ÉRVÉNYTELEN (INVALID)	5,8	SIKERTELEN (FAIL)	ÉRVÉNYTELEN [Túl magas NPM1-mutációs és ABL-transzkriptum] INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript]	NA
2	9	ÉRVÉNYTELEN (INVALID)	5,5	SIKERTELEN (FAIL)	ÉRVÉNYTELEN [Túl magas ABL-transzkriptum] (INVALID [Too high ABL transcript])	NA
3	5,5	ÉRVÉNYTELEN (INVALID)	8,5	SIKERES (PASS)	ÉRVÉNYTELEN [Túl magas NPM1-mutációs transzkriptum] INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]	NA
4	25,0	ÉRVÉNYTELEN (INVALID)	21,8	SIKERTELEN (FAIL)	ÉRVÉNYTELEN [Elégtelen ABL transzkriptum] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	NA
5	0	ÉRVÉNYTELEN (INVALID)	0	SIKERTELEN (FAIL)	ÉRVÉNYTELEN [Nincs ABL transzkriptum] (INVALID [No ABL transcript])	NA
6	8,5	POZ (POS)	13,6	SIKERES (PASS)	NPM1-MUTÁCIÓ KIMUTATHATÓ [Felső LoQ felett] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]);	NA
7	22,5	POZ (POS)	14,8	SIKERES (PASS)	NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [1,05%] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Jelentett érték: 1,05%
8	27,9	POZ (POS)	14,0	SIKERES (PASS)	NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [LoD alatt; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%]); .	NA
9	0	NEG (NEG)	14,6	SIKERES (PASS)	NEGATÍV [Elegendő ABL-transzkriptum] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	NA
10	0	NINCS EREDMÉNY (NO RESULT)	0	NINCS EREDMÉNY (NO RESULT)	HIBA (ERROR)	Például 5017-es hiba [ABL] próbaellenőrzés sikertelen (Error 5017 [ABL] probe check failed)

<sup>a</sup> Részletekért lásd az Analiteredmények (Analyte Results) lapot a GeneXpert Dx rendszerszoftverben

## 16.1 NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [#,#%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])

Az NPM1-mutáció kimutatható #,#%-os szinten.

Az „NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [#,#%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])” eredmény esetén az NPM1-mutáció kimutatható, és az NPM1-mutációs Ct értéke nagyobb vagy egyenlő, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „32”, és az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20”. Az GeneXpert szoftver a következő egyenlettel számítja ki a %-os értéket, ahol a Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) értéket az ABL Ct mínusz az NPM1-mutációs Ct adja:

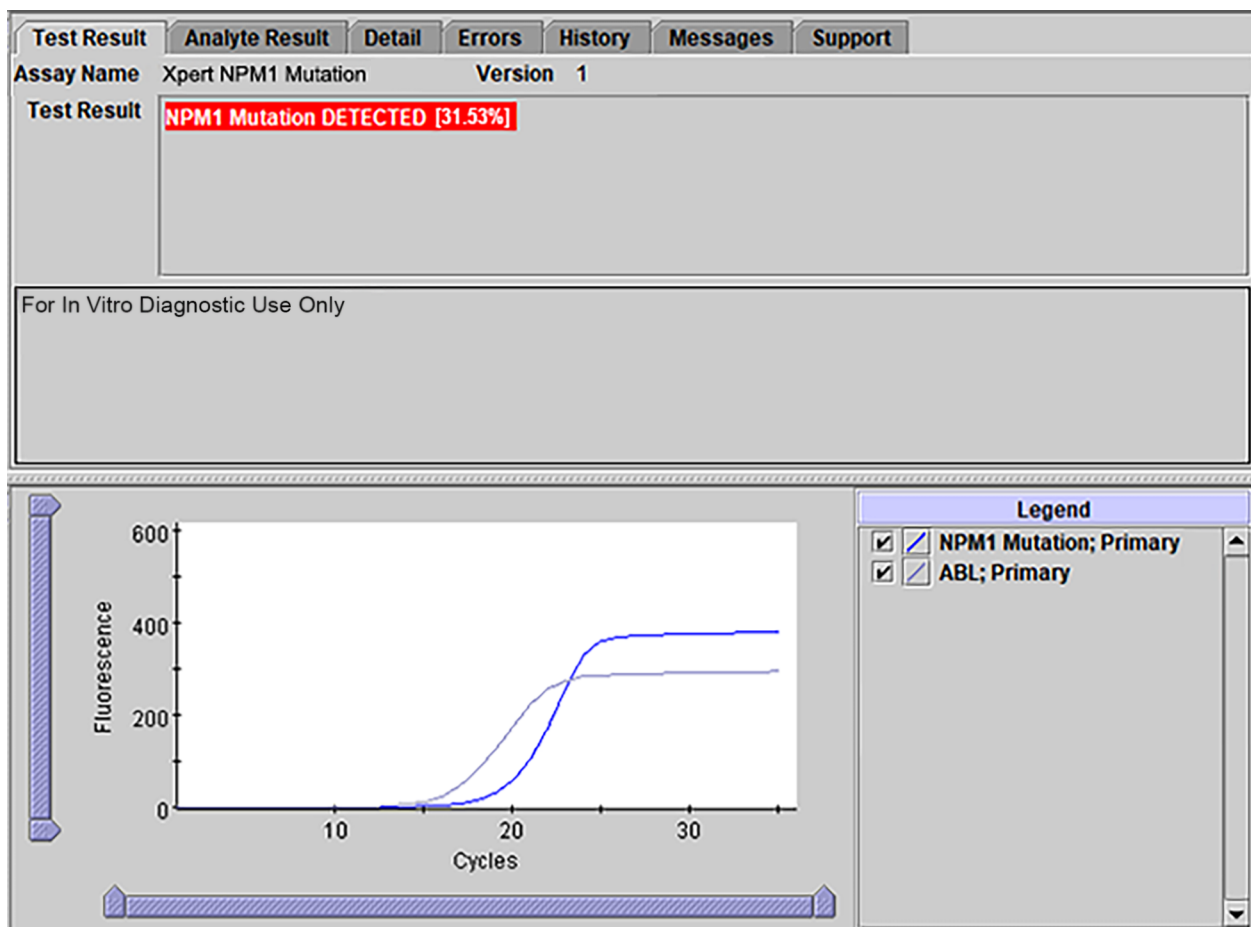
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{skalázási faktor}$$

### Megjegyzés

A skalázási faktor ( $SF$ ) egy tételspecifikus paraméter, amely a tesztkazetta vonalkódjába van beágyazva. Ennek a faktornak az értékét és a tételspecifikus teszthatékonyságot ( $E_{\Delta Ct}$ ) az egyes tesztételek minőség-ellenőrzési tesztelésével határozzák meg az NPM1-mutációs transzkriptum mennyiségi meghatározására szolgáló, szintetikus NPM1-mutációs és ABL1 *in vitro* ártírt RNS (IVT-RNS) kalibrátorok másolatszámára kalibrált elsődleges standardok használatával. Az itt bemutatott példában az  $E_{\Delta Ct}$  1,95-re, az  $SF$ -érték pedig 1,79-re van beállítva.

**Példa:** Tételspecifikus  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Teszt ABL Ct = 14,5; NPM1-mutációs Ct = 17,1;  $\Delta Ct = -2,6$   
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

**Eredmény:** NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]) Lásd Ábra 2.



Ábra 2. GeneXpert Dx Eredmények megtekintése (View Results) ablak: NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

## 16.2 NPM1-MUTÁCIÓ KIMUTATHATÓ [Felső LoQ felett] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]);

Az NPM1-mutáció kimutatható >500%-os szinten.

Az „NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [Felső LoQ felett] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])” eredmény esetén az NPM1-mutáció kimutatható, és az NPM1-mutációs Ct értéke nagyobb vagy egyenlő, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „32”, és az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20”. Az GeneXpert szoftver a következő egyenlettel számítja ki a %-os értéket, ahol a Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) értéket az ABL Ct mínusz az NPM1-mutációs Ct adja:

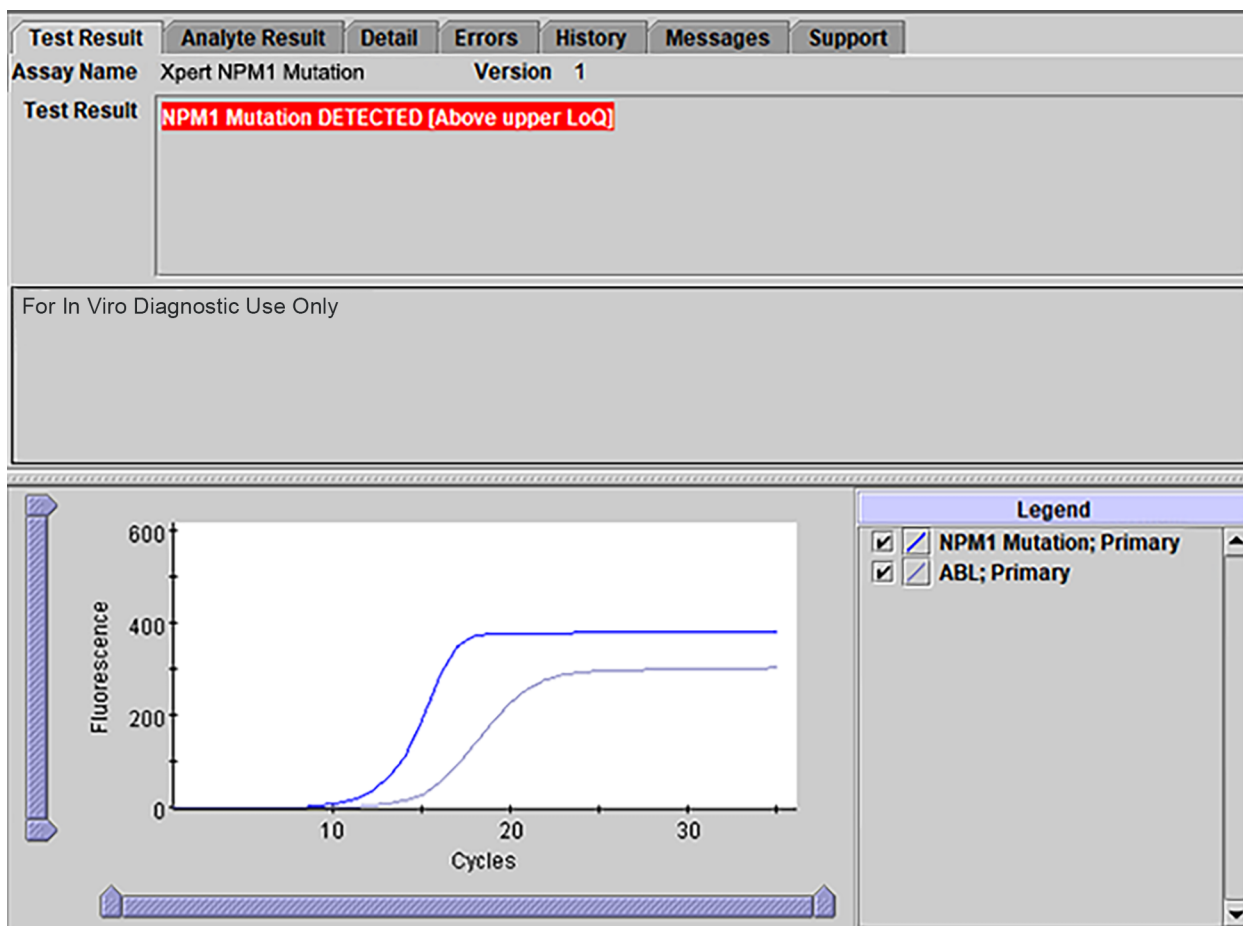
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{skalázási faktor (SF)}$$

