

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Упатство за употреба

IVD CE

Заштитен знак, патенти и изјави за авторски права

Trademark, Patents, and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2022–2023 Cepheid.

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

Cepheid[®], логото на Cepheid, GeneXpert[®] и Xpert[®] се заштитни знаци на Cepheid, регистрирани во САД и други земји.

Сите други заштитни знаци се сопственост на нивните соодветни сопственици.

КУПУВАЊЕТО НА ОВОЈ ПРОИЗВОД МУ ПРЕНЕСУВА НА КУПУВАЧОТ НЕПРЕНОСЛИВО ПРАВО ДА ГО КОРИСТИ ВО СОГЛАСНОСТ СО ОВА УПАТСТВО ЗА УПОТРЕБА. НИКАКВИ ДРУГИ ПРАВА НЕ СЕ ПРЕНЕСУВААТ ИЗРЕЧНО, СО ПОДРАЗБИРАЊЕ ИЛИ СО СПРЕЧУВАЊЕ НА ТВРДЕЊАТА. ДОПОЛНИТЕЛНО, НЕ СЕ ДОДЕЛУВААТ НИКАКВИ ПРАВА НА ПРЕПРОДАЖБА СО КУПУВАЊЕТО НА ОВОЈ ПРОИЗВОД.

© 2022–2023 Cepheid.

Погледнете во Дел 28, Историја на ревизии за опис на промените.

Хpert® NPM1 Mutation

За користење во *ин vitro* дијагностика.

1 Заштитено име

Хpert® NPM1 Mutation

2 Вообичаено име

Хpert NPM1 Mutation

3 Предвидена цел

3.1 Предвидена употреба

Тестот Хpert NPM1 Mutation, извршен на Cepheid GeneXpert® Dx System е *ин vitro* дијагностички тест за квантификација на транскрипти на mRNA на мутантен NPM1 (типови А, В и D во егзон 12) во примероци на периферна крв од пациенти со акутна миелоидна леукемија (AML). Тестот користи автоматизирана полимераза верижна реакција со обратна транскриптаза (RT-PCR) во реално време и го дава процентуалниот сооднос на транскриптите на mRNA на ендегените контроли на мутантниот NPM1 и ABL1. Тестот е предвиден како помош во следењето на пациентите со AML со мутиран NPM1 за нивото на транскрипт на mRNA на мутантниот NPM1. Тестот треба да се користи заедно со други клиничкопатолошки фактори.

Тестот Хpert NPM1 Mutation не прави разлика меѓу транскрипти на мутантен NPM1 од типот А, В или D и не открива ниту пак следи други ретки типови на мутантен NPM1. Тестот не е предвиден за дијагноза на AML.

3.2 Предвиден корисник/предвидена средина

Тестот Хpert NPM1 Mutation е предвиден да се користи од страна на обучени корисници во лабораториска средина.

4 Резиме и објаснување

Акутната миелоидна леукемија (AML) е рак на миелоидните крвни хематопоетски матични клетки во коскената срж¹² и познато е дека има различни мутации на нуклеофозмин (NPM1) егзон 12³. Вметнувањето нуклеотиди во егзон 12 доведува до мутација на рамката на читање и создава сигнал за извоз од нуклеусот (NES). Мутациите кај генот NPM1 доведуваат во аберантна цитоплазмична локализација на NPM1 и протеините кои заемно дејствуваат со NPM1. NPM1 е еден од најмутираните гени кај AML и мутациите се појавуваат кај 28 % до 35 % од сите случаи на AML. Иако неколку лекови кои се насочени кон мутираниот NPM1 се истражуваат во моментот, нема насочени терапии одобрени од Управата за храна и лекови кои во моментот се достапни.⁴

Генот NPM1 го кодира протеинот за преместување на нуклеусот кој има улога во биологијата на центрозомот и рибозомот, како и во регулацијата на други клеточни системи, вклучувајќи ги патеките за потиснување на туморите. NPM1 е нуклеоларен фосфопротеин што служи како преносител меѓу нуклеусот и цитоплазмата. Тој го регулира транспортот на рибозомни честички низ мембраната на нуклеусот. Мутациите на NPM1 најпрво беа откриени кај лица со AML по набљудувањето на абнормалната локација на цитоплазмата наместо нормалната локација на нуклеусот. Генетската процена на леукемиските блас клетки комбинирани со цитоплазмичната локација на NPM1 доведе до сознанието за познатите мутации на рамката на читање на егзон 12.³ Најчестите мутации на

NPM1 се типот А (~ 75 - 80 %), типот В (~ 10 %) и типот D (~ 5 %), сите го егзон 12, што доведува до мутација на рамката на читање од вметнување на четири нуклеотиди. Мутацијата предизвикува загуба на нуклеоларен сигнал за локализација и аберантна цитоплазмична локализација на протеинот кај пациентите со AML.⁵

5 Принцип на процедурата

Тестот Xpert NPM1 Mutation е автоматизирана анализа за квантификација на количината на транскрипти на мутацијата на NPM1 како сооднос на мутацијата на NPM1/ABL1. Тестот се прави на Cepheid GeneXpert Dx System, што ги автоматизира и интегрира прочистувањето на примерокот, засилувањето на нуклеинската киселина и откривањето на целната секвенца кај едноставни или сложени примероци со користење анализи за RT-PCR и вгнездена PCR во реално време. Системот се состои од инструмент, компјутер и вчитан софтвер за извршување на анализите и преглед на резултатите. За системот треба да се користат патрони за еднакратна употреба GeneXpert кои имаат реагенси за RT-PCR и вгнездена PCR и се носители на процесите RT-PCR и вгнездена PCR. За целосен опис на системот, погледнете го соодветното *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Тестот Xpert NPM1 Mutation вклучува реагенси за откривање на мутацијата на NPM1 и транскриптот на ABL1 како ендогена контрола во примероците на периферна крв. Количината на транскрипт на мутацијата на NPM1 е квантификувана како процентуален сооднос на мутацијата на NPM1/ABL1. Во тестот Xpert NPM1 Mutation се вклучени две контроли – ендогената контрола (ABL1) и контрола за проверка на сондата (PCC). Ендогената контрола на ABL1 ја нормализира целта на мутацијата на NPM1 и гарантира дека во анализата се користи доволен примерок. PCC ги потврдува рехидратацијата на реагенсот, полнењето на спруветата за PCR и дека сите компоненти на реакцијата, вклучувајќи ги сондите и боите, се присутни и функционални во патронот.

6 Реагенси и инструменти

6.1 Испорачани материјали

Комплетот Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) содржи доволно реагенси за обработка на 10 примероци на анализата или примероци за контрола на квалитетот. Комплетот го содржи следното:

Xpert NPM1 Mutation Реагенси

10 од секој по комплет

Протеиназа К (ПК)	10 x 130 µl по вијала
Компонента	Состојка на реагенсот
Протеиназа К	< 5 %

Реагенс за лиза (LY) (гванидиниум хлорид)	10 x 5,3 ml по вијала
Компонента	Состојка на реагенсот
Гванидиниум хлорид	25 – 50 %
Уреа	25 – 50 %
Натриум додецил сулфат	< 2 %

Реагенс за испирање	10 x 2,9 ml по ампула
Компонента	Состојка на реагенсот
Етанол	< 50 %
Гванидиниум тиоцијанат	< 50 %

Xpert NPM1 Mutation Патрони со епрувети за интегрирана реакција		10 по комплет
Компонента	Состојка на реагенсот	Количина
Зрно 1 (лиофилизирано)	Ензим: Таq полимераза на ДНК < 50 U/ зрно	1 по патрон
	dNTP < 0,05 %	
Зрно 2 (лиофилизирано)	Прајмери и сонди < 0,005 %	1 по патрон
Зрно 3 (лиофилизирано)	Прајмери и сонди < 0,005 %	1 по патрон
Зрно 4 (лиофилизирано)	Ензим: Таq полимераза на ДНК < 50 U/ зрно	1 по патрон
	dNTP < 0,05 %	
Реагенс за плакнење	Калиум хлорид < 4 %	2 ml по патрон
	Натриум азид < 0,1 %	
	Полиетилен гликол < 40 %	
	Tween 20 < 0,2 %	
Реагенс за елуирање	База Trizma < 0,3 %	2,5 ml по патрон
	Хидрохлорид Trizma < 0,1 %	
	Натриум азид < 0,05 %	

CD**1 по комплет**

- Датотека за дефинирање на анализата (ADF)
- Упатство за увезување на ADF во софтверот GeneXpert
- Упатство за употреба (УЗУ)

Забелешка

Говедскиот серум албумин (BSA) во зрната во рамките на овој производ е произведен и изработен исклучително од говедска плазма со потекло од Соединетите Американски Држави. Животните не беа хранети со преживарски протеин или друг животински протеин; животните поминаа претсмртно и посмртно тестирање. Во текот на обработката, немаше мешање на материјалот со други животински материјали.

Забелешка

Сертификатите за анализата и податочните листови со спецификациите на сериите се достапни преку одделот за техничка поддршка на Serheid.

7 Потребни материјали кои не се испорачани

- GeneXpert Dx System (каталожниот број се разликува во зависност од конфигурацијата): инструмент GeneXpert, компјутер, скенер на баркод и прирачник за операторот.
- За GeneXpert Dx System: верзија 6.2 на софтверот GeneXpert Dx или понова.
- Печатач: Ако е потребен печатач, стапете во контакт со одделот за техничка поддршка на Serheid за да се договорите за набавка на препорачан печатач.
- Миксер за центрифугирање
- Микроцентрифуга (1000 x g минимум)
- Пипети и врвови за пипети со филтер за аеросоли
- 50 ml конусни епрувети
- Апсолутен етанол од класа на реагенс
- 1X PBS, pH 7,4

8 Чување и постапување

- Чувајте ја содржината на комплетот Xpert NPM1 Mutation на 2 °C до 8 °C до рокот на траење даден на етикетата.
- Не отворајте го капакот на патронот сè додека не сте подготвени да го извршите тестот.
- Не користете ги патроните на кои им поминал рокот на траење.
- Не употребувајте патрон што протекол.
- Реагенсот за испирање е бистра, безбојна течност. Не користете го реагенсот за испирање ако се заматил или обезбоил.
- Дваесет (20) минути пред започнувањето на процедурата, извадете го примерокот на крв, патронот и реагенсите за подготовка на примероци од местото за чување за да им овозможите да дојдат на собна температура (20 °C до 30 °C).

9 Предупредувања и мерки за претпазливост

9.1 Општо

- За користење во *in vitro* дијагностика.
- Третирајте ги сите биолошки примероци, вклучувајќи ги и употребените патрони и реагенси, како способни за пренесување заразни агенси. Бидејќи честопати не може да се знае кој може да биде заразен, сите биолошки примероци треба да се третираат со стандардни мерки за претпазливост.
- Упатства за постапување со примероците се достапни во Центрите за контрола и спречување на болестите на САД⁶ и Институтот за клинички и лабораториски стандарди.⁷
- Следете ги безбедносните процедури воспоставени од вашата институција за работењето со хемикалии и постапувањето со биолошки примероци.
- Карактеристиките на ефикасноста на овој тест се утврдени само со крв земена во епрувети EDTA. Функцијата на анализата не е проценета со други типови на примероци.
- Веродостојните резултати зависат од соодветното земање, транспорт, чување и обработка на примероците. До неточни резултати од анализата може да дојде поради неправилен избор, ракување или чување на примероците, техничка грешка, побркување на примероците или поради тоа што целниот транскрипт во примерокот е под границата на откривање на анализата. Неопходно е внимателно почитување на ова упатство за употреба и на *GeneXpert Dx System Operator Manual* за да се избегнат погрешни резултати.
- Правењето на тестот Xpert NPM1 Mutation надвор од препорачаните опсези на температурата за чување и времето на чување на комплетот или примерокот може да даде погрешни или неважечки резултати.
- Биолошките примероци, уредите за пренос и употребените патрони треба да се сметаат како способни за пренесување заразни агенси за кои се потребни стандардни мерки за претпазливост. Следете ги процедурите за еколошки отпад на вашата институција за правилно фрлање на употребените патрони и неупотребените реагенси. Овие материјали може да покажат карактеристики на хемиски опасен отпад за којшто се потребни специфични државни или регионални процедури за фрлање. Ако државните или регионалните прописи не даваат јасни насоки за правилно фрлање, биолошките примероци и употребените патрони треба да се фрлат според упатствата на СЗО [Светска здравствена организација] за постапување и фрлање медицински отпад.⁸

9.2 Примероци

- Одржувајте правилно услови за чување за да го загарантирате интегритетот на примерокот (погледнете во Дел 11, Земање и чување на примероците). Не е проценета стабилноста на примероците во услови на испорака кои се разликуваат од оние што се препорачани.
- Не замрзнувајте ги примероците на периферна крв EDTA.
- Правилното земање, чување и транспорт на примероците се суштински за точни резултати.