A skalázási faktor (SF) egy tételspecifikus paraméter, amely a tesztkazetta vonalkódjába van beágyazva. Ennek a faktornak az értékét és a tételspecifikus teszthatékonyságot ( $E_{\Delta Ct}$ ) az egyes tesztételek minőség-ellenőrzési tesztelésével határozzák meg az NPM1-mutációs transzkriptum mennyiségi meghatározására szolgáló, szintetikus NPM1-mutációs és ABL1 *in vitro* átírt RNS (IVT-RNS) kalibrátorok másolatszámára kalibrált elsődleges standardok használatával. Az itt bemutatott példában az  $E_{\Delta Ct}$  1,95-re, az SF-érték pedig 1,79-re van beállítva.

### Megjegyzés

**Példa:** Tételspecifikus  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Teszt ABL Ct = 13,4; NPM1-mutációs Ct = 10,2;  $\Delta Ct = 3,2$   
 A %-os arány =  $1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$  nagyobb, mint a teszt meghatározott felső LoQ-értéke 500%-nál

**Eredmény:** NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [Felső LoQ felett] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]). Lásd Ábra 3.



Ábra 3. GeneXpert Dx Eredmények megtekintése (View Results) ablak: NPM1-MUTÁCIÓ KIMUTATHATÓ [Felső LoQ felett] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]);

## 16.3 NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [LoD alatt; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%]); .

Az NPM1-mutáció kimutatható <0,030%-os szinten.

Az „NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [LoD alatt; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])” eredmény esetén az NPM1-mutáció kimutatható, és az NPM1-mutációs Ct értéke nagyobb vagy egyenlő, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „32”, és az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20”. Az GeneXpert szoftver a következő egyenlettel számítja ki a %-os értéket, ahol a Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) értéket az ABL Ct mínusz az NPM1-mutációs Ct adja:

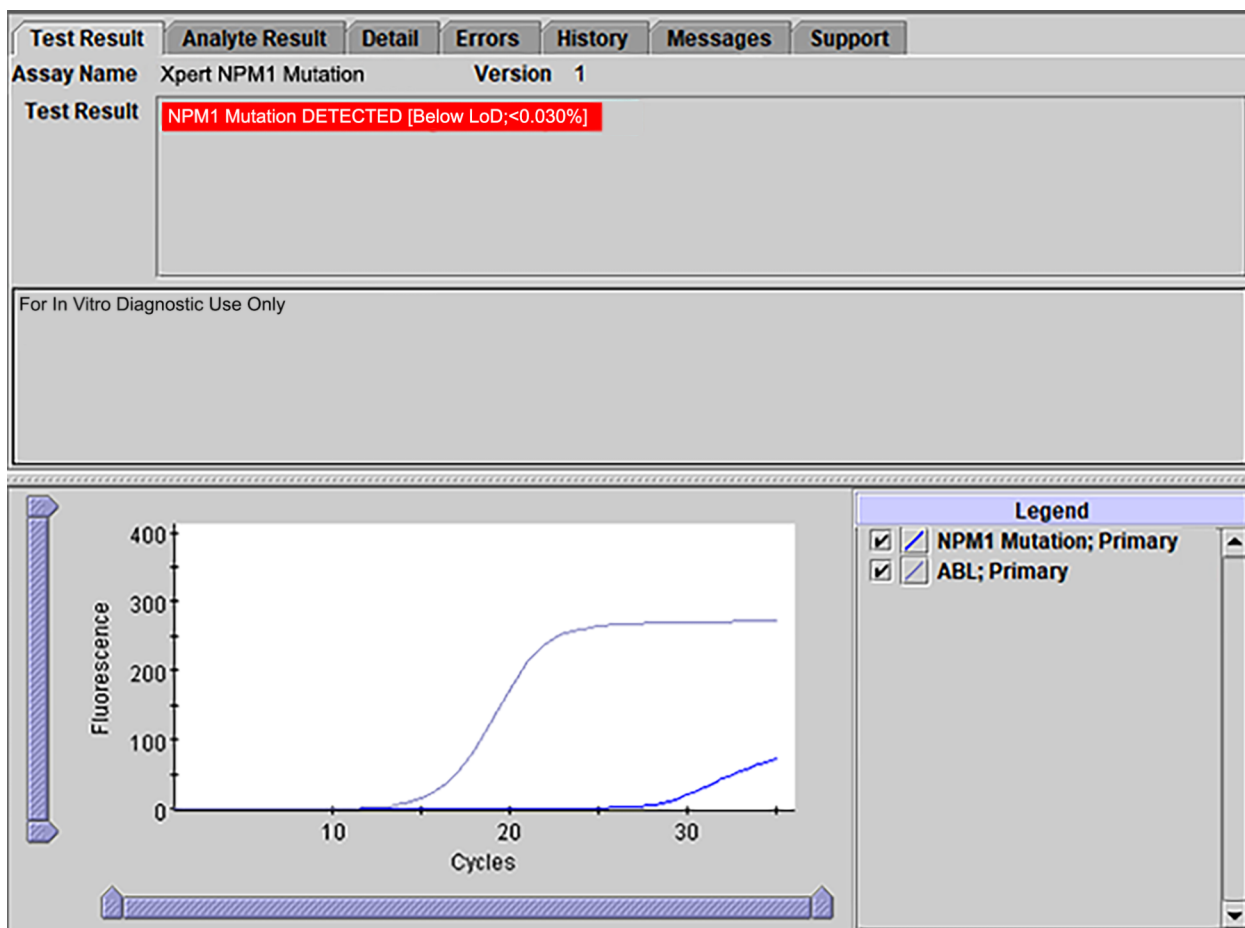
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{skalázási faktor (SF)}$$

A skalázási faktor (SF) egy tételspecifikus paraméter, amely a tesztkazetta vonalkódjába van beágyazva. Ennek a faktornak az értékét és a tételspecifikus teszthatékonyságot ( $E_{\Delta Ct}$ ) az egyes teszttételek minőség-ellenőrzési tesztelésével határozzák meg az NPM1-mutációs transzkriptum mennyiségi meghatározására szolgáló, szintetikus NPM1-mutációs és ABL1 *in vitro* átírt RNS (IVT-RNS) kalibrátorok másolatszámára kalibrált elsődleges standardok használatával. Az itt bemutatott példában az  $E_{\Delta Ct}$  1,95-re, az SF-érték pedig 1,79-re van beállítva.

### Megjegyzés

**Példa:** Tételspecifikus  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Teszt ABL Ct = 14,3; NPM1-mutációs Ct = 28,8;  $\Delta Ct = -14,5$   
 A %-os arány =  $1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$  kisebb, mint a teszt meghatározott LoD-értéke 0,030%-nál

**Eredmény:** NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [LoD alatt; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%]). Lásd Ábra 4.



Ábra 4. GeneXpert Eredmények megtekintése (View results) ablak NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [LoD alatt; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%]); .



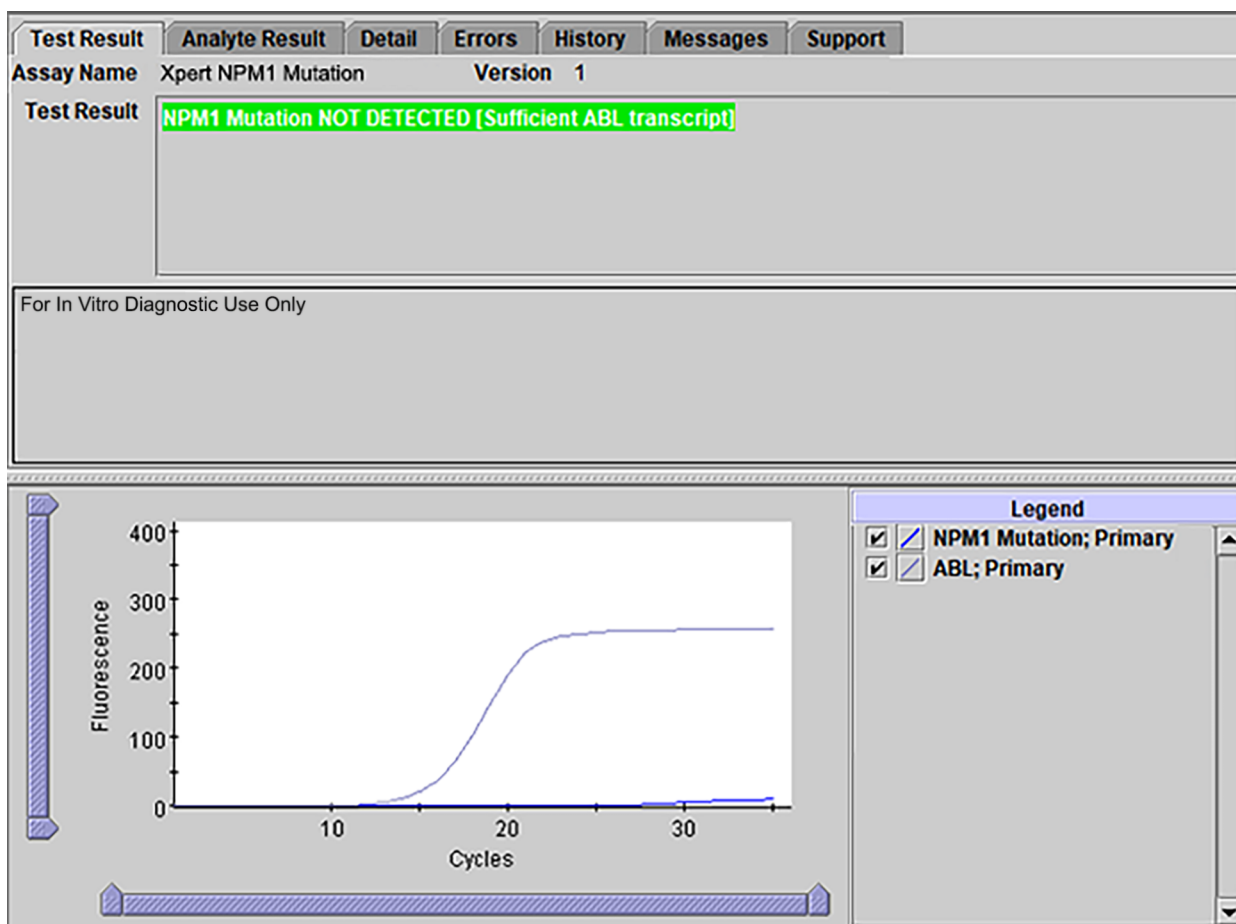
## 16.4 NPM1-mutáció NEM KIMUTATHATÓ [Elegendő ABL-transzkriptum] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

Nem mutattak ki NPM1-mutációt, és az NPM1 Ct „0” vagy nagyobb mint „32”, és az ABL Ct nagyobb, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20”.

A GeneXpert szoftver megköveteli, hogy az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő legyen, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20” ahhoz, hogy az Xpert NPM1 Mutation teszthez biztosan „Elegendő ABL-transzkriptum” (Sufficient ABL transcript) álljon rendelkezésre. Lásd: Rész 15, Eredmények értelmezése, 1. táblázat.

**Példa:** A teszt NPM1-mutációs Ct értéke = 0; az ABL Ct = 14,0, ami „6” és „20” között van.

**Eredmény:** NPM1-mutáció NEM KIMUTATHATÓ [Elegendő ABL-transzkriptum] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]). Lásd Ábra 5.



. ábra5. GeneXpert Eredmények megtekintése (View results) ablak NPM1-mutáció NEM KIMUTATHATÓ [Elegendő ABL-transzkriptum] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

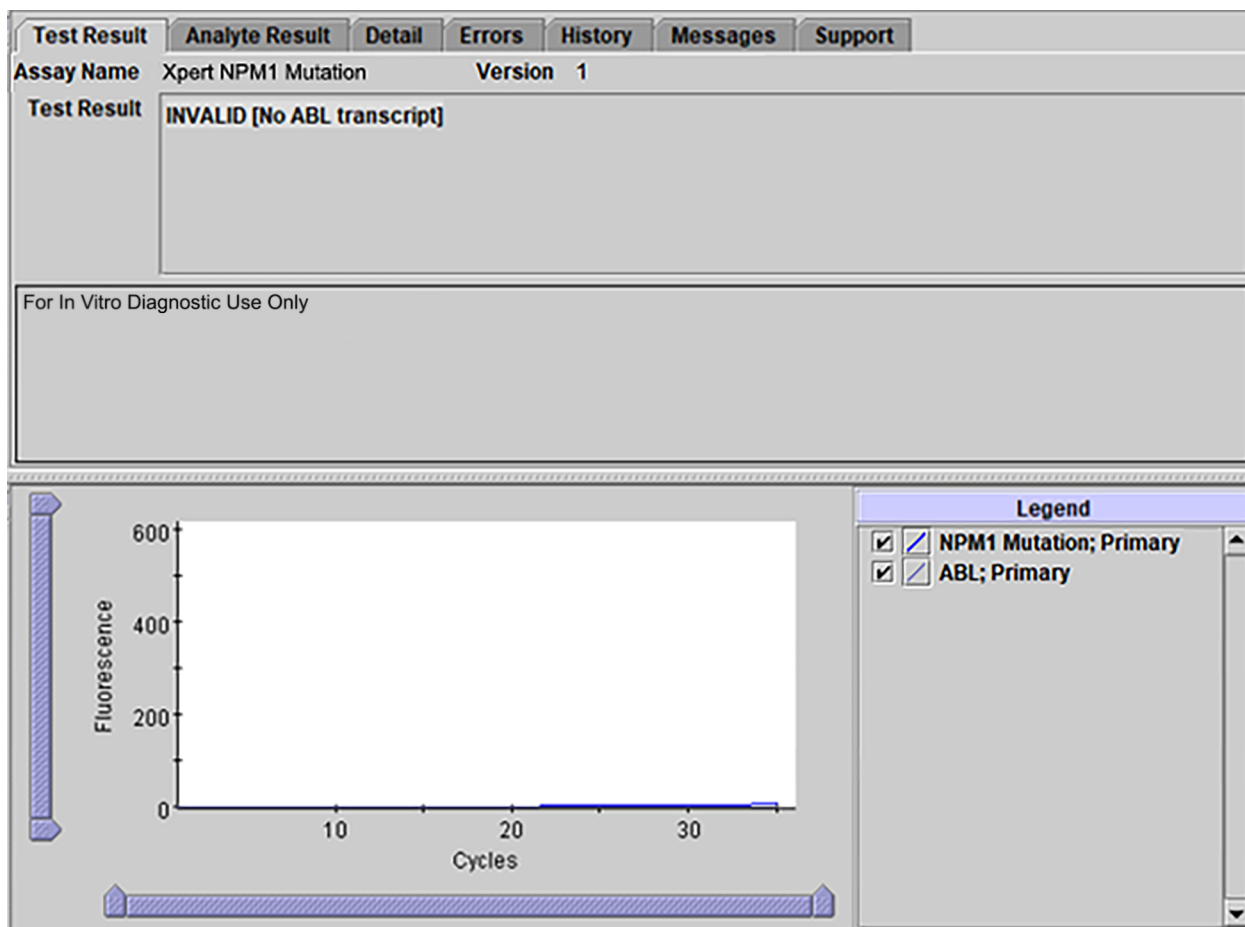
## 16.5 ÉRVÉNYTELEN [Nincs ABL transzkriptum] (INVALID [No ABL transcript])

NPM1-mutáció kimutatható vagy nem kimutatható „0” ABL Ct esetén.

A GeneXpert szoftver megköveteli, hogy az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő legyen, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20” ahhoz, hogy az Xpert NPM1 Mutation teszthez biztosan „Elegendő ABL-transzkriptum” (Sufficient ABL transcript) álljon rendelkezésre. Lásd: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.

**Példa:** Teszt NPM1-mutációs Ct = 0; ABL Ct = 0.

**Eredmény:** **ÉRVÉNYTELEN [Nincs ABL transzkriptum] (INVALID [No ABL transcript])**. Lásd Ábra 6.



Ábra 6. GeneXpert Eredmények megtekintése (View results) ablak  
ÉRVÉNYTELEN [Nincs ABL transzkriptum] (INVALID [No ABL transcript])

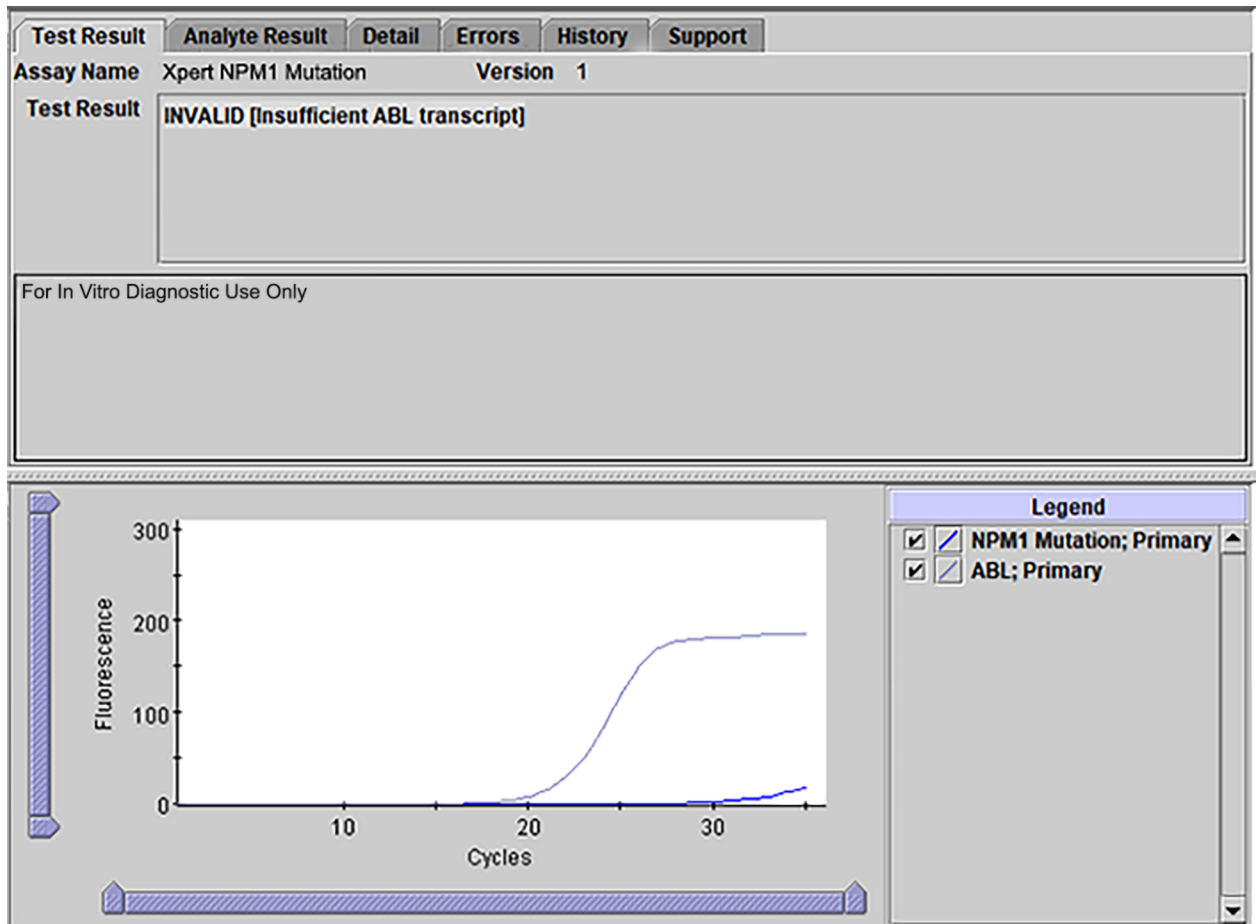
## 16.6 ÉRVÉNYTELEN [Elégtelen ABL transzkriptum] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

NPM1-mutáció kimutatható vagy nem kimutatható „20-nál” nagyobb ABL Ct esetén.