9.3 Тест/Реагенс


- Не заменувајте ги реагенсите Xpert NPM1 Mutation со други реагенси.
- Не отворајте го капакот на патронот Xpert NPM1 Mutation освен при додавањето примерок и реагенс за испирање.
- Не употребувајте патрон што паднал по неговото вадење од пакувањето.

- Не тресете го патронот. Тресењето или испуштањето на патронот по отворањето на капакот на патронот може да даде неважечки резултати.
- Не ставајте ја етикетата со идентификацискиот код на примерокот на капакот на патронот или на етикетата со баркод на патронот.
- Не употребувајте патрон со оштетена етикета со баркод.
- Не употребувајте патрон што има оштетена епрувета за реакција.
- Се препорачува патроните Xpert NPM1 Mutation да бидат на собна температура (20 °C до 30 °C) кога се користат за тестирање.
- Секој патрон за еднократна употреба Xpert NPM1 Mutation се користи за обработка на една анализа. Не употребувајте ги обработените патрони повторно.
- Пренесете ја целата содржина на една (1) ампула со реагенс за испирање во комората за реагенс за испирање. Доколку не се додаде реагенс за испирање, може да дојде до резултат **НЕ Е ОТКРИЕН (NOT DETECTED)**.
- Не употребувајте ги врвовите на пипетите повторно.
- Не користете патрон ако изгледа влажен или ако изгледа дека запечатувањето на капакот е оштетено.
- Не користете го патронот Xpert NPM1 Mutation ако се додаде реагенс во погрешниот отвор.
- Не отворајте ги патроните Xpert NPM1 Mutation по завршувањето на анализата.
- Предвидете еден комплет на пипети и реагенси исклучиво за подготовка на примерокот.
- Носете чисти лабораториски мантили и ракавици. Менувајте ги ракавиците меѓу постапувањето со секој примерок.
- Доколку дојде до истекување на примероци или контроли, ставете ракавици и впијте го истекувањето со хартиени крпи. Потоа, темелно измијте го контаминираниот простор со 1:10 раствор на свежо подготвено хлорно белило за домаќинство. Конечната активна концентрација на хлорот треба да биде 0,5 % без оглед на концентрацијата на белилото за домаќинство во вашата земја. Овозможете најмалку две минути време на допир.
- Уверете се дека работниот простор е сув пред да употребите 70 % денатуриран етанол за да го отстраните остатокот од белилото. Оставете ја површината да се исуши целосно пред да продолжите. Алтернативно, следете ги стандардните процедури на вашата институција за случаи на контаминација или истекување. За опремата, следете ги препораките на производителот за деконтаминација.

10 Хемиски опасности

Забелешка

Информациите подолу се однесуваат на целиот производ кој ги содржи протеиназата K, лизата, реагенсите за испирање и плакнење.

- Пиктограм на опасности на CLP/GHS на ОН: 
- Збор што дава знак: ОПАСНОСТ
- **Изјави за опасност на глобално хармонизираниот систем на ОН**
 - Високо запалива течност и пареа H225.
 - Предизвикува иритација на кожата H315.
 - Предизвикува сериозна иритација на очите H319.
 - Може да предизвика поспаност или вртоглавица H336.
 - Се претпоставува дека предизвикува генетски оштетувања H341.
- **Изјави за мерки за претпазливост на глобално хармонизираниот систем на ОН**
 - **Превенција**
 - За посебни упатства пред употребата, погледнете го безбедносниот податочен лист.
 - Набавете специјални упатства пред употребата.
 - Не постапувајте додека не ги прочитате и разберете сите безбедносни мерки за претпазливост.
 - Да се чува подалеку од топлина, искри, отворен пламен и/или жешки површини. Забрането пушење.
 - Чувајте го садот цврсто затворен.
 - Да се избегнува вдишување на маглата/пареите/аеросолите.
 - Темелно да се измие по ракувањето.
 - Да се користи само на отворено или во добро проветрено место.
 - Да се носат заштитни ракавици/заштитна облека/заштита за очите/заштита за лицето.
 - Користете лична заштитна опрема доколку е потребно.
 - **Реакција**

- Во случај на ПОЖАР: Користете соодветен медиум за гасење.
- АКО СЕ ВДИШЕ: Извадете го настраданото лице на свеж воздух и ставете го да се одмора во положба што е погодна за дишење.
- Повикајте ЦЕНТАР ЗА ТОКСИКОЛОГИЈА или доктор/лекар ако не се чувствувате добро.
- АКО ДОЈДЕ ВО ДОПИР СО КОЖАТА (или косата): Веднаш соблечете ја целата контаминирана облека. Исплакнете ја кожата со вода/туш.
- Специфичен третман, видете ги дополнителните информации за прва помош.
- Соблечете ја контаминираната облека и исперете ја пред повторната употреба.
- Ако се појави иритација на кожата: Побарајте медицинска помош.
- АКО ДОЈДЕ ВО ДОПИР СО ОЧИТЕ: Внимателно исплакнете со вода неколку минути. Извадете ги контактните леќи, ако носите и ако може лесно да се извадат. Продолжете со плакнењето.
- Ако продолжи иритацијата на очите: Побарајте медицинска помош.
- Ако дојде до изложување или постои загриженост дека дошло до изложување: Побарајте медицинска помош.
- **Чување/Фрлање**
 - Да се чува на ладно.
 - Да се чува во добро проветрено место.
 - Чувајте го садот цврсто затворен.
 - Чувајте го заклучен.
 - Фрлете ја содржината и/или садот во согласност со локалните, регионалните, државните и/или меѓународните прописи.

11 Земање и чување на примероците

- Примероците на периферна крв треба да се земаат во епрувети EDTA следејќи ги упатствата на вашата институција. Плазмата не треба да се одвојува од клетките.
- Примероците треба да се чуваат на 2 °C до 8 °C не подолго од 3 дена (72 часа) пред тестирањето.
- Правилното земање и чување на примероците се суштински за функцијата на анализата. Стабилноста на примероците во услови на чување кои се разликуваат од оние што се наведени во Дел 12, Процедура, подолу не е проценета со тестот Xpert NPM1 Mutation.

12 Процедура

12.1 Пред да започнете

Дваесет (20) минути пред започнувањето на процедурата, извадете го примерокот на крв, реагенсите за подготовка на примероци и патроните од фрижидерот за да им овозможите да дојдат на собна температура. Кратко центрифугирајте ја протеиназата К (РК) во микроцентрифуга за да ја издвоите.

Важно Започнете ја анализата во рок од 1 час од додавањето на примерокот третиран со реагенс за примероци во патронот.

Важно Извадете го патронот од картонското пакување пред подготовката на примерокот. (Погледнете во Дел 12.3, Подготовка на патронот).

12.2 Подготовка на примерокот

12.2.1 Подготовка на примерокот со непознат број на бели крвни клетки (WBC) или примероци со помалку од 30 милиони WBC/ml

1. Додајте 100 µl протеиназа К (РК) на дното на нова, означена, конусна епрувета од 50 ml.
2. Погрижете се добро да го промешате примерокот на крв со превртување на епруветата за земање крв 8 пати непосредно пред пипетирањето. Видете во упатството на производителот за епруветата за земање крв EDTA.
3. Додајте 4 ml од примерокот на крв во епруветата во која веќе е ставена РК.

4. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 3 секунди.
5. Инкубирајте го на собна температура 1 минута.
6. Додајте 2,5 ml од реагенсот за лиза (LY) во истата епрувета.

Забелешка Задржете го преостанатиот реагенс за лиза за да го употребите повторно во чекор 13.

7. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 10 секунди.
8. Инкубирајте го на собна температура 5 минути.
9. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 10 секунди.
10. Инкубирајте го на собна температура 5 минути.
11. Мешајте го примерокот со потчукнување на дното на епруветата 10 пати.
12. Пренесете 1 ml од подготвениот лизат во нова, означена, конусна епрувета од 50 ml.

Забелешка Преостанатиот лизат може да се чува на 2 °C до 8 °C најмногу 48 часа или да се чува на -20 °C или постудено најмногу 1 месец.

13. Додајте 1,5 ml од задржаниот реагенс за лиза (LY) од чекор 6 во новата конусна епрувета со лизат.
14. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 10 секунди.
15. Инкубирајте го на собна температура 10 минути.
16. Додајте 2 ml од апсолутниот етанол од класа на реагенс (испорачан од корисникот) во истата конусна епрувета.
17. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 10 секунди. Ставете ја настрана.
18. Фрлете ги преостанатите РК или реагенси за LY.

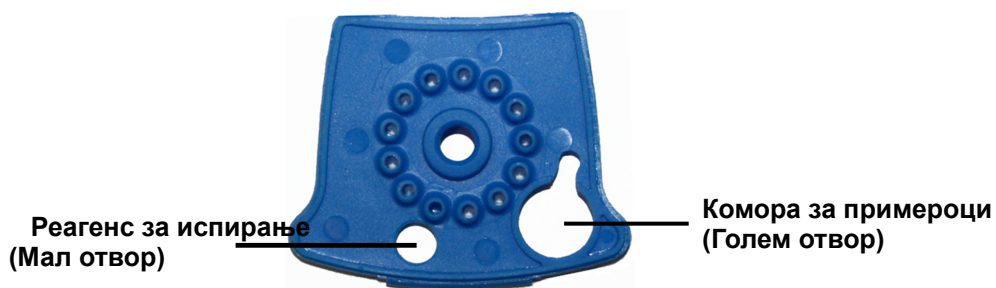
12.2.2 Подготовка на примерокот со број на WBC еднаков или поголем од 30 милиони WBC/ml

1. Додајте 100 µl РК на дното на нова конусна епрувета од 50 ml.
2. Погрижете се добро да го промешате примерокот на крв со превртување на епруветата за земање крв 8 пати непосредно пред пипетирањето. Видете во упатството на производителот за епруветата за земање крв EDTA.
3. Додајте 250 µl примерок на крв и 3,75 ml 1xPBS (pH 7,4, испорачан од корисникот) во епруветата во која веќе се наоѓа РК.
4. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 3 секунди.
5. Инкубирајте го на собна температура 1 минута.
6. Следете ги чекорите 6 - 17 во Дел 12.2.1 за да го направите завршниот лизат.
7. Фрлете ги преостанатите РК или реагенси за LY.

12.3 Подготовка на патронот

За да го додадете примерокот во патронот Xpert NPM1 Mutation:

1. Извадете го патронот од картонското пакување.
2. Проверете дали патронот има оштетување. Ако е оштетен, не користете го.
3. Отворете го патронот со подигнување на капакот на патронот и пренесете ја целата содржина на една (1) ампула со реагенс за испирање во комората за реагенс за испирање (со мал отвор). Видете на Слика 1.
4. Пипетирајте ја целата содржина на подготвениот примерок (4,5 ml) во комората за примероци (голем отвор). Погледнете на Слика 1.



Слика 1. Xpert NPM1 Mutation Патрон (поглед одозгора)

5. Затворете го капакот на патронот. Погрижете се капакот цврсто да чкрапне на место. Започнете анализа (погледнете во Дел 12.4, Започнување на анализата).

12.4 Започнување на анализата

Важно Пред да ја започнете анализата, уверете се дека на системот се извршува верзијата 6.2 на софтверот GeneXpert Dx или понова верзија и дека во софтверот е увезена точната датотека за дефинирање на анализата. Во овој дел се наведени стандардните чекори за работа со GeneXpert Dx System.

Забелешка Чекорите што ги следите може да се разликуваат ако администраторот на системот го променил стандардниот работен процес на системот.