A GeneXpert szoftver megköveteli, hogy az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő legyen, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20” ahhoz, hogy az Xpert NPM1 Mutation teszthez biztosan „Elegendő ABL-transzkriptum” (Sufficient ABL transcript) álljon rendelkezésre. Lásd: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.

**Példa:** Teszt NPM1-mutációs Ct = 33,3; ABL Ct = 20,2 nagyobb, mint „20”.

**Eredmény:** **ÉRVÉNYTELEN [Elégtelen ABL transzkriptum] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Lásd Ábra 7.



. ábra7. GeneXpert Eredmények megtekintése (View results) ablak ÉRVÉNYTELEN [Elégtelen ABL transzkriptum] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

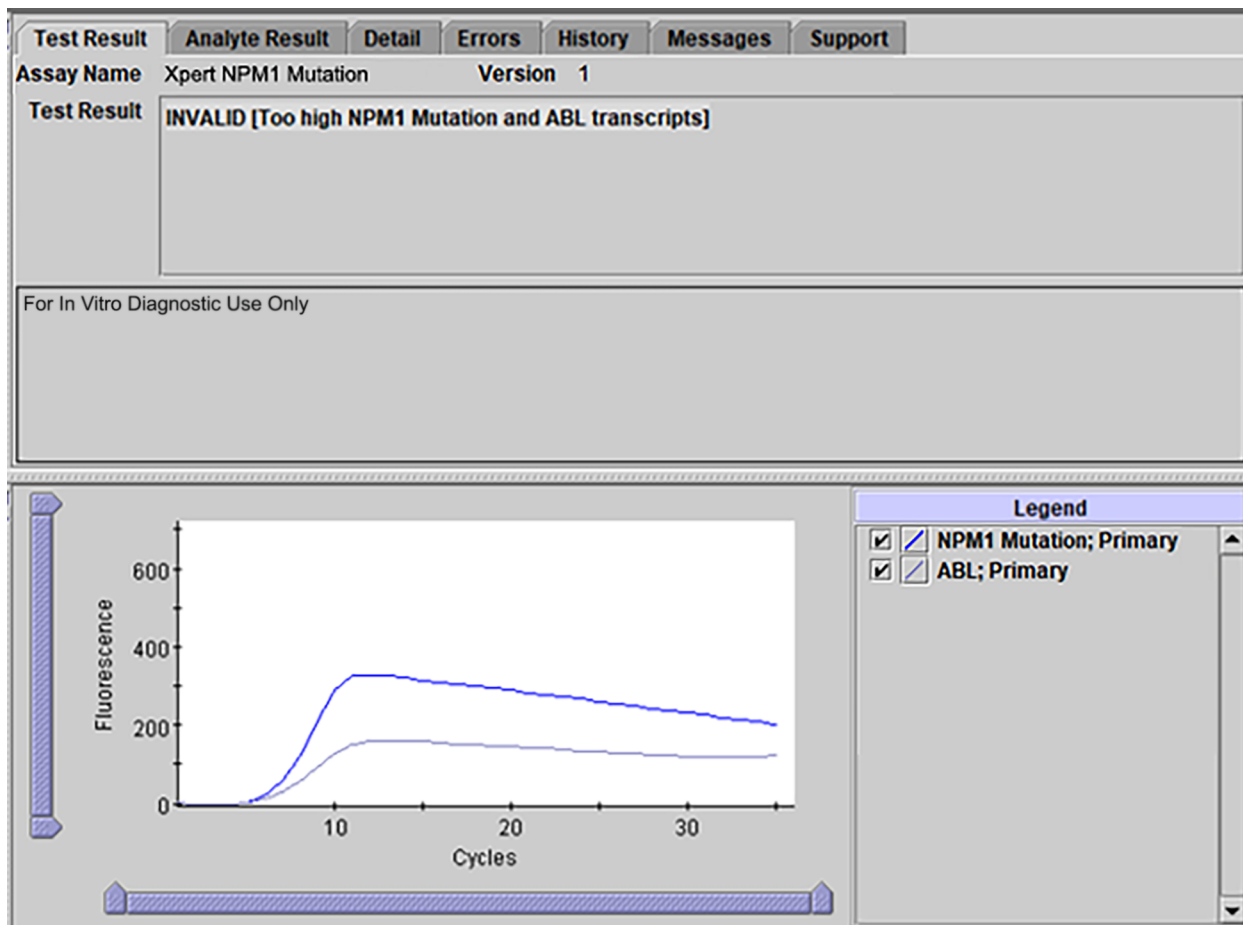
## 16.7 ÉRVÉNYTELEN [Túl magas NPM1-mutációs és ABL-transzkriptum] INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript]

Az NPM1-mutációt a „0”-nál nagyobb és „6”-nál kisebb NPM1-mutációs és ABL Ct-k esetében is kimutatták.

A GeneXpert szoftver megköveteli, hogy az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő legyen, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20” ahhoz, hogy az Xpert NPM1 Mutation teszthez biztosan „Elegendő ABL-transzkriptum” (Sufficient ABL transcript) álljon rendelkezésre. Lásd: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.

**Példa:** A teszt NPM1-mutációs Ct = 5,4 értéke nagyobb, mint „0”, és kisebb, mint „6”; az ABL Ct = 5,9 kisebb, mint „6”.

**Eredmény:** **ÉRVÉNYTELEN [Túl magas NPM1-mutációs és ABL-transzkriptum] INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript]**. Lásd Ábra 8.



Ábra 8. GeneXpert Dx Eredmények megtekintése (View Results) ablak: **ÉRVÉNYTELEN [Túl magas NPM1-mutációs és ABL-transzkriptum] INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript]**

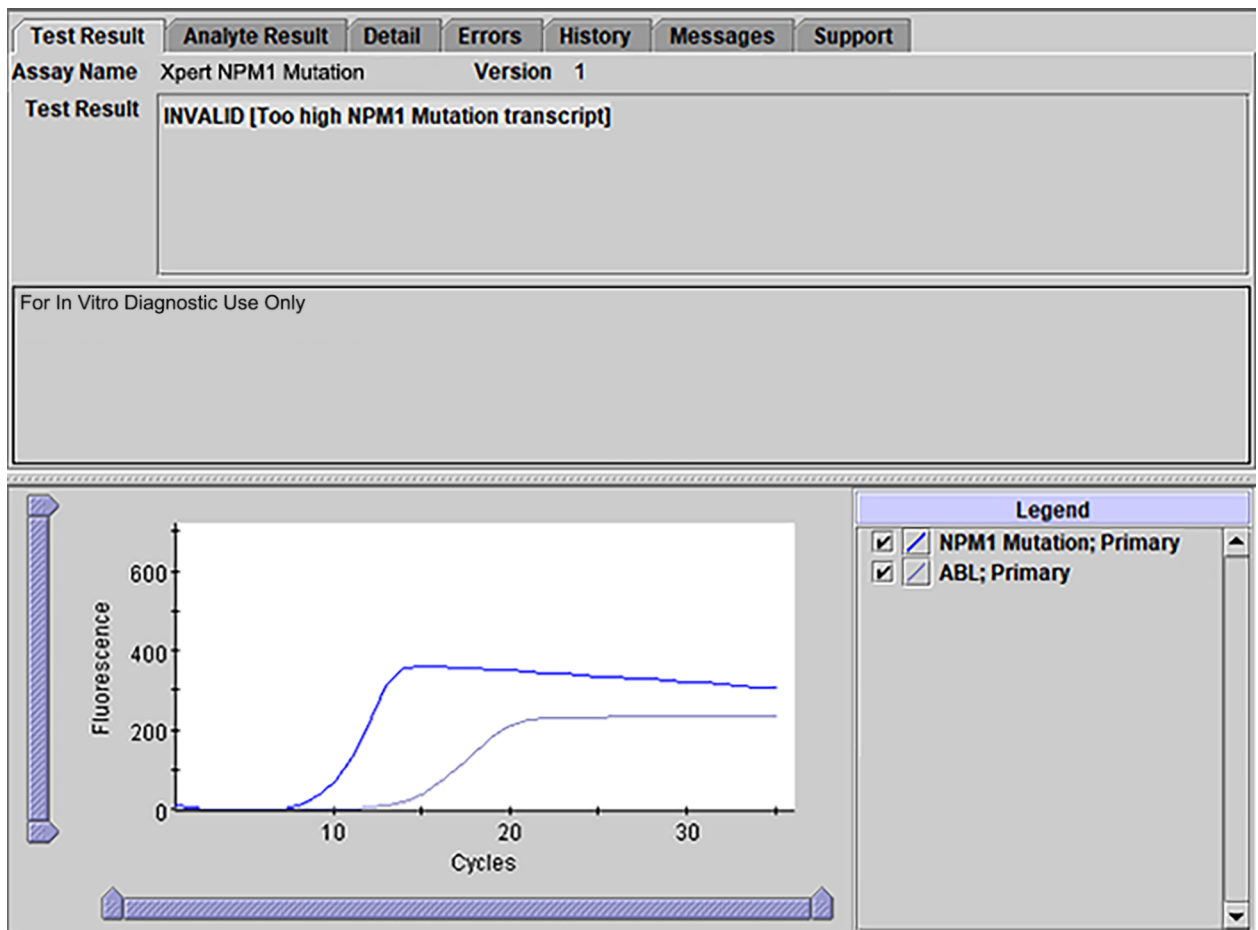
## 16.8 ÉRVÉNYTELEN [Túl magas NPM1-mutációs transzkriptum] INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]

NPM1-mutációt mutattak ki, és az NPM1-mutációs Ct nagyobb, mint „0” és kisebb, mint „6”, és az ABL Ct nagyobb, mint „6”, és kisebb vagy egyenlő, mint „20”.

A GeneXpert szoftver megköveteli, hogy az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő legyen, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20” ahhoz, hogy az Xpert NPM1 Mutation teszthez biztosan „Elegendő ABL-transzkriptum” (Sufficient ABL transcript) álljon rendelkezésre. Lásd: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.

**Példa:** A teszt NPM1-mutációs Ct = 5,8 értéke nagyobb, mint „0”, és kisebb, mint „6”; az ABL Ct = 13 „6”-és „20” közötti.

**Eredmény:** **ÉRVÉNYTELEN [Túl magas NPM1-mutációs transzkriptum] INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]**. Lásd Ábra 9.



Ábra 9. GeneXpert Eredmények megtekintése (View results) ablak **ÉRVÉNYTELEN [Túl magas NPM1-mutációs transzkriptum] INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]**

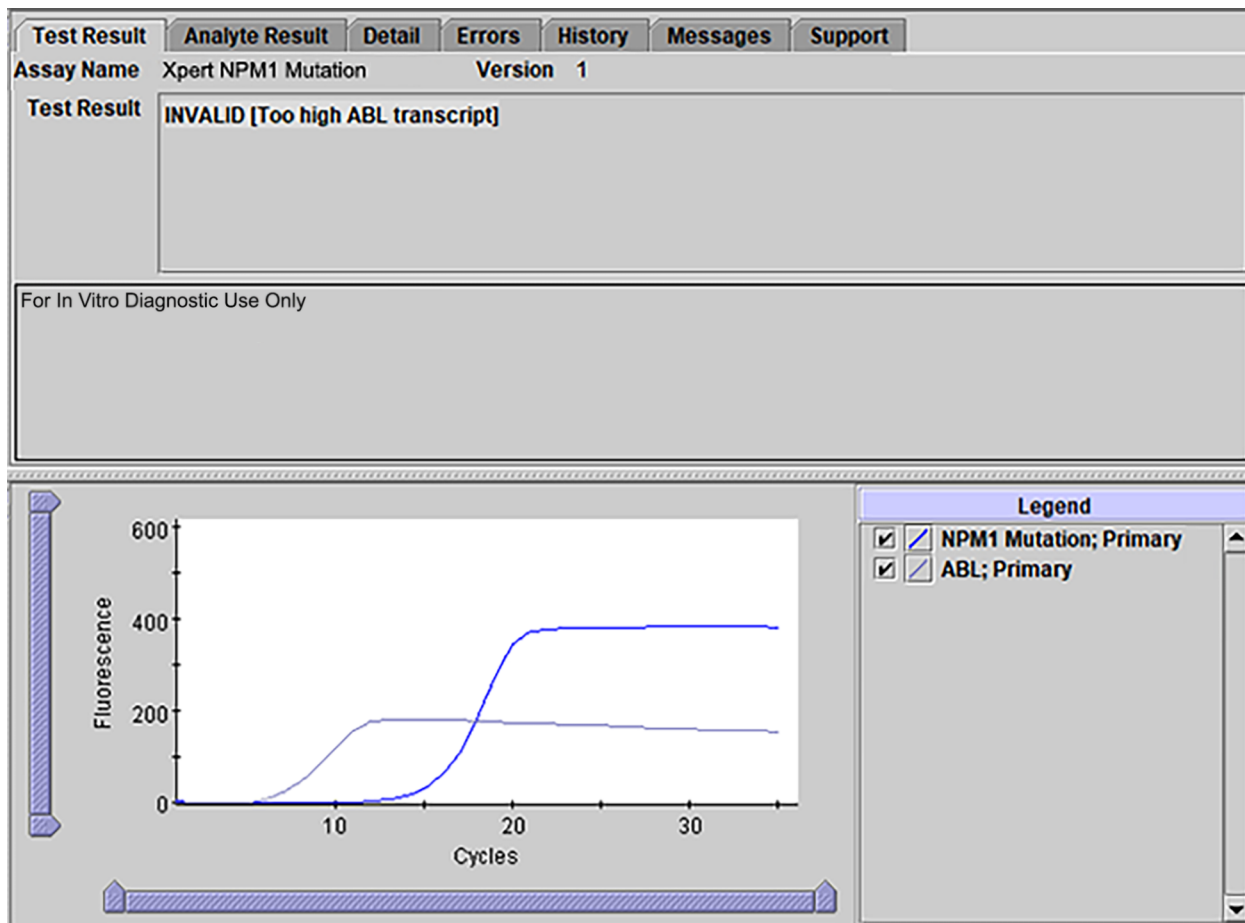
## 16.9 ÉRVÉNYTELEN [Túl magas ABL-mutációs transzkriptum] INVALID [Too high ABL Mutation transcript]

NPM1-mutációt mutattak ki, és az NPM1-mutációs Ct nagyobb, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „32”, és az ABL Ct nem „0”, és kisebb, mint „6”.

A GeneXpert szoftver megköveteli, hogy az ABL Ct nagyobb vagy egyenlő legyen, mint „6” és kisebb vagy egyenlő, mint „20” ahhoz, hogy az Xpert NPM1 Mutation teszthez biztosan „Elegendő ABL-transzkriptum” (Sufficient ABL transcript) álljon rendelkezésre. Lásd: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.

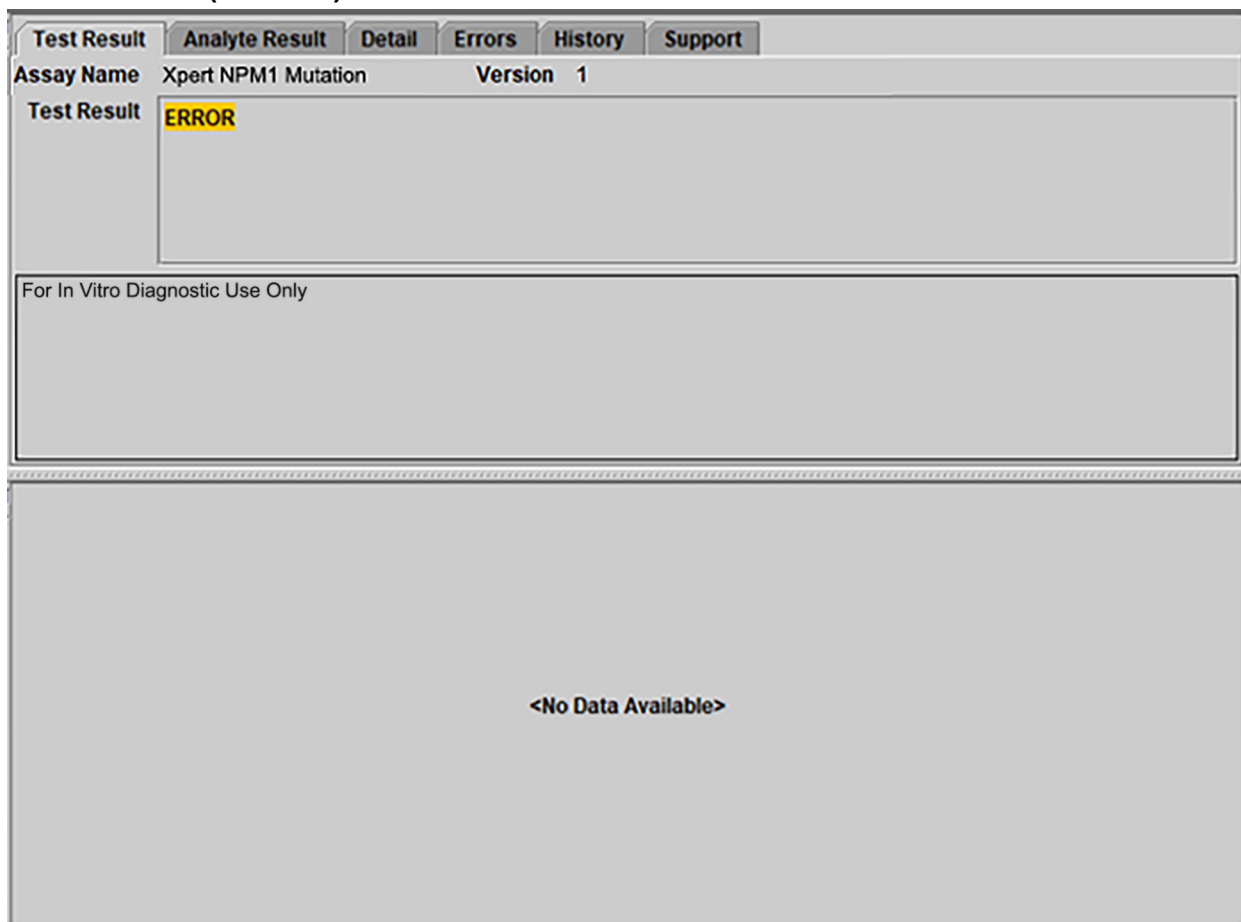
**Példa:** Teszt NPM1-mutációs Ct = 13,2; ABL Ct = 5,8, ami kisebb, mint „6”.

**Eredmény:** **ÉRVÉNYTELEN [Túl magas ABL transzkriptum] (INVALID [Too high ABL transcript]).**  
Lásd Ábra 10.



Ábra 10. GeneXpert Eredmények megtekintése (View results) ablak ÉRVÉNYTELEN [Túl magas ABL transzkriptum] (INVALID [Too high ABL transcript])

## 16.10 HIBA (ERROR)



. ábra11. GeneXpert Eredmények megtekintése (View results) ablak HIBA (ERROR)

## 17 A teszt korlátai

- A teszt nem használható külső kalibrátorokkal.
- Ezen eljárások módosítása befolyásolhatja a teszt teljesítményét.
- Ezt a terméket kizárólag EDTA-csővekben gyűjtött vérrel való használatra tervezték.
- Ne használjon heparint antikoagulánsként, mert az gátolhatja a PCR reakciót.
- A nátrium-citrát, buffy-coat és csontvelő mintatípusokat nem validálták.
- Hibás teszteredmények jelentkezhetnek nem megfelelő mintavétel, -kezelés vagy -tárolás, illetve a minták összekeverése esetén. A hibás eredmények elkerüléséhez a használati utasításban szereplő utasítások pontos betartása szükséges.
- A primer vagy próba kötőhelyeinek mutációi vagy polimorfjai befolyásolhatják az új vagy ismeretlen variánsok kimutatását, és álnegatív eredményhez vezethetnek.
- A túlzottan magas fehérvérsejtszám nyomást okozhat a kazettában, ami megszakított futtatáshoz vagy pontatlan eredményekhez vezethet.
- Bizonyos, nagyon alacsony ABL-transzkriptumszinttel vagy 150 000 sejt/ml alatti fehérvérsejtszámmal rendelkező minták **ÉRVÉNYTELEN (INVALID)** (1-es típusú) eredménnyel kerülhetnek jelentésre. A meghatározhatatlan eredmény nem zárja ki annak a lehetőségét, hogy a mintában nagyon alacsony mennyiségben leukémiás sejtek vannak jelen.