1. Вклучете го системот GeneXpert најпрво со вклучување на инструментот GeneXpert Dx, а потоа со вклучување на компјутерот. Софтверот GeneXpert Dx ќе се активира автоматски или можеби ќе треба да кликнете двапати на иконата за кратенка на софтверот GeneXpert Dx на работната површина на Windows®.
2. Најавете се на софтверот GeneXpert со користење на вашето корисничко име и лозинка.
3. Во прозорецот на **системот GeneXpert**, кликнете на **Создај тест (Create Test)** (GeneXpert Dx). Се појавува прозорецот **Создај тест (Create Test)**.
4. Скенирајте го или внесете го Идентификацискиот код на пациентот (Patient ID). Ако го внесувате Идентификацискиот код на пациентот (Patient ID), погрижете се правилно да го внесете Идентификацискиот код на пациентот (Patient ID). Идентификацискиот код на пациентот (Patient ID) е поврзан со резултатите од тестот и е прикажан во прозорецот **Преглед на резултатите (View Results)** и во сите извештаи. Се појавува полето за дијалог **Скенирај баркод на идентификацискиот код на примерокот (Scan Sample ID Barcode)**.
5. Скенирајте го или внесете го Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID). Ако го внесувате Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID), погрижете се правилно да го внесете Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID). Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID) е прикажан на левата страна на прозорецот **Преглед на резултатите (View Results)** и на сите извештаи. Се појавува полето за дијалог **Скенирај баркод на патронот (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Скенирајте го баркодот на патронот Xpert NPM1 Mutation. Со користење на информациите од баркодот, софтверот автоматски ги пополнува полињата за следните ставки: Идентификациски код на серијата реагенси (Reagent Lot ID), Сериски број на патронот (Cartridge SN) и Рок на траење (Expiration Date).

Забелешка Ако баркодот на патронот Xpert NPM1 Mutation не може да се скенира, тогаш повторете ја анализата со нов патрон. Ако сте го скенирале баркодот на патронот во софтверот и датотеката за дефинирање на анализата е недостапна, ќе се појави екран кој укажува дека датотеката за дефинирање на анализата не е вчитана во системот. Ако се појави овој екран, контактирајте со службата за техничка поддршка на Cepheid.

7. Кликнете на **Започни тест (Start Test)**. Можеби ќе треба да ја внесете вашата лозинка во прозорецот за дијалог што се појавува.
8. Отворете ја вратата на модулот на инструментот со зелената светилка што трепка и вчитајте го патронот.
9. Затворете ја вратата. Тестот започнува и зелената светилка престанува да трепка. Кога ќе заврши анализата, светилката се исклучува.
10. Почекајте системот да ја отклучи бравата на вратата пред да ја отворите вратата на модулот и да го извадите патронот.
11. Фрлете ги искористените патрони во соодветниот сад за отпадни примероци според стандардните практики на вашата институција.

Забелешка Времето до резултатот е помалку од 3 часа (приближно 30 минути подготовка на примерокот вон инструментот и помалку од 2,5 часа време на извршување на анализата).

13 Преглед и печатење на резултатите

Во овој дел се наведени основните чекори за преглед и печатење на резултатите. За подетални упатства за начинот на преглед и печатење на резултатите, погледнете во *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Кликнете на иконата **Преглед на резултати (View Results)** за преглед на резултатите.
- По завршувањето на анализата, кликнете на копчето **Извештај (Report)** на екранот **Преглед на резултати (View Results)** за преглед и/или генерирање датотека за извештај во формат PDF.

14 Контрола на квалитет

Секој патрон вклучува ендогена контрола на ABL1 и контрола за проверка на сондата (PCC).

Ендогена контрола на ABL1 – Ендогената контрола на ABL1 потврдува дека во анализата се користи доволен примерок. Дополнително, оваа контрола открива инхибиција поврзана со примероци на анализата PCR во реално време. ABL1 е успешна ако ги исполнува доделените критериуми за прифатливост.

Контрола за проверка на сондата (PCC) – Пред почетокот на реакцијата PCR, системот GeneXpert го мери флуоресцентниот сигнал од сондите за да ја следи рехидратацијата на зрната, полнењето на спруветата за реакција и дали сите компоненти на реакцијата се функционални во патронот. PCC е успешна ако ги исполнува доделените критериуми за прифатливост.

15 Интерпретирање на резултатите

Резултатите автоматски се интерпретираат од системот GeneXpert од измерените флуоресцентни сигнали и вградените алгоритми за пресметка и се прикажуваат во прозорецот Преглед на резултати (View Results). Можните резултати и интерпретациите се прикажани во Табела 1.

Табела 1. Резултати од тестот Xpert NPM1 Mutation и интерпретација

Резултат	Интерпретација
<p>ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED)</p> <p>Видете на Слика 2, Слика 3, Слика 4</p>	<p>Откриен беше транскрипт на мутацијата на NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 (NPM1 Mutation DETECTED) – Откриен е транскрипт на мутацијата на NPM1 и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. Можни откриени резултати: <ul style="list-style-type: none"> ОТКРИЕНА Е МУТАЦИЈА НА NPM1 [# ,## %] (NPM1 MUTATION DETECTED [# .##%]); Слика 2. ОТКРИЕНА Е МУТАЦИЈА НА NPM1 [над горната LoQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]; Слика 3. ОТКРИЕНА Е МУТАЦИЈА НА NPM1 [под LoD; < # ,### %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; # .###%]; Слика 4. ABL УСПЕШНО (PASS) – Откриен е транскрипт на ABL и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. Проверка на сондата УСПЕШНО (PASS) – сите резултати од проверките на сондите се успешни.
<p>НЕ Е ОТКРИЕНА мутација на NPM1 (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</p> <p>Видете на Слика 5</p>	<p>Не беше откриен транскрипт на мутацијата на NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> НЕ Е ОТКРИЕНА мутација на NPM1 [доволен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – Не е откриен транскрипт на мутацијата на NPM1 и има праг на циклусот (Ct) нула или над горната граница на важечкиот опсег и/или крајна точка под поставката на прагот. ABL УСПЕШНО (PASS) – Откриен е транскрипт на ABL и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. Проверка на сондата УСПЕШНО (PASS) – сите резултати од проверките на сондите се успешни.
<p>НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)</p> <p>Видете ги Слика 6, Слика 7, Слика 8, Слика 9, Слика 10</p>	<p>Нивото на транскриптот на мутацијата на NPM1 не може да се одреди поради тоа што примерокот содржи вишок транскрипт на мутацијата на NPM1 и/или вишок или недоволно транскрипт на ABL. Погледнете во Дел 18, Водич за решавање проблеми, за дополнителни упатства за повторно тестирање на примерокот.</p> <ul style="list-style-type: none"> Мутацијата на NPM1 е НЕВАЖЕЧКА (NPM1 Mutation INVALID) – Прагот на циклусот (Ct) на NPM1 беше над нула и под долниот крај на важечкиот опсег (Слика 8, Слика 9) НЕУСПЕШНО (FAIL) за ABL – Прагот на циклусот (Ct) на ABL не беше во рамките на важечкиот опсег или крајната точка беше под поставката на прагот (Слика 6, Слика 7, Слика 8, Слика 10) Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.

Резултат	Интерпретација
<p>ГРЕШКА (ERROR) Видете на Слика 11</p>	<p>Не може да се одреди нивото на транскриптот на мутацијата на NPM1. Погледнете во Дел 18, Водич за решавање проблеми, за дополнителни упатства за повторно тестирање на примерокот.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) за мутацијата на NPM1 ● НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) за ABL ● Проверка на сондата НЕУСПЕШНО (FAIL) – Сите или еден од резултатите од проверките на сондите се неуспешни. ● Проверка на сондата УСПЕШНО (PASS) или НП (NA) (неприменливо) и прекин на притисокот*. <p>*Доколку проверката на сондата е успешна, грешката била предизвикана од надминување на прифатливиот опсег на максималното ограничување на притисокот или од дефект на системска компонента.</p>
<p>НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)</p>	<p>Не може да се одреди нивото на транскриптот на мутацијата на NPM1. Собрани се недоволно податоци за да се произведе резултат од анализата. На пример, до ова може да дојде ако операторот запрел анализа што била во тек. Погледнете во Дел 18, Водич за решавање проблеми, за дополнителни упатства за повторно тестирање на примероците.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) за мутацијата на NPM1 ● НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) за ABL ● Проверка на сондата НП (NA) (не е применливо)

16 Квантитативни резултати

Квантитативните резултати од Xpert NPM1 Mutation се дадени како процентуален сооднос на мутацијата на NPM1/ABL1. На комплетите им се доделуваат вредности на ефикасноста ($E_{\Delta Ct}$) и факторот на нормализација (SF) специфични за серијата кои ја поврзуваат квантификацијата на мутацијата на NPM1 (A, B и D) и транскриптите на ABL1 со броевите на копиите на синтетичките примарни стандарди на мутацијата на NPM1 и на *in vitro* транскрибираната PHK (IVT-RNA) на ABL1.

Табела 2. Примери за резултати од тестот Xpert NPM1 Mutation

Анализа	Мутант на NPM1		ABL		Xpert NPM1 Mutation Резултати од тестот	Белешки
	Ct	Резултат ^a	Ct	Резултат ^a		
1	5,2	НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)	5,8	НЕУСПЕШНО (FAIL)	НЕВАЖЕЧКИ [превисоки транскрипти на мутацијата на NPM1 и на ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	НП
2	9	НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)	5,5	НЕУСПЕШНО (FAIL)	НЕВАЖЕЧКИ [превисоки транскрипти на ABL] (INVALID [Too high ABL transcripts])	НП
3	5,5	НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)	8,5	УСПЕШНО (PASS)	НЕВАЖЕЧКИ [превисоки транскрипти на мутацијата на NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	НП
4	25,0	НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)	21,8	НЕУСПЕШНО (FAIL)	НЕВАЖЕЧКИ [недоволен транскрипт на ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	НП
5	0	НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)	0	НЕУСПЕШНО (FAIL)	НЕВАЖЕЧКИ [нема транскрипт на ABL] (INVALID [No ABL transcript])	НП
6	8,5	ПОЗИТИВЕН	13,6	УСПЕШНО (PASS)	ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	НП
7	22,5	ПОЗИТИВЕН	14,8	УСПЕШНО (PASS)	ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [1,05 %] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Дадена вредност: 1,05 %
8	27,9	ПОЗИТИВЕН	14,0	УСПЕШНО (PASS)	ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [под LoD; < 0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])	НП
9	0	НЕГАТИВЕН	14,6	УСПЕШНО (PASS)	НЕГАТИВЕН [доволен транскрипт на ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	НП
10	0	НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	0	НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	ГРЕШКА (ERROR)	На пример, Грешка 5017 [ABL] неуспешна проверка на сондата ([ABL] probe check failed)

^a За детали, погледнете ја картичката Резултати за аналитот (Analyte Results) во софтверот на системот GeneXpert Dx.

16.1 ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [##,##] % (NPM1 Mutation DETECTED [##.##]%)

Откриена е мутација на NPM1 на ниво од ##,## %.