## 18 Hibaelhárítási útmutató

Táblázat 3. Hibaelhárítási útmutató

Teszteredmény	Lehetséges okok	Ajánlások
<b>ÉRVÉNYTELEN (INVALID)</b>	1-es típus: Endogén kontroll ABL elégtelenség: <ul style="list-style-type: none"> <li>Rossz minőségű minta</li> <li>RT-PCR gátlás</li> <li>Az ABL Ct &gt;20 és/vagy a végpont &lt;100</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ellenőrizze a minta minőségét (pl. túllépték a tárolási korlátokat, beleértve az időt és a hőmérsékletet).</li> <li>Ismételje meg a tesztet az eredeti mintával (ha rendelkezésre áll) vagy a megtartott lizátummal és egy új kazettával az itt leírt eljárást követve: Rész 19.1, Ismételt tesztelési eljárás HIBA (ERROR) vagy ÉRVÉNYTELEN (INVALID) (1-es típusú) eredmény esetén.</li> </ul>
	2-es típus: Az NPM1-mutáció transzkriptumszintje nem határozható meg, mert a minta többlet NPM1-mutációs transzkriptumot és/vagy többlet ABL-transzkriptumot tartalmaz (Ct <6)	Ismételje meg a tesztet az eredeti mintával (ha rendelkezésre áll) vagy a megtartott lizátummal és egy új kazettával az itt leírt eljárást követve: Rész 19.2, Ismételt tesztelési eljárás HIBA (ERROR) (kód: 2008) vagy ÉRVÉNYTELEN (INVALID) (2-es típusú) eredmény esetén.
<b>HIBA (ERROR)</b> (kód: 2008)	A nyomás meghaladja a határértéket (hibaüzenet: 2008)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ellenőrizze a minta minőségét</li> <li>Ellenőrizze, hogy az FVS szám jelentősen megemelkedett-e</li> <li>Ismételje meg a tesztet az eredeti mintával (ha rendelkezésre áll) vagy a megtartott lizátummal és egy új kazettával az itt leírt eljárást követve: Rész 19.2, Ismételt tesztelési eljárás HIBA (ERROR) (kód: 2008) vagy ÉRVÉNYTELEN (INVALID) (2-es típusú) eredmény esetén.</li> </ul>
<b>HIBA (ERROR)</b> (kód: 5006, 5007, 5008 és 5009*) *Ez a hibakódok nem teljes listája.	A próbaellenőrzés sikertelen	Ismételje meg a tesztet az eredeti mintával (ha rendelkezésre áll) vagy a megtartott lizátummal és egy új kazettával az itt leírt eljárást követve: Rész 19.1, Ismételt tesztelési eljárás HIBA (ERROR) vagy ÉRVÉNYTELEN (INVALID) (1-es típusú) eredmény esetén.
<b>NINCS EREDMÉNY (NO RESULT)</b>	Az adatgyűjtés sikertelen. Például a kezelő megállított egy olyan tesztet, amely folyamatban volt, vagy áramszünet jelentkezett.	Ismételje meg a tesztet az eredeti mintával (ha rendelkezésre áll) vagy a megtartott lizátummal és egy új kazettával az itt leírt eljárást követve: Rész 19.1, Ismételt tesztelési eljárás HIBA (ERROR) vagy ÉRVÉNYTELEN (INVALID) (1-es típusú) eredmény esetén.



## 19 Újratesztelések

### 19.1 Ismételt tesztelési eljárás HIBA (ERROR) vagy ÉRVÉNYTELEN (INVALID) (1-es típusú) eredmény esetén

Végezzen ismételt tesztelést azokon a mintákon, amelyek **HIBA (ERROR)** vagy **ÉRVÉNYTELEN (INVALID)** eredményt adnak amiatt, hogy az ABL ciklusküszöb (Ct) túllépi a maximális érvényes Ct-t (Ct > 20), vagy a végpont a küszöbérték-beállítás alatti (<100). Lásd még: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.

1. Ha elegendő térfogatú vérminta áll rendelkezésre, végezzen ismételt tesztelést az eredeti vérminta-gyűjtő csőből a Rész 12.2 által leírt eljárás alapján.

-VAGY-

Ha a vérminta térfogata elégtelen, akkor az ismételt tesztelés a Rész 12.2.1 12. lépésében megtartott lizátummal végezhető el.

- a. A Rész 12.2.1 12. lépésében megtartott lizátumot fagyaszttva kell tárolni, és használat előtt szobahőmérsékletre kell olvasztani.
  - b. Győződjön meg róla, hogy a lizátum jól össze van keverve azáltal, hogy a mintát egy vortex keverővel folyamatosan keveri a maximális beállításon 10 másodpercig, és tegye félre 3 percre, hogy a buborékok leülepedjenek.
2. Az előkészített lizátumból vigyen át 1 ml-t egy új, 50 ml-es kúpos csőbe.
  3. Kövesse a Rész 12.2.1 13–17. lépéseit a végső lizátum elkészítéséhez.
  4. Nyissa ki a kazettát a kazetta fedelének megemelésével, és vigye át egy (1) mosóreagens-ampulla teljes tartalmát a mosóreagens kamrájába (kis nyílás). Lásd Ábra 1.
  5. Az előkészített minta teljes tartalmát pipettázza a mintakamrába (nagy nyílás). Lásd Ábra 1.
  6. Csukja be a kazetta fedelét. Indítsa el a tesztet (lásd: Rész 12.4, A teszt indítása).

### 19.2 Ismételt tesztelési eljárás HIBA (ERROR) (kód: 2008) vagy ÉRVÉNYTELEN (INVALID) (2-es típusú) eredmény esetén

Végezzen ismételt tesztelést azokon a mintákon, amelyek NPM1-mutációs és/vagy ABL-transzkriptumszintje az érvényes minimum Ct határérték alatti (Ct > 0 and Ct < 6), és/vagy túllépi a nyomás határértékét. Lásd még: Rész 18, Hibaelhárítási útmutató.

1. Adagoljon 100 µl PK-t (proteináz K) egy új, 50 ml-es kúpos cső aljára.
2. Gondoskodjon arról, hogy a Rész 12.2 12. lépéséből származó vérminta vagy maradék lizátum jól össze legyen keverve úgy, hogy közvetlenül a pipettázás előtt nyolcszor megfordítja a csövet.
3. A Proteináz K-t már tartalmazó csőbe adagoljon 250 µl vérmintát és 3,75 ml PBS-t (pH 7,4, a felhasználó által biztosítandó), ha rendelkezésre áll; vagy a Rész 12.2.1 12. lépéséből megőrzött 60 µl lizátumot.
  - a. A Rész 12.2.1 12. lépésében megtartott lizátumot fagyaszttva kell tárolni, és használat előtt szobahőmérsékletre kell olvasztani.
  - b. Győződjön meg róla, hogy a lizátum jól össze van keverve azáltal, hogy a mintát egy vortex keverővel folyamatosan keveri a maximális beállításon 10 másodpercig, és tegye félre 3 percre, hogy a buborékok leülepedjenek.
4. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 3 másodpercig.
5. Inkubálja 1 percig szobahőmérsékleten.
6. A vérminta PBS-sel történő újbóli teszteléséhez kövesse a Rész 12.2.1 6–17. lépéseit, hogy elkészítse a végső lizátumot. A megőrzött lizátum újbóli teszteléséhez kövesse az alábbi a–g lépéseket a végső lizátum elkészítéséhez.
  - a. Adagoljon 2,5 ml LY-t a megőrzött lizátum újbóli tesztmintájának csővébe.
  - b. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 10 másodpercig.
  - c. Inkubálja 5 percig szobahőmérsékleten.
  - d. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 10 másodpercig.
  - e. Inkubálja 5 percig szobahőmérsékleten.
  - f. Ugyanabba a csőbe adagoljon 2 ml reagens minőségű abszolút etanolt (a felhasználó által biztosítandó).
  - g. Keverje össze folyamatosan a mintát vortex keverő segítségével maximális beállításon 10 másodpercig. Tegye félre.
7. Nyissa ki a kazettát a kazetta fedelének megemelésével, és vigye át egy (1) mosóreagens-ampulla teljes tartalmát a mosóreagens kamrájába (kis nyílás). Lásd Ábra 1.
8. Az előkészített minta teljes tartalmát pipettázza a mintakamrába (nagy nyílás). Lásd Ábra 1.

9. Csupkja be a kazetta fedelét. Indítsa el a tesztet (lásd: Rész 12.4, A teszt indítása).

## 20 Várt értékek

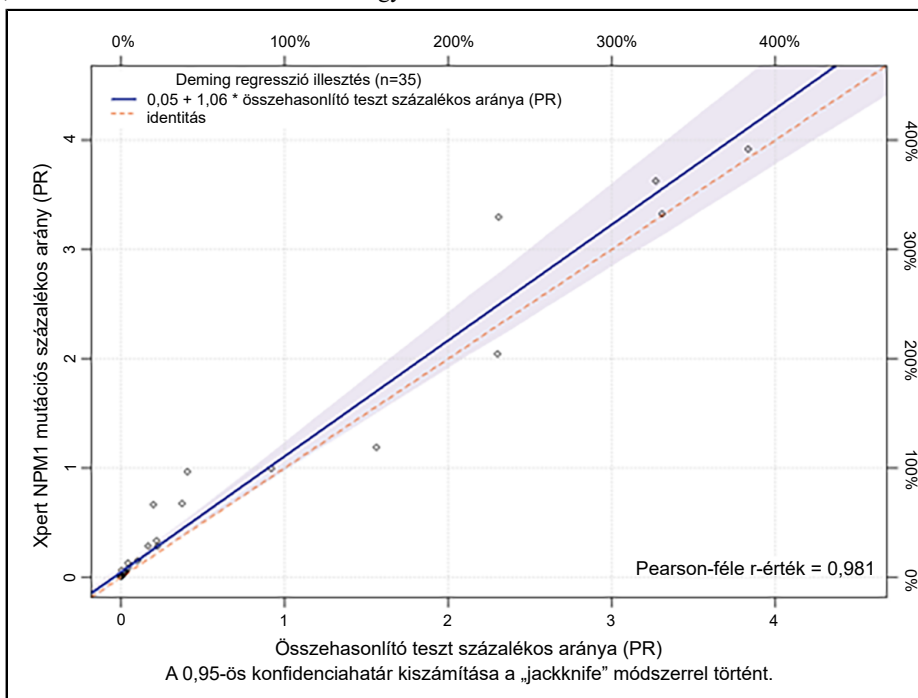
Az Xpert NPM1 Mutation tartománya kiterjed a kulcsfontosságú klinikai döntési pontokra az AML monitorozására vonatkozóan. A várt értékeket az NPM1-mutációs mRNS és az ABL mRNS százalékos arányban fejezik ki, és azok a 0,030% és 500% közötti tartományba esnek. Az ezen tartomány alatti méréseket nem kimutatott vagy a kimutatási határ (LoD) alatti eredménnyel jelentették. Az ezen tartomány feletti méréseket a mennyiségi meghatározás határértéke (LoQ) feletti eredménnyel jelentették. Részletekért lásd: Rész 15.

## 21 Klinikai teljesítmény

Több helyszínes, megfigyelési módszeres összehasonlító vizsgálatot végeztek három helyen az Egyesült Államokban és egy helyen az Egyesült Államokon kívül. A vizsgálatba 40 külön, NPM1-mutációval rendelkező AML-beteg egy időpontból származó és az Xpert NPM1 Mutation teszt dinamikus tartományán belüli mintáját vették fel. Összegyűjtötték azon betegek életkorát és nemét, akiktől a mintákat vették. A nemek szerinti megoszlás 11 férfi (27,5%) és 29 nő (72,5%) volt. Minden mintát 16 és 81 év közötti betegektől vettek, akiknél az életkor középértéke 59,7 év volt.

Mind a 40 minta érvényes vizsgálati eredményt adott. A 40 minta közül 36 mindkét teszt mennyiségi tartományán belüli eredményt adott. Négy mintát kizártak a Deming-regresszióból, mivel a minták negatívak voltak az Xpert NPM1 Mutation és/vagy az összehasonlító tesztben. Egy további mintát kizártak, mert az kiugró értéket adott. Összesen 35 mintát használtak fel a Deming-regressziós elemzésben.

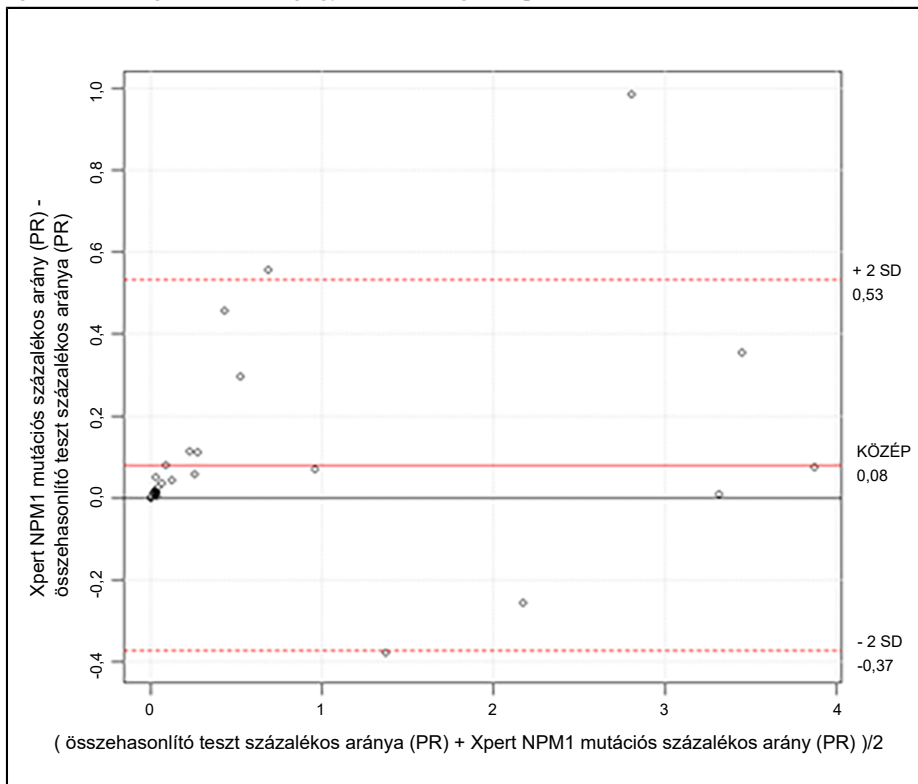
Az Xpert NPM1 Mutation teszt teljesítményét az összehasonlító vizsgálatához viszonyítva Deming-regresszióval értékelték a meredekség és a metszéspont meghatározására. A Ábra 12 mutatja a Deming-regressziós elemzés eredményeit, beleértve a meredekséget, a metszéspontot és az identitásvonalat a 35 mintán. A 95%-os konfidenciahatárokat a jackknife módszerrel számították ki, és látható a Pearson-féle korrelációs együttható.



. ábra12. Deming-regresszió a százalékos arányhoz

A százalékos arány meredeksége és metszéspontja a Deming-regressziós analízisből 1,06 és 0,05 volt, a Pearson-féle korreláció pedig 0,981 volt az Xpert NPM1 Mutation teszt és az összehasonlító teszt mérései között.

Bland–Altman-elemzést végeztek a százalékos arány különbségére a 35 minta esetében, olyan kvantitatív eredményekkel, amelyek az Xpert NPM1 Mutation és az összehasonlító teszt lineáris tartományán belül voltak. A Ábra 13 mutatja a Bland–Altman-diagramot a két teszt közötti százalékarány különbségével az egyes minták átlagos százalékarány-eredményeivel szemben. A diagramon a vizsgálat során megfigyelt különbség-középvérték felső és alsó kétszeres szórása (2SD) is látható.



. ábra13. Bland–Altman-diagram az Xpert NPM1 mutációs & összehasonlító teszt százalékos arányához

A különbség középvértéke 0,08 volt százalékos arányban az Xpert NPM1 Mutation és az összehasonlító teszt eredménye között. Az eredmények többsége (91,4%, 32/35) a különbség középvértékének 2SD-jén belül volt.

## 22 Analitikai adatok

### 22.1 Linearitás/dinamikus tartomány

A linearitást mindhárom NPM1-mutáns altípusra, a mutA-ra, mutB-re és mutD-re meghatározták olyan sejtízátumok felhasználásával, amelyek mindegyik altípus transzkriptumát nagy mennyiségben tartalmazzák. Az ilyen lizátumokat feltehetően NPM1-mutációra negatív donorokból készített háttérizátumban hígították ~ 0,01–2500% NPM1-mutáció/ABL céltartományra. Minden szintet egy reagenstételen tesztelték négy példányban. A tesztelést és a statisztikai elemzéseket a CLSI EP06-A<sup>9</sup> szerint végezték el. Az egyes altípusokhoz tartozó regressziós görbéket a Ábra 14, Ábra 15 és Ábra 16 mutatja. Az egyes altípusok lineáris tartományát és lineáris modell együtthatóit a Táblázat 4 foglalja össze.



. ábra14. A mutA regressziós görbéi



. ábra15. A mutB regressziós görbéi



. ábra16. A mutD regressziós görbéi

Táblázat 4. A lineáris tartományok és a lineáris modell együtthatóinak összefoglalása

Altípus	Lineáris tartomány	Tengelymetszet	Merekség	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

Össességében az Xpert NPM1 Mutation teszt linearitást mutatott 0,014–2020%-os NPM1-mutáció/ABL között. Az LoQ és a szoftver felső határa által határolt jelentendő dinamikatartomány 0,030–500%.

## 22.2 Analitikai érzékenység (kimutatási határ, mennyiségi meghatározási és vakminta határérték)

A kimutatási határ (LoD) az a legalacsonyabb NPM1 mutáció/ABL szint, amelynél a minták 95%-át következetesen **NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [##,##%]** („NPM1 Mutation DETECTED [##.##%]”) eredménnyel jeleníti meg a rendszer. Az LoD-t a mutA, mutB és mutD altípusokra külön-külön meghatározták az NPM1-mutációra pozitív sejtízátumok sorozathígításainak és az egyes mutációaltípusokat tartalmazó klinikai lizátumok tesztelésével. A megfelelő LoD-k becslése és ellenőrzése a CLSI EP17-A2 szabvány szerint történt<sup>10</sup>. Az eredményül kapott elemzések a mutA esetében 0,025%-os, a mutB esetében 0,023%-os és a mutD esetében 0,030%-os LoD-t adtak. (Táblázat 5). A három altípus közül a legmagasabb, 0,030%-os LoD-t vették az Xpert NPM1 Mutation teszt teljes LoD-jének.

A mennyiségi meghatározás határa (LoQ) az a legalacsonyabb NPM1-mutáció/ABL szint, amely felett a minták  $\leq 0,36$  szórású logaritmikus csökkenéssel (LR) számszerűsíthetők a 3,5 feletti LR-középértékek esetén. A CLSI EP17-A2-vel<sup>10</sup> összhangban az LoQ-értékeket 0,025%-ra becsülték és igazolták a mutA altípusnál, 0,023%-ra a mutB altípusnál és 0,030%-ra a mutD altípusnál (Táblázat 5). A három altípus közül a legmagasabb, 0,030%-os LoQ-t vették az Xpert NPM1 mutációs teszt teljes LoQ-jának.

A vakmintahatár (LoB) az NPM1-mutációra feltehetően negatív donoroktól származó vakminták 95%-ánál várható legmagasabb NPM1 mutáció/ABL eredmény. A CLSI EP17-A2-nek<sup>10</sup> megfelelően az Xpert NPM1 mutációs teszt LoB-értékét 0,0085%-ra becsülték és igazolták (Táblázat 5).