За резултат „ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [##,##] % (NPM1 Mutation DETECTED [##.##]%)“, мутацијата на NPM1 може да се открие со праг на циклусот на мутацијата на NPM1 поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „32“ и праг на циклусот на ABL поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“. Софтверот GeneXpert го пресметува % со користење на следната равенка каде вредноста на Ct на делта (ΔCt) се добива од Ct на ABL минус Ct на мутацијата на NPM1:

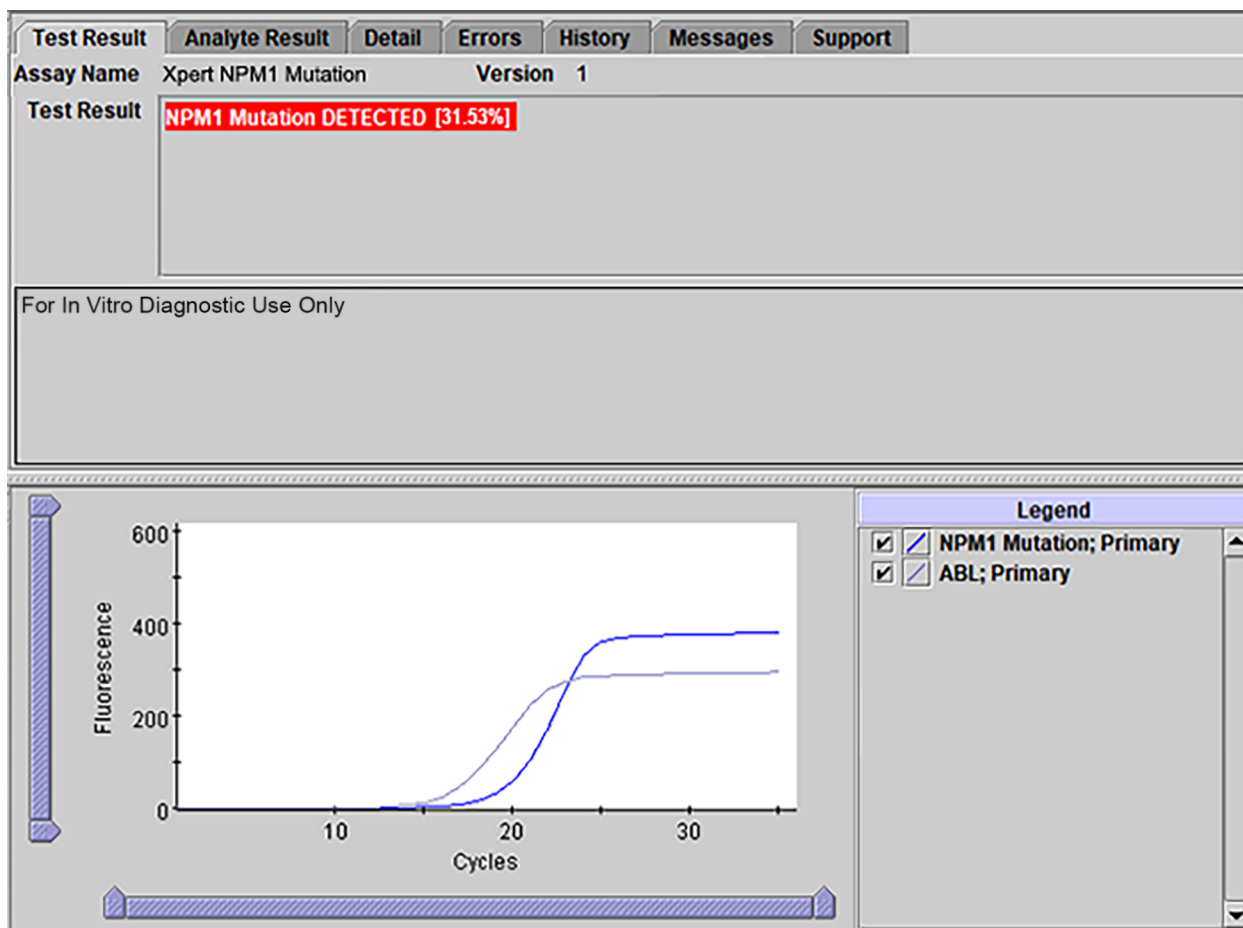
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{фактор на нормализација}$$

Забелешка

Факторот на нормализација (SF) е параметар специфичен за серијата што е вграден во баркодот на патронот за анализата. Вредноста на овој фактор и ефикасноста на анализата специфична за серијата ($E_{\Delta Ct}$) се одредуваат кај тестирање за контрола на квалитетот на секоја серија на анализи со користење примарни стандарди калибрирани на броевите на копии на синтетички калибратори на мутацијата на NPM1 и на *in vitro* транскрибираната РНК (IVT-RNA) на ABL1 за квантификација на транскриптот на мутацијата на NPM1. $E_{\Delta Ct}$ е поставена на 1,95, а вредноста на SF е поставена на 1,79 за употреба во примерот прикажан тука.

Пример: $E_{\Delta Ct}$ специфично за серијата = 1,95; SF = 1,79
Ct на ABL на анализата = 14,5; Ct на мутацијата на NPM1 = 17,1; ΔCt = -2,6
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53 \%$

Резултат: **ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]).**
Видете на Слика 2.



Слика 2. GeneXpert DxПрозорец за преглед на резултатите на : ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

16.2 ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

Откриена е мутација на NPM1 на ниво > 500 %.

За резултат „ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])“, мутацијата на NPM1 може да се открие со праг на циклусот на мутацијата на NPM1 поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „32“ и праг на циклусот на ABL поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“. Софтверот GeneXpert го пресметува % со користење на следната равенка каде вредноста на Ct на делта (ΔCt) се добива од Ct на ABL минус Ct на мутацијата на NPM1:

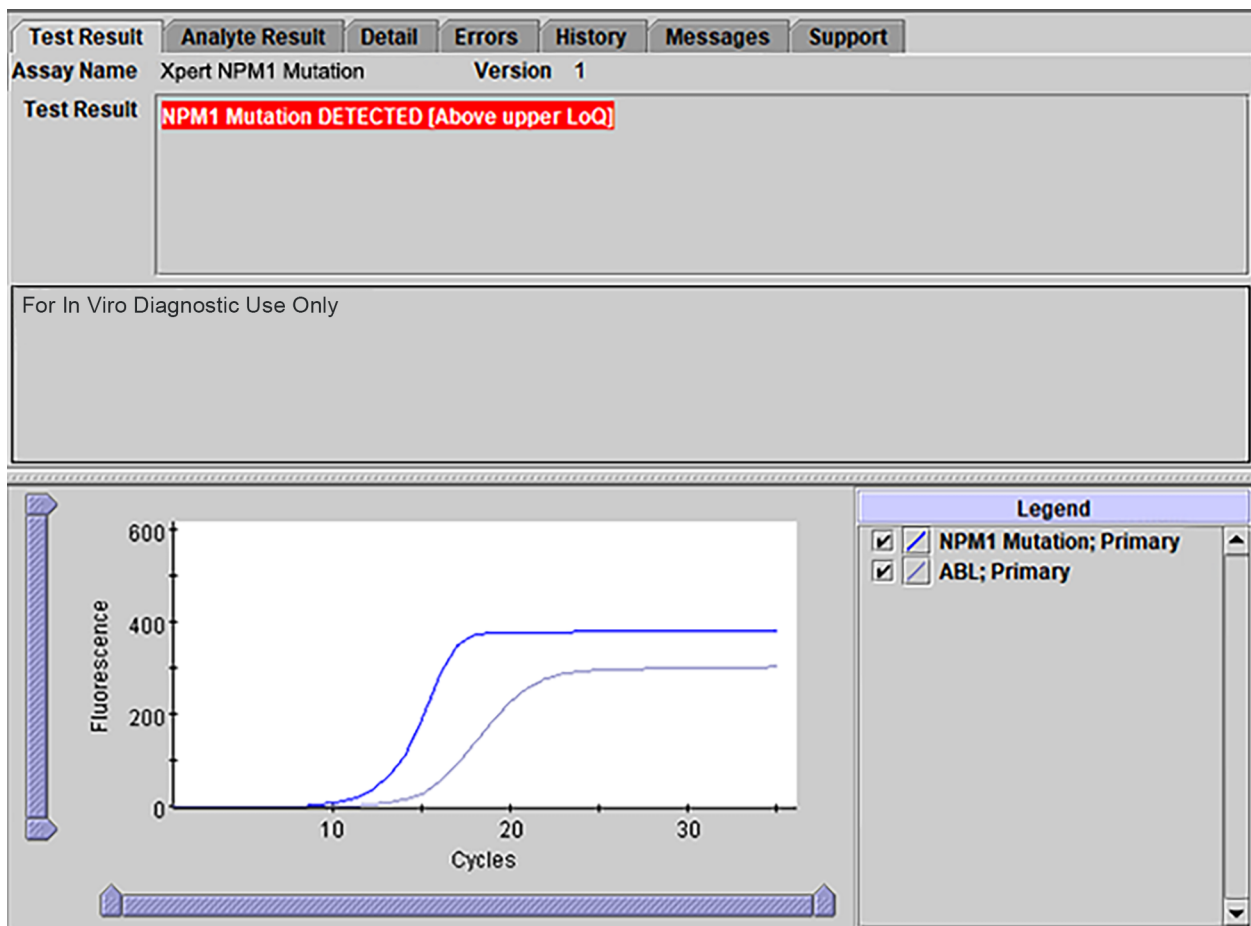
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{фактор на нормализација (SF)}$$

Факторот на нормализација (SF) е параметар специфичен за серијата што е вграден во баркодот на патронот за анализата. Вредноста на овој фактор и ефикасноста на анализата специфична за серијата ($E_{\Delta Ct}$) се одредуваат кај тестирање за контрола на квалитетот на секоја серија на анализи со користење примарни стандарди калибрирани на броевите на копии на синтетички калибратори на мутацијата на NPM1 и на *in vitro* транскрибираната РНК (IVT-RNA) на ABL1 за квантификација на транскриптот на мутацијата на NPM1. $E_{\Delta Ct}$ е поставена на 1,95, а вредноста на SF е поставена на 1,79 за употреба во примерот прикажан тука.

Забелешка

Пример: $E_{\Delta Ct}$ специфично за серијата = 1,95; SF = 1,79
 Ct на ABL на анализата = 13,4; Ct на мутацијата на NPM1 = 10,2; ΔCt = 3,2
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92$ % е поголем од дефинираната горна LoQ на анализата од 500 %

Резултат: **ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).** Видете на Слика 3.



Слика 3. GeneXpert DxПрозорец за преглед на резултатите на : ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [над горната LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

16.3 ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [под LoD; < 0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])

Откриена е мутација на NPM1 на ниво < 0.030 %.

За резултат „ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [под LoD; < 0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])“, мутацијата на NPM1 може да се открие со праг на циклусот на мутацијата на NPM1 поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „32“ и праг на циклусот на ABL поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“. Софтверот GeneXpert го пресметува % со користење на следната равенка каде вредноста на Ct на делта (ΔCt) се добива од Ct на ABL минус Ct на мутацијата на NPM1:

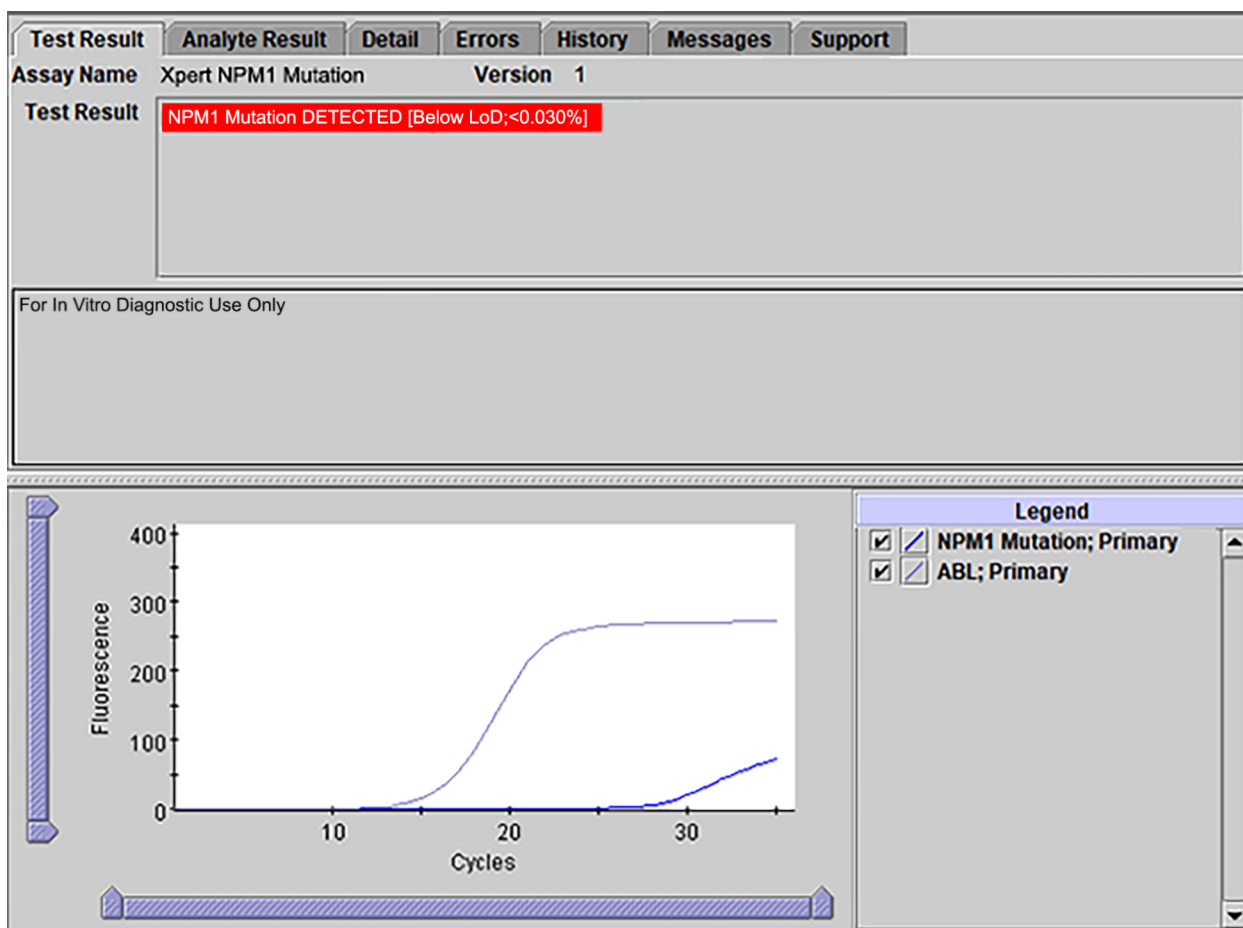
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{фактор на нормализација (SF)}$$

Факторот на нормализација (SF) е параметар специфичен за серијата што е вграден во баркодот на патронот за анализата. Вредноста на овој фактор и ефикасноста на анализата специфична за серијата ($E_{\Delta Ct}$) се одредуваат кај тестирање за контрола на квалитетот на секоја серија на анализи со користење примарни стандарди калибрирани на броевите на копии на синтетички калибратори на мутацијата на NPM1 и на *in vitro* транскрибираната РНК (IVT-RNA) на ABL1 за квантификација на транскриптот на мутацијата на NPM1. $E_{\Delta Ct}$ е поставена на 1,95, а вредноста на SF е поставена на 1,79 за употреба во примерот прикажан тука.

Забелешка

Пример: $E_{\Delta Ct}$ специфично за серијата = 1,95; SF = 1,79
 Ct на ABL на анализата = 14,3; Ct на мутацијата на NPM1 = 28,8; ΔCt = -14,5
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011 \%$ е помалку од дефинирана LoD на анализата од 0,030 %

Резултат: **ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [под LoD; < 0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%]).** Видете на Слика 4.



Слика 4. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert: **ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [под LoD; < 0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])**

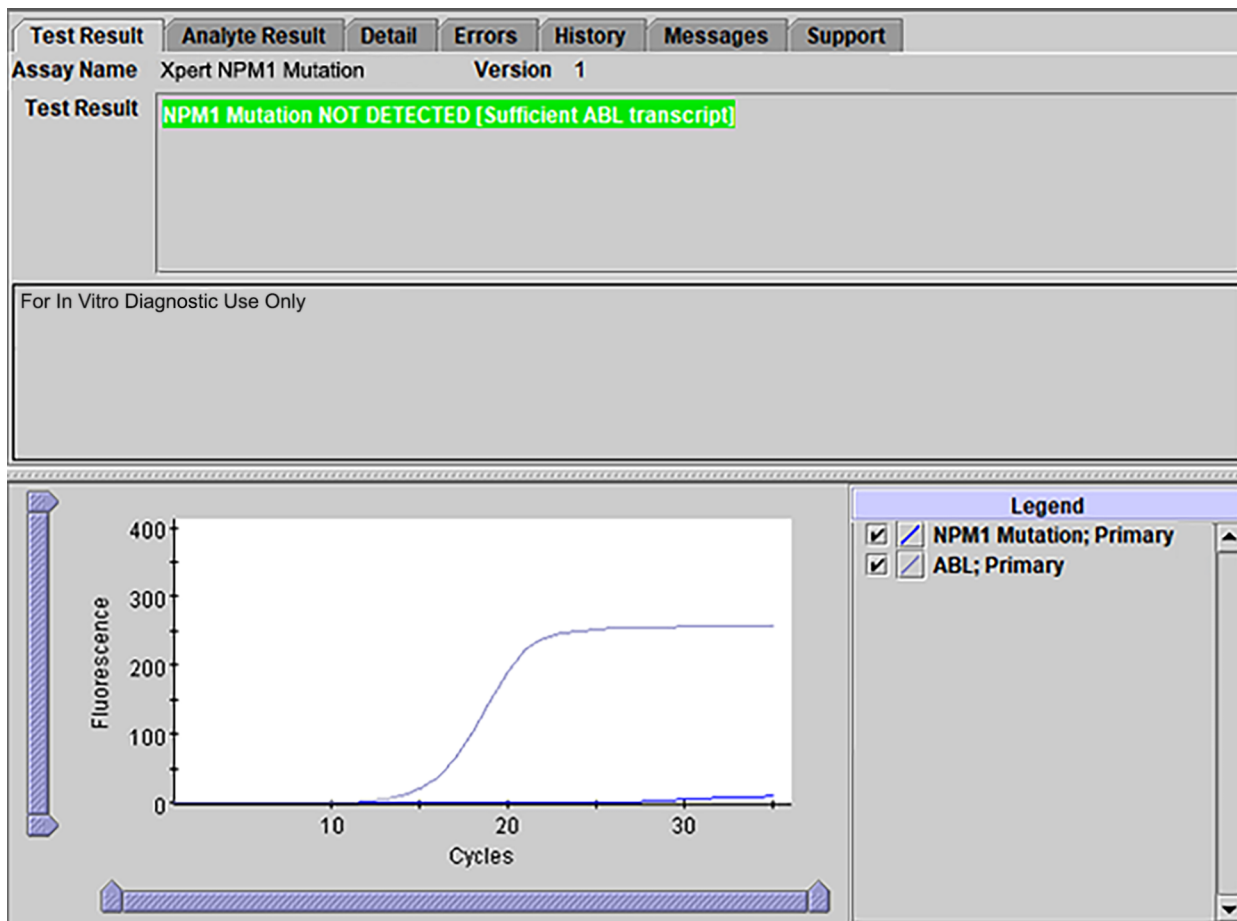
16.4 НЕ Е ОТКРИЕНА мутација на NPM1 [доволен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

Не е откриена мутација на NPM1 со праг на циклус на NPM1 еднаков на „0“ или поголем од „32“ и праг на циклусот на ABL поголем од „6“ и помал или еднаков на „20“.

Софтверот GeneXpert бара прагот на циклусот на ABL да биде поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“ за да може тестот Xpert NPM1 Mutation да загарантира дека има „Доволен транскрипт на ABL“. Погледнете во Дел 15, Интерпретација на резултатите, табела 1.

Пример: Ct на мутацијата на NPM1 на анализата = 0; Ct на ABL = 14,0 е меѓу „6“ и „20“.

Резултат: НЕ Е ОТКРИЕНА мутација на NPM1 [доволен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]). Видете на Слика 5.



Слика 5. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert: НЕ Е ОТКРИЕНА мутација на NPM1 [доволен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

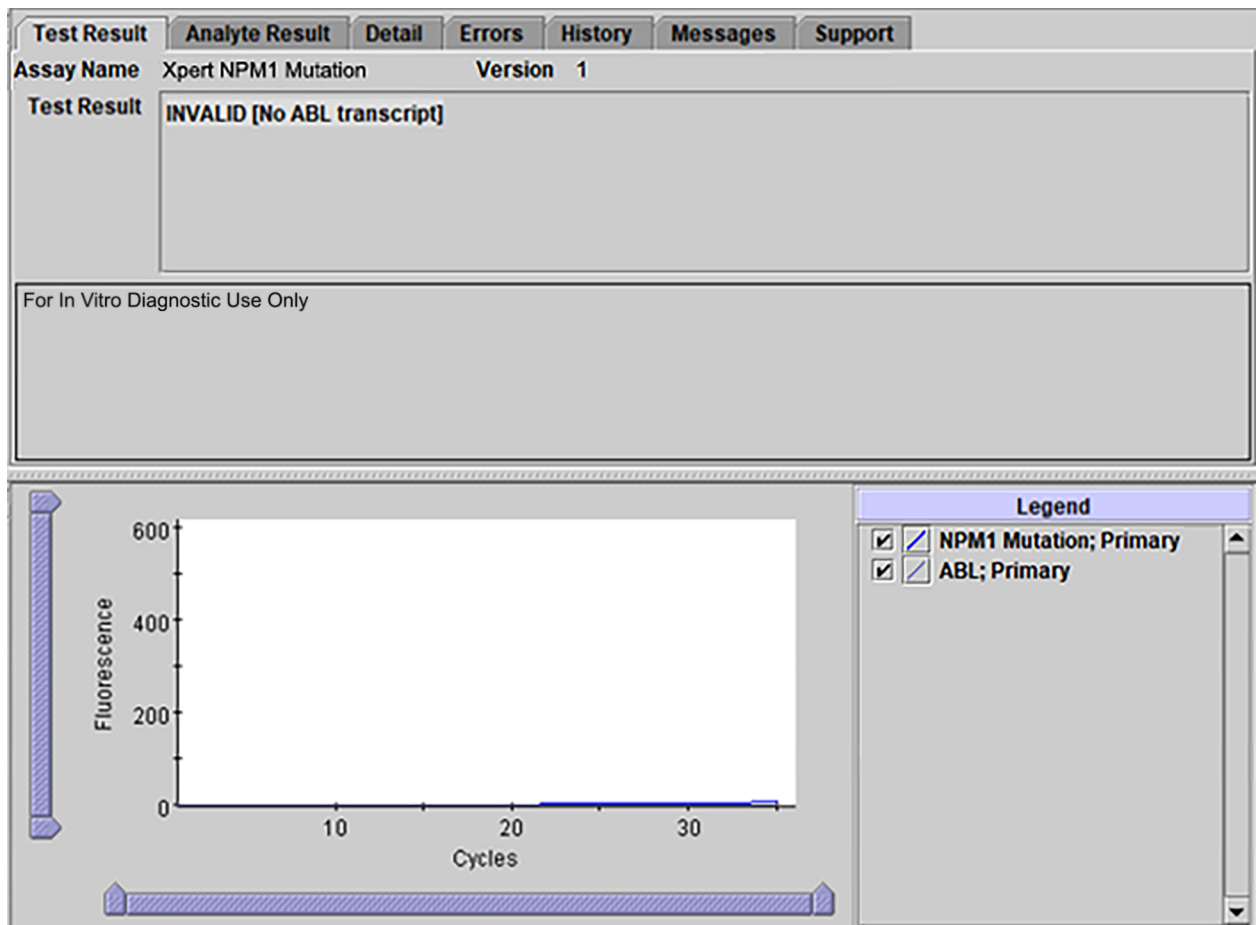
16.5 НЕВАЖЕЧКИ [нема транскрипт на ABL] (INVALID [No ABL transcript])

Откриена е мутација на NPM1 или не е откриена со праг на циклусот на ABL еднаков на „0“.

Софтверот GeneXpert бара прагот на циклусот на ABL да биде поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“ за да може тестот Xpert NPM1 Mutation да загарантира дека има „Доволен транскрипт на ABL“. Погледнете во Дел 18, Водич за решавање проблеми.

Пример: Ct на мутацијата на NPM1 на анализата = 0; Ct на ABL = 0.

Резултат: **НЕВАЖЕЧКИ [нема транскрипт на ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Видете на Слика 6.