Táblázat 5. Az Xpert NPM1 Mutation teszt kimutatási határa, mennyiségi meghatározási határa és vakmintahatára [% NPM1-mutáció/ABL]

Altípus	LoD [%NPM1-mutáció/ABL]	LoQ [%NPM1-mutáció/ABL]	LoB [%NPM1-mutáció/ABL]
mutA	0,025%	0,025%	0,0085%
mutB	0,023%	0,023%	
mutD	0,030%	0,030%	

## 22.3 Analitikai specifititás

Az Xpert NPM1 Mutation teszt analitikai specifitását huszonöt egészséges donortól vett, EDTA-val kezelt perifériás vérminták tesztelésével határozták meg.

Az ebben a vizsgálatban értékelt, NPM1-mutációra feltehetően negatív mintákból nem kaptak NPM1-mutációra **KIMUTATHATÓ (DETECTED)** eredményt. Így az Xpert NPM1 Mutation teszt specifikus az AML-hez kapcsolódó mutáns NPM1 mRNS-transzkriptumokra (A, B és D típusok a 12-es exonban), és 100%-os analitikai specifitással rendelkezik az EDTA-s perifériás vérmintákra.

## 22.4 Az átvitt kontamináció értékelése

Vizsgálatot végeztek annak bemutatására, hogy az egyszer használatos, önmagukban zárt GeneXpert kazetták megelőzik az ugyanabban a műszermodulban egymás után futtatott kazettákból származó szennyeződés átvitelét. Egy NPM1-mutációra feltehetően negatív mintát teszteltek egy NPM1-mutációra magasan pozitív mintát követően ugyanabban az GeneXpert modulban. A tesztelési sémát 10-szer megismételték két GeneXpert modulon (összesen 22 negatív és 20 pozitív). A pozitív minta összes futtatása az **NPM1-mutáció KIMUTATHATÓ [#,##% („NPM1 Mutation DETECTED [#,##%]”)** várt eredményt adta vissza, a negatív minták összes futtatása pedig az **NPM1-mutáció NEM KIMUTATHATÓ [Legendő ABL-transzkriptum] („NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]”)** várt eredményt adta vissza.

## 22.5 Potenciálisan zavaró anyagok

A vizsgálatban öt olyan anyagot értékelték, amely az EDTA perifériás vérmintákban esetlegesen jelen van, és a teszt teljesítményével potenciálisan interferál. A vizsgált anyagok és szintek (lásd Táblázat 6) a CLSI EP07-ED3<sup>11</sup> dokumentum útmutatásán alapultak. Az interferáló anyagokat tenyésztett, NPM1-mutációra pozitív sejtek lizátumaiból készített perifériás vérmintákban vizsgálták, amelyek három szintet képviseltek: >1%, 0,1–0,5% és negatív. A tesztkontrollok ugyanazokból a mintákból álltak, a potenciálisan zavaró anyagok nélkül. Minden szintet az öt egyedi interferáló anyag jelenlétében és hiányában teszteltek, állapotonként 4 replikátummal. Egy anyagot akkor tekintettek nem interferálóknak, ha annak jelenlétében a megfigyelt átlagos százalékos arány 3-szoros eltérésen belül volt a kontrollhoz képest.

Az Xpert NPM1 Mutation teszten a vizsgálatban értékelt interferáló anyagok egyike esetén sem figyeltek meg klinikailag szignifikáns gátló hatást. Nem figyeltek meg statisztikailag szignifikáns eltéréseket (p-érték <0,05) egyetlen tesztállapotban sem, és a jelentett százalékos arányok a teszt- és a kontrollállapotok között a 3-szoros elfogadási tartományon belül voltak.

Táblázat 6. Az használatával tesztelt potenciálisan interferáló anyagok Xpert NPM1 Mutation

Interferáló anyagok	Tesztelt koncentráció
Nem konjugált bilirubin	20 mg/dl
Koleszterin, teljes	500 mg/dl
Trigliceridek, teljes (lipidek)	3000 mg/dl
Heparin	3500 E/l
EDTA (rövid mintavétel)	930 mg/dl

## 23 Reprodukálhatóság és precizitás

A vizsgálatot a többfaktoros vizsgálatokra vonatkozó CLSI EP05-A3 szabványban foglalt általános elvekkel összhangban tervezték meg. Három helyszínen végezték el. A vizsgálati terv olyan mintapanelelemeket tartalmazott, amelyek két koncentrációban tartalmazták az A, B és D mutációkat. Két kezelő egyenként hét panelelemet tesztelt két példányban, napi két futtatással, összesen 6 napon keresztül három különböző helyszínen (3 helyszín × 2 kezelő × 3 tétel × 2 nap × 2 futtatás × 2 replikátum = 144 teszt eredmény/paneltag). A reprodukálhatósági és precizitási paneleket a Cepheid készítette, és hét paneltagból állnak, ahogy a Táblázat 7 mutatja. A paneleket szimulált EDTA perifériás vér (PB) mátrixban készítették el.

**Táblázat 7. Reprodukálhatósági és precizitási panelek**

Panelelem	Tesztcél	Szint százalékos aránya (PR)
1	Negatív	NA
2	NPM1 A mutáció	Mérsékeltlen pozitív (~5%)
3	NPM1 A mutáció	Gyengén pozitív (~0,2%)
4	NPM1 B mutáció	Mérsékeltlen pozitív (~5%)
5	NPM1 B mutáció	Gyengén pozitív (~0,2%)
6	NPM1 D mutáció	Mérsékeltlen pozitív (~5%)
7	NPM1 D mutáció	Gyengén pozitív (~0,2%)

Az Táblázat 8 mutatja az érvényes eredményekkel rendelkező minták számát az egyes, a két kezelő által külön, a három helyszínen elemzett panelelemekre vonatkozóan.

**Táblázat 8. Reprodukálhatóság és precizitás: Érvényes eredménnyel rendelkező minták száma**

Panelelem		1. helyszín			2. helyszín			3. helyszín			Összes minta
		1. kezelő	2. kezelő	Helyszín	1. kezelő	2. kezelő	Helyszín	1. kezelő	2. kezelő	Helyszín	
1	Negatív	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 (~5%-os arány)	(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 (~0,2%-os arány)	(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 (~5%-os arány)	(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 (~0,2%-os arány)	(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 (~5%-os arány)	(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 (~0,2%-os arány)	(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> Két negatív minta érvényes, de kimutatható eredménnyel (FP) rendelkezett

<sup>b</sup> Egy negatív minta érvényes, de kimutatható eredménnyel (FP) rendelkezett

<sup>c</sup> Egy LR 2.7: mut D (~0,2%-os arány) minta érvényes, de nem kimutatható eredménnyel (FN) rendelkezett

A kvantitatív eredményeket beágyazott varianciaanalízissel (ANOVA) elemezték véletlenszerű hatásokkal és a variációs együtthatóval (CV). Az egyes pozitív minták szórásra és varianciára vonatkozó ANOVA-számításainak eredményeit a következő Táblázat 9 tartalmazza. Az egyes összetevők (helyszín/műszer, kezelő, tétel, nap, futtatás) varianciája és százaléka a teljes varianciában az egyes összetevők szórásaként (SD) és százalékos hozzájárulásaként van feltüntetve.

**Táblázat 9. A variációs együttható (CV) eredményei: Százalékos arány (PR)**

Panelem	N	Átlag	Helyszín		Kezelő		Tétel		Nap		Futtatás		Teszten belüli		Összesen	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1.3: mut A (~5%-os arány)	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 (~0,2%-os arány)	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 (~5%-os arány)	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 (~0,2%-os arány)	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 (~5%-os arány)	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 (~0,2%-os arány)	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> Egy mintát nem észlelt az Xpert NPM1, ezért kizárták az elemzésből, mert nem volt kvantitatív mérés.

A mérsékelten pozitív LR1.3: mut A, mut B és mut D minták (~5%-os arány) kvantitatív értékeit jelentő százalékos arány teljes variációs együtthatós (CV) százaléka 21,74 és 26,23 között volt, a gyengén pozitív LR2.7: mut A, mut B és mut D minták (~0,2%-os arány) esetében pedig 20,68 és 79,22 között volt.



## 24 Szakirodalom

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>. Hozzáférés: 2020. szeptember 16.
4. Kunchala P, Kuravi S, Jensen R, McGuirk 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 (lásd a legújabb kiadást). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (lásd a legfrissebb kiadást).
8. Health-care Waste. Egészségügyi Világszervezet. <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 Cepheid székhelyek

### Vállalati székhely

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefonszám: + 1 408 541 4191  
Faxszám: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Európai székhely

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefonszám: + 33 563 825 300  
Faxszám: + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 26 Műszaki segítség

Mielőtt kapcsolatba lépne a Cepheid Műszaki Ügyfélszolgálatával, gyűjtse össze a következő információkat:

- Terméknév
- Tételszám
- A műszer sorozatszama
- Hibaüzenetek (ha vannak)
- Szoftververzió és adott esetben a számítógép szervicímkejének száma

### Amerikai Egyesült Államok





















Telefonszám: + 1 888 838 3222  
E-mail-cím: techsupport@cepheid.com

### Franciaország

Telefonszám: + 33 563 825 319  
E-mail-cím: support@cepheideurope.com

A Cepheid összes műszaki ügyfélszolgálati irodájának elérhetősége a honlapunkon megtalálható: [www.cepheid.com/en\\_US/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en_US/support/contact-us).

## 27 Jelmagyarázat

Szimbólum	Jelentés
	Katalógusszám
	CE-jelölés – Európai megfelelés
	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Tételkód
	Ne használja újra
	Olvassa el a használati útmutatót
	Gyártó
	Gyártás országa
	Tartalma <i>n</i> teszthez elegendő
	Kontroll
	Lejárat dátum
	Hőmérsékleti korlátozás
	Biológiai kockázatok
	Figyelmeztetés
	Tűzveszélyes folyadékok
	Reproduktív és szervi toxicitás
	Vigyázat
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben
	Meghatalmazott képviselő Svájcban
	Importőr



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
Amerikai Egyesült Államok  
Telefonszám: + 1 408 541 4191  
Faxszám: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
Franciaország  
Telefonszám: + 33 563 825 300  
Faxszám: + 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 Módosítások listája

Szakasz	Módosítás leírása
23	Hiba kijavítása az „Reprodukálhatóság és precizitás” című szakaszban.