Слика 6. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert:
НЕВАЖЕЧКИ [нема транскрипт на ABL] (INVALID [No ABL transcript])

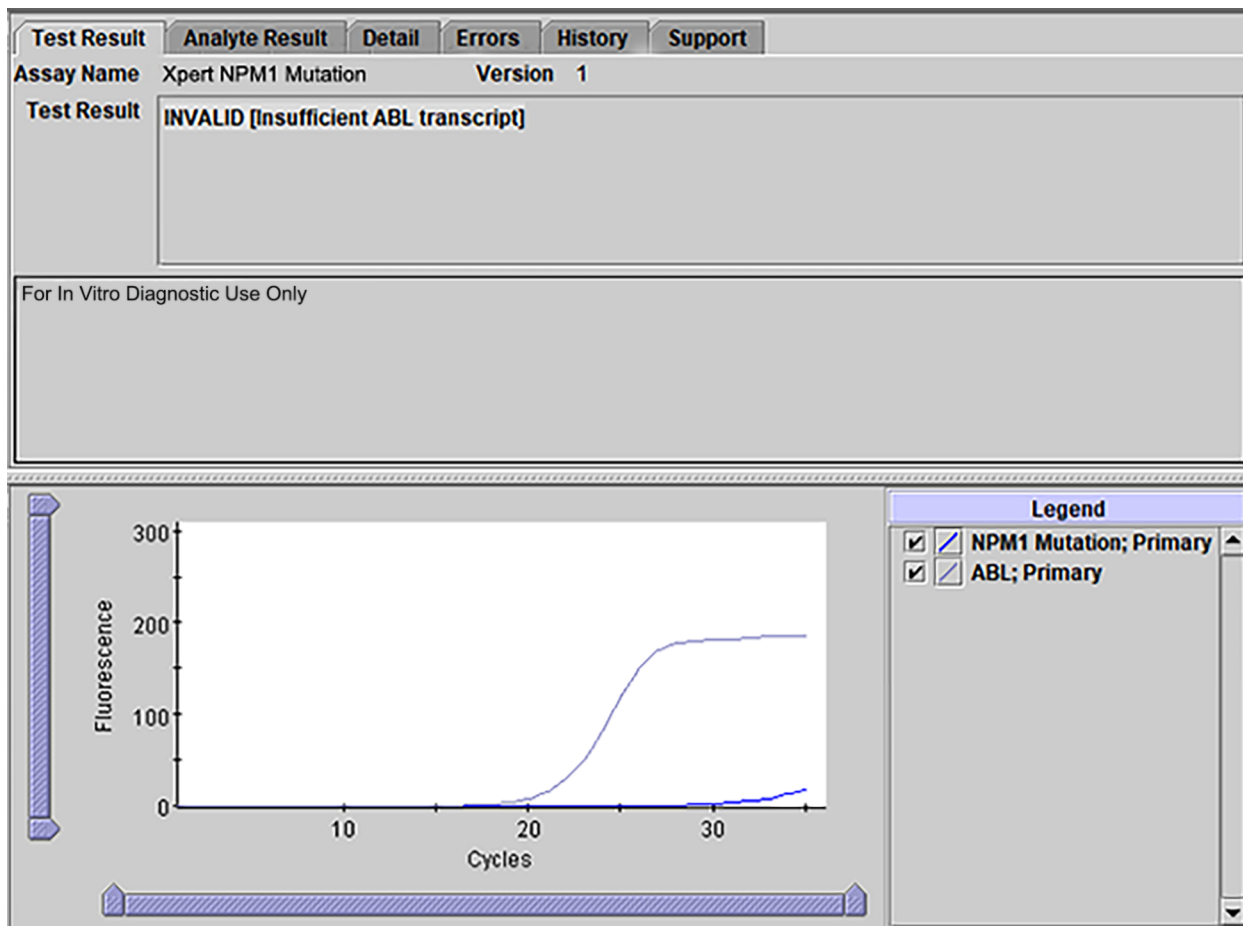
16.6 НЕВАЖЕЧКИ [недоволен транскрипт на ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

Откриена е мутација на NPM1 или не е откриена со праг на циклусот на ABL поголем од „20“.

Софтверот GeneXpert бара прагот на циклусот на ABL да биде поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“ за да може тестот Xpert NPM1 Mutation да загарантира дека има „Доволен транскрипт на ABL“. Погледнете во Дел 18, Водич за решавање проблеми.

Пример: Ct на мутацијата на NPM1 = 33,3; Ct на ABL = 20,2 е поголемо од „20“.

Резултат: НЕВАЖЕЧКИ [недоволен транскрипт на ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript]). Видете на Слика 7.



Слика 7. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert: НЕВАЖЕЧКИ [недоволен транскрипт на ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

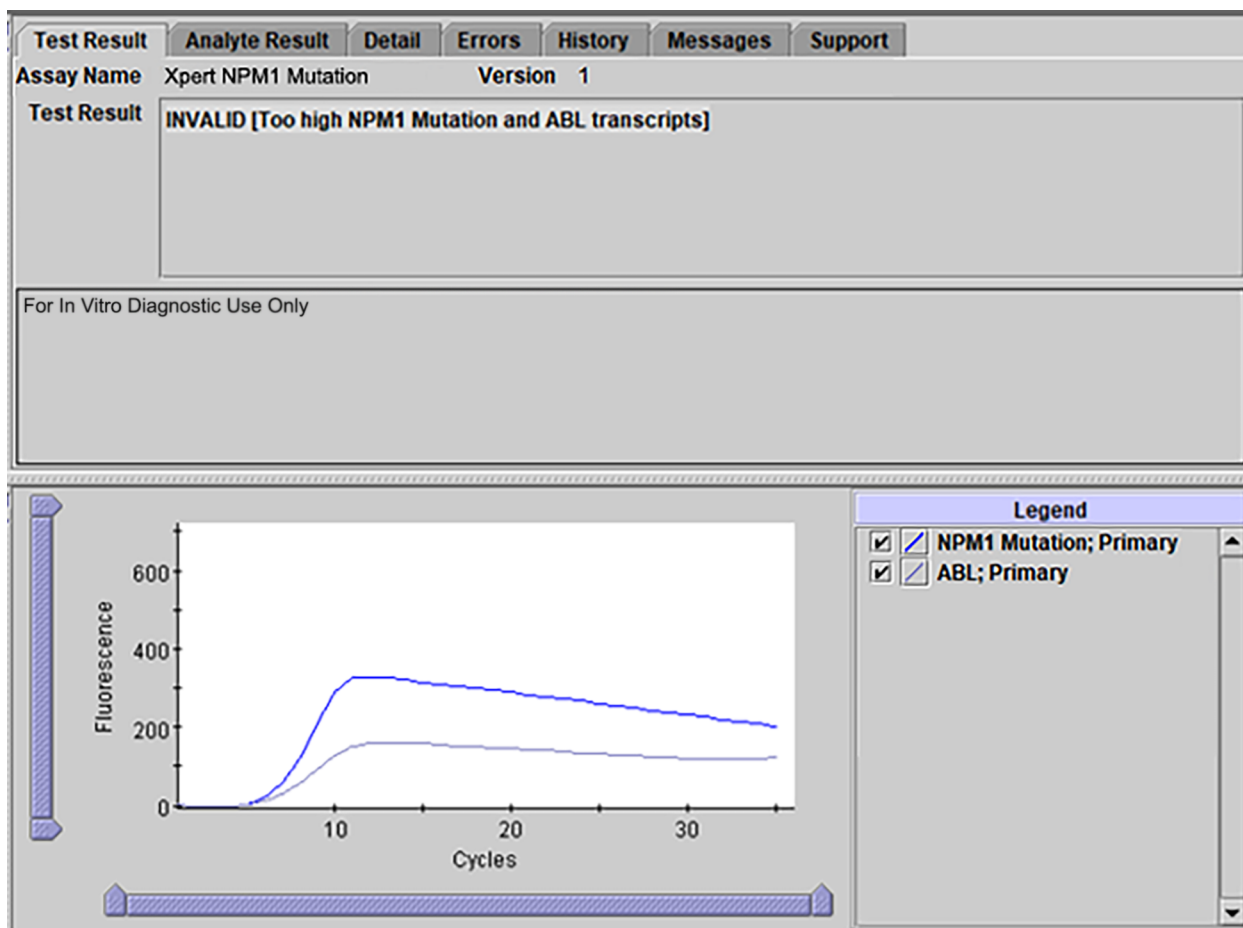
16.7 НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на мутацијата на NPM1 и на ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

Откриена е мутација на NPM1 со прагови на циклусот на мутацијата на NPM1 и на ABL поголеми од „0“ и помали од „6“.

Софтверот GeneXpert бара прагот на циклусот на ABL да биде поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“ за да може тестот Xpert NPM1 Mutation да загарантира дека има „Доволен транскрипт на ABL“. Погледнете во Дел 18, Водич за решавање проблеми.

Пример: Ct на мутацијата на NPM1 на анализата = 5,4 е поголемо од „0“ и помало од „6“; Ct на ABL = 5,9 е помало од „6“.

Резултат: **НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на мутацијата на NPM1 и на ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript]).** Видете на Слика 8.



Слика 8. GeneXpert DxПрозорец за преглед на резултатите на : НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на мутацијата на NPM1 и на ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

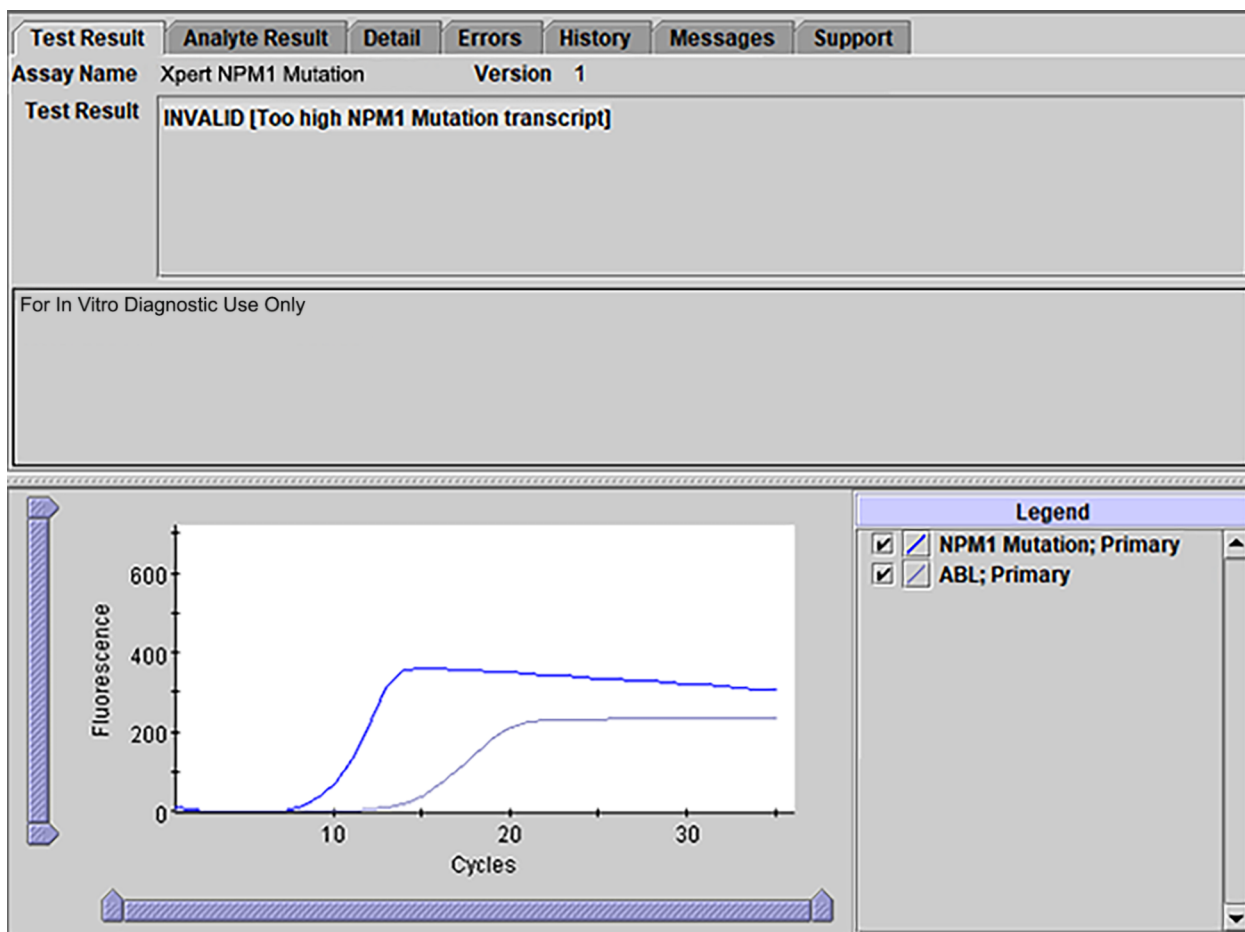
16.8 НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на мутацијата на NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

Откриена е мутација на NPM1 со праг на циклус на мутацијата на NPM1 поголем од „0“ и помал од „6“ и праг на циклусот на ABL поголем од „6“ и помал или еднаков на „20“.

Софтверот GeneXpert бара прагот на циклусот на ABL да биде поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“ за да може тестот Xpert NPM1 Mutation да загарантира дека има „Доволен транскрипт на ABL“. Погледнете во Дел 18, Водич за решавање проблеми.

Пример: Ct на мутацијата на NPM1 на анализата = 5,8 е поголемо од „0“ и помало од „6“; Ct на ABL = 13 е помеѓу „6“ и „20“.

Резултат: НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на мутацијата на NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]). Видете на Слика 9.



Слика 9. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert: НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на мутацијата на NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

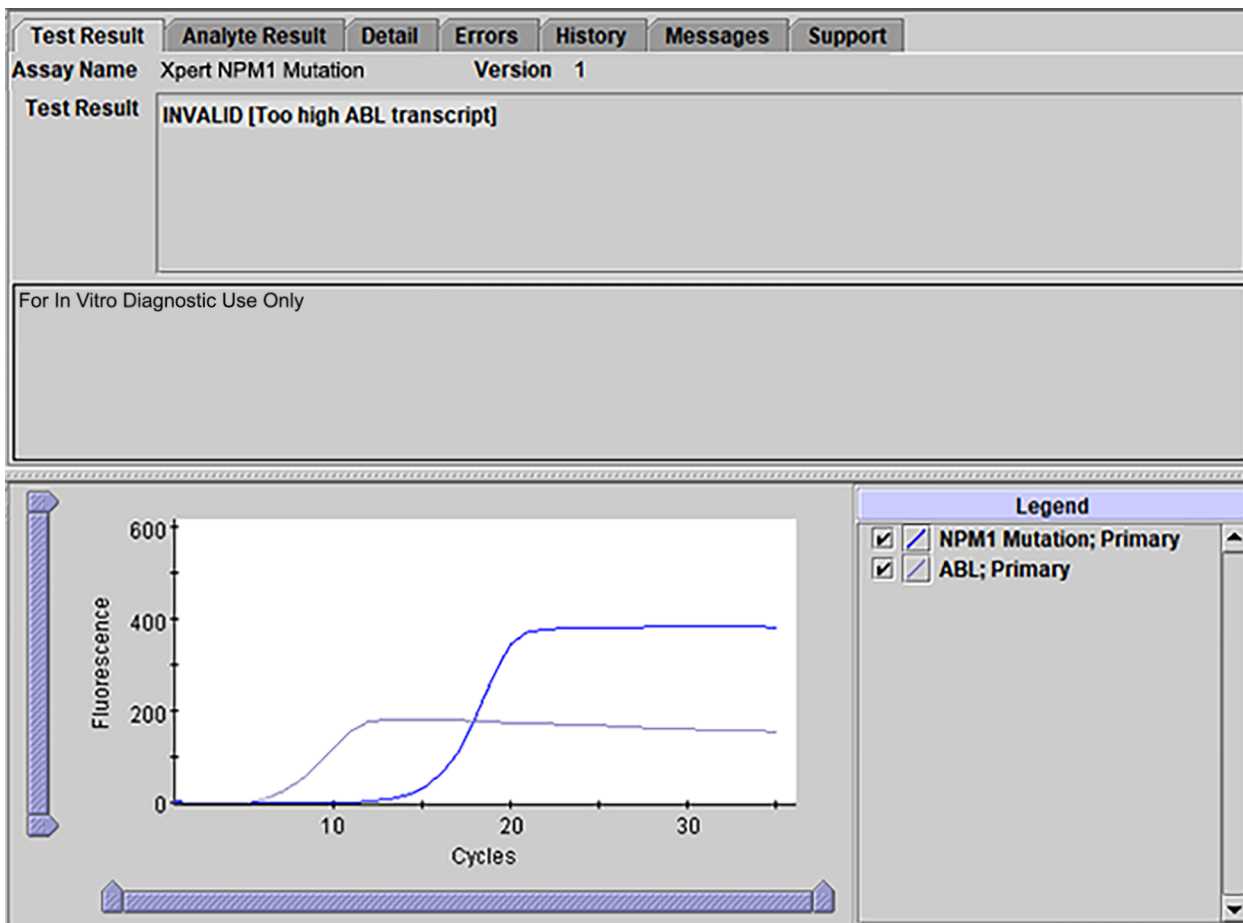
16.9 НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на мутацијата на ABL] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

Откриена е мутација на NPM1 со праг на циклус на мутацијата на NPM1 поголем од „6“ и помал или еднаков на „32“ и праг на циклусот на ABL не еднаков на „0“ и помал од „6“.

Софтверот GeneXpert бара прагот на циклусот на ABL да биде поголем или еднаков на „6“ и помал или еднаков на „20“ за да може тестот Xpert NPM1 Mutation да загарантира дека има „Доволен транскрипт на ABL“. Погледнете во Дел 18, Водич за решавање проблеми.

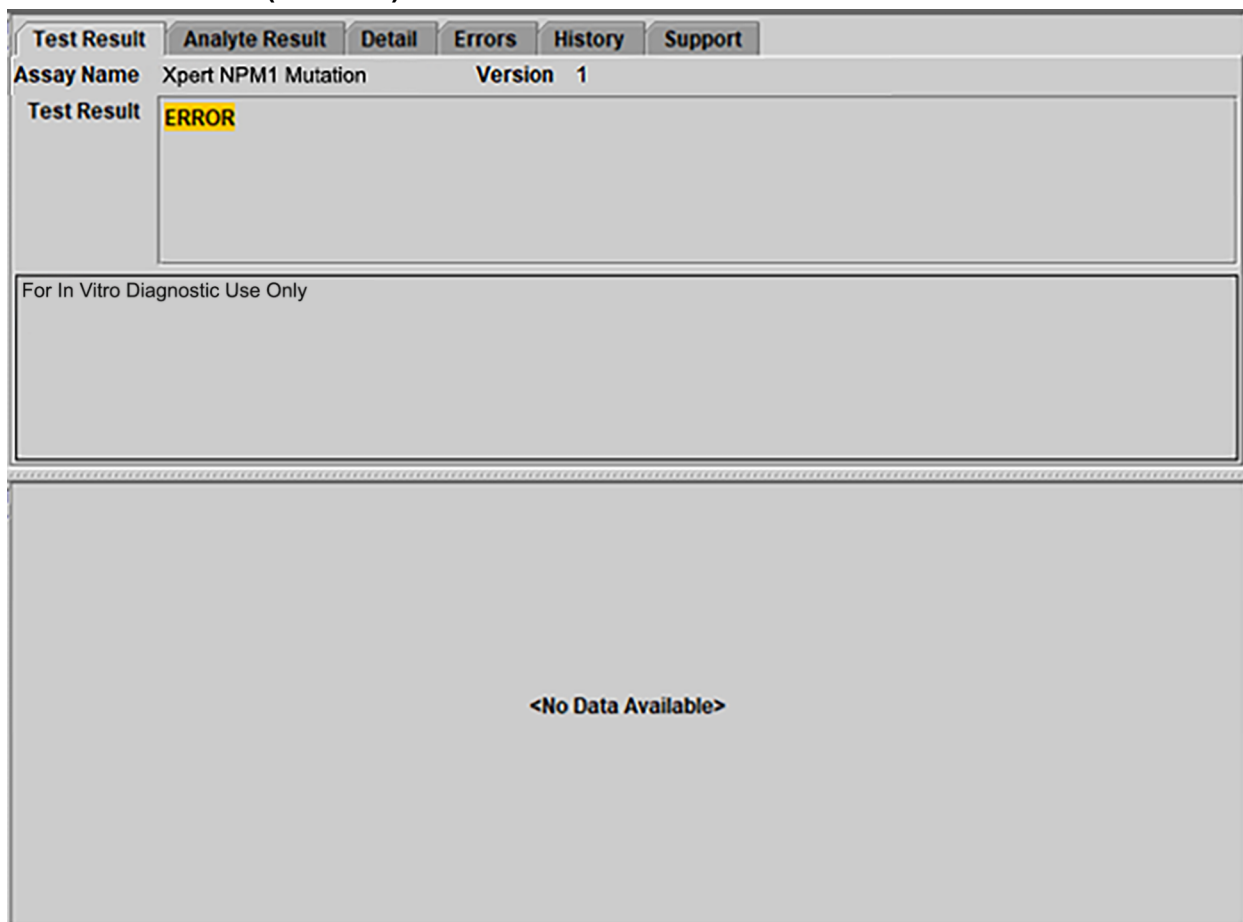
Пример: Ct на мутацијата на NPM1 = 13,2; Ct на ABL = 5,8 е помало од „6“.

Резултат: **НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на ABL] (INVALID [Too high ABL transcript]).**
Видете на Слика 10.



Слика 10. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert: НЕВАЖЕЧКИ [превисок транскрипт на ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])

16.10 ГРЕШКА (ERROR)



Слика 11. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert: ГРЕШКА (ERROR)

17 Ограничувања на анализата

- Анализата не е предвидена да се користи со надворешни калибратори.
- Менувањето на овие постапки може да ја промени функцијата на анализата.
- Овој производ е предвиден за употреба само со крв земена во епрувети EDTA.
- Не користете хепарин како антикоагуланс бидејќи може да ја инхибира реакцијата PCR.
- Не се потврдени типови на примероци на натриум цитрат, антикоагулирана крв со најголема содржина на бели крвни клетки и тромбоцити и коскена срж.
- Може да се појават погрешни резултати од анализата од неправилно земање, ракување или чување на примероците или побркување на примероците. Неопходно е внимателно почитување на упатството за употреба за да се избегнат погрешни резултати.
- Мутациите или полиморфизмите кај прајмерот или региите на поврзување на сондата може да влијаат врз откривањето нови или непознати варијанти и може да доведат до лажно негативен резултат.
- Преголемиот број на бели крвни клетки може да предизвика создавање притисок во патронот и да доведе до прекинати тестирања или неточни резултати.
- Некои примероци со многу ниски нивоа на транскрипт на ABL или со бели крвни клетки помалку од 150.000 клетки/ml може да бидат дадени како **НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)** (тип 1). Неодреден резултат не го исклучува присуството на многу ниски нивоа на леукемиски клетки кај примерокот.

18 Водич за решавање проблеми

Табела 3. Водич за решавање проблеми

Резултат од анализата	Можни причини	Предлози
НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)	Тип 1: Потфрлање на ABL на ендогената контрола: <ul style="list-style-type: none"> Слаб квалитет на примерокот Инхибиција на RT-PCR Ако прагот на циклусот на ABL е > 20 и/или крајната точка е < 100 	<ul style="list-style-type: none"> Проверете го квалитетот на примерокот (на пр., надминат услов за чување на примерокот вклучувајќи ги времето и температурата). Повторете ја анализата со почетниот примерок (ако е достапен) или од задржаниот лизат и нов патрон следејќи ја процедурата опишана во Дел 19.1, Процедура за повторно тестирање за ГРЕШКА (ERROR) или НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) (тип 1).
	Тип 2: Нивото на транскрипот на мутацијата на NPM1 не може да се одреди поради тоа што примерокот содржи вишок мутација на NPM1 и/или транскрипти на ABL (Ct < 6).	Повторете ја анализата со почетниот примерок (ако е достапен) или од задржаниот лизат и нов патрон следејќи ја процедурата опишана во Дел 19.2, Процедура за повторно тестирање за ГРЕШКА (ERROR) (код 2008) или НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) (тип 2).
ГРЕШКА (ERROR) (код 2008)	Притисокот го надминува ограничувањето (порака за грешка 2008)	<ul style="list-style-type: none"> Проверете го квалитетот на примерокот Проверете дали има крајно зголемен број на белите крвни клетки Повторете ја анализата со почетниот примерок (ако е достапен) или од задржаниот лизат и нов патрон следејќи ја процедурата опишана во Дел 19.2, Процедура за повторно тестирање за ГРЕШКА (ERROR) (код 2008) или НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) (тип 2).
ГРЕШКА (ERROR) (код 5006, 5007, 5008 и 5009*) *Ова не е конечен список на кодовите за ГРЕШКА (ERROR).	Неуспешна проверка на сондата	Повторете ја анализата со почетниот примерок (ако е достапен) или од задржаниот лизат и со нов патрон следејќи ја процедурата опишана во Дел 19.1, Процедура за повторно тестирање за ГРЕШКА (ERROR) или НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) (тип 1).
НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	Потфрлање на собирањето податоци. На пример, операторот запрел анализа што била во тек или дошло до прекин во напојувањето со електрична енергија.	Повторете ја анализата со почетниот примерок (ако е достапен) или од задржаниот лизат и со нов патрон следејќи ја процедурата опишана во Дел 19.1, Процедура за повторно тестирање за ГРЕШКА (ERROR) или НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) (тип 1).

19 Повторни тестирања

19.1 Процедура за повторно тестирање за ГРЕШКА (ERROR) или НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) (тип 1)

Повторно тестирајте ги примероците со резултати **ГРЕШКА (ERROR)** или **НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)** поради тоа што прагот на циклусот (Ct) на ABL го надминува максималниот важечки Ct (Ct > 20) или поради тоа што крајната точка е под поставката на прагот (< 100). Погледнете и во Дел 18, Водич за решавање проблеми.

1. Ако е достапна доволна количина на примерок на крв, тестирајте повторно од почетната епрувета за земање примероци на крв следејќи ја процедурата во Дел 12.2.

-ИЛИ-

Ако количината на примерок на крв е недоволна, повторното тестирање може да се направи со задржаниот лизат од Дел 12.2.1, чекор 12.

- a. Ако задржаниот лизат од Дел 12.2.1, чекор 12, е зачуван во замрзната состојба, одмрзнете го на собна температура пред употребата.
 - b. Погрижете се добро да го промешате лизатот со континуирано мешање на примерокот со центрифугален миксер 10 секунди и ставете го настрана 3 минути за да се стaloжат меурчињата.
2. Пренесете 1 ml од подготвениот лизат во нова конусна епрувета од 50 ml.
 3. Следете ги чекорите 13 - 17 во Дел 12.2.1 за да го направите завршниот лизат.
 4. Отворете го патронот со подигнување на капакот на патронот и пренесете ја целата содржина на една (1) ампула со реагенс за испирање во комората за реагенс за испирање (со мал отвор). Видете на Слика 1.
 5. Пипетирајте ја целата содржина на подготвениот примерок во комората за примероци (голем отвор). Видете на Слика 1.
 6. Затворете го капакот на патронот. Започнете анализа (погледнете во Дел 12.4, Започнување на анализата).

19.2 Процедура за повторно тестирање за ГРЕШКА (ERROR) (код 2008) или НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) (тип 2)

Повторно тестирајте ги примероците со мутација на NPM1 и/или нивоата на транскриптите на ABL под важечкиот минимален Ct (Ct > 0 и Ct < 6) и/или кога е надминато ограничувањето на притисокот. Погледнете и во Дел 18, Водич за решавање проблеми.

1. Додајте 100 µl РК (протеиназа К) на дното на нова конусна епрувета од 50 ml.
2. Уверете се дека примерокот на крв или преостанатиот лизат од Дел 12.2, чекор 12 се добро промешани со превртување на епруветата 8 пати непосредно пред пипетирањето.
3. Додајте 250 µl примерок на крв и 3,75 ml PBS (pH 7,4, испорачано од корисникот), ако се достапни, или 60 µl од задржаниот лизат од Дел 12.2.1, чекор 12 во епруветата во која веќе се наоѓа протеиназата К.
 - a. Ако задржаниот лизат од Дел 12.2.1, чекор 12, е зачуван во замрзната состојба, одмрзнете го на собна температура пред употребата.
 - b. Погрижете се добро да го промешате лизатот со континуирано мешање на примерокот со центрифугален миксер 10 секунди и ставете го настрана 3 минути за да се стaloжат меурчињата.
4. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 3 секунди.
5. Инкубирајте го на собна температура 1 минута.
6. За примерокот на крв за повторно тестирање со PBS, следете ги чекорите 6-17 во Дел 12.2.1, за да го направите завршниот лизат. За примерокот на задржаниот лизат за повторно тестирање, следете ги чекорите a-g подолу за да го направите завршниот лизат.
 - a. Додајте 2,5 ml лизат во епруветата со примерокот на задржаниот лизат за повторно тестирање.
 - b. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 10 секунди.
 - c. Инкубирајте го на собна температура 5 минути.
 - d. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 10 секунди.
 - e. Инкубирајте го на собна температура 5 минути.
 - f. Додајте 2 ml од апсолутниот етанол од класа на реагенс (испорачан од корисникот) во истата епрувета.
 - g. Континуирано мешајте го примерокот со центрифугален миксер на максималната поставка 10 секунди. Ставете ја настрана.

7. Отворете го патронот со подигнување на капакот на патронот и пренесете ја целата содржина на една (1) ампула со реагенс за испирање во комората за реагенс за испирање (со мал отвор). Видете на Слика 1.
8. Пипетирајте ја целата содржина на подготвениот примерок во комората за примероци (голем отвор). Видете на Слика 1.
9. Затворете го капакот на патронот. Започнете анализа (погледнете во Дел 12.4, Започнување на анализата).

20 Очекувани вредности

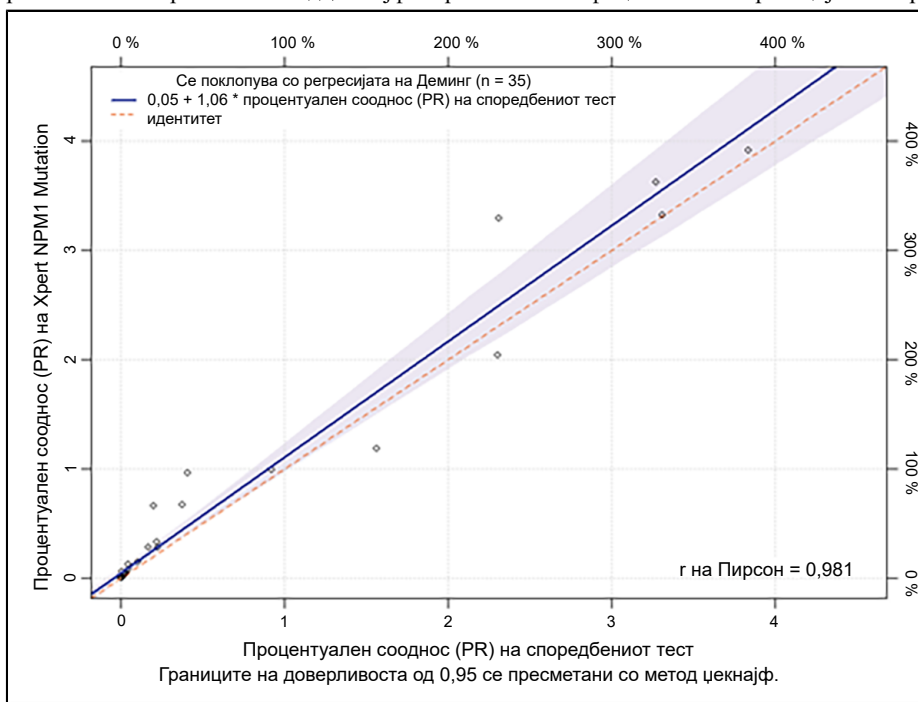
Опсегот на Xpert NPM1 Mutation ги покрива клучните клинички точки на одлука за следење на AML. Очекуваните вредности се изразени како процентуален сооднос на mRNA на мутацијата NPM1 во однос на mRNA на ABL и се движат меѓу 0,030 % и 500 %. Мерењата под овој опсег се дадени како неоткриени или под границата на откривање (LoD). Мерењата над овој опсег се дадени како над границата на квантификација (LoQ). Погледнете во Дел 15 за детали.

21 Клиничка ефикасност

Во три центри во Соединетите Држави и во еден центар надвор од Соединетите држави беше спроведена повеќецентарска споредбена студија со опсервациски метод. Во студијата беа вклучени примероци од 40 пациенти со дискретна AML со мутација на NPM1 од една временска точка и во целиот динамички опсег на тестот Xpert NPM1 Mutation. Возраста и полот беа земени за пациентите од кои беа добиени примероците. Дистрибуцијата на полот беше 11 мажи (27,5 %) и 29 жени (72,5 %). Сите примероци беа од пациенти на возраст меѓу 16 и 81 година со средна возраст од 59,7.

Сите 40 примероци дадоа важечки резултати од тестот. Триесет и шест од 40-те примероци дадоа резултати во рамките на квантитативните опсези на двата теста. Четири примероци беа исклучени од регресијата на Деминг бидејќи примероците беа негативни на Xpert NPM1 Mutation и/или на споредбениот тест. Дополнителен примерок беше исклучен бидејќи имаше екстремна вредност. Вкупно 35 примероци беа вклучени во анализата со регресија на Деминг.

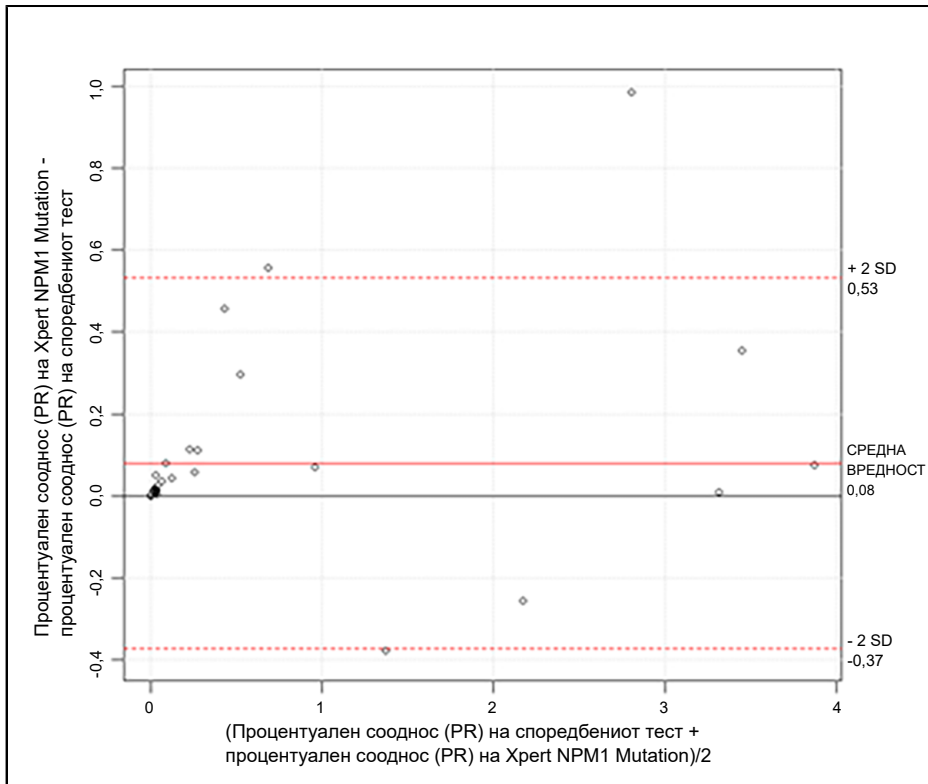
Ефикасноста на тестот Xpert NPM1 Mutation наспроти споредбената анализа беше проценета со користење регресија на Деминг за да се одредат наклонот и пресекот. На Слика 12 се прикажани резултатите од анализата со регресија на Деминг вклучувајќи ги наклонот, пресекот и линијата на идентитет на 35-те примероци. Границите на доверливост од 95 % беа пресметани со користење метод цекнајф и прикажан е коефициентот на корелација на Пирсон.



Слика 12. Регресија на Деминг за процентуален сооднос

Наклонот и пресекот за процентуалниот сооднос од анализата со регресија на Деминг беа 1,06 и 0,05, соодветно, а корелацијата на Пирсон беше 0,981 меѓу мерењата на тестот Хpert NPM1 Mutation и споредбениот тест.

Беше проценета анализа на Бланд-Алтман за разликата во процентуалниот сооднос за 35-те примероци со квантитативни резултати кои беа во рамките на линеарниот опсег на Хpert NPM1 Mutation и споредбениот тест. На Слика 13 е прикажан дијаграмот на Бланд-Алтман со разликата во процентуалниот сооднос меѓу двата теста наспроти резултатите за просечниот процентуален сооднос за секој примерок. На дијаграмот се прикажани и горните и долните две стандардни девијации (2SD) на средната разлика што беше забележана во студијата.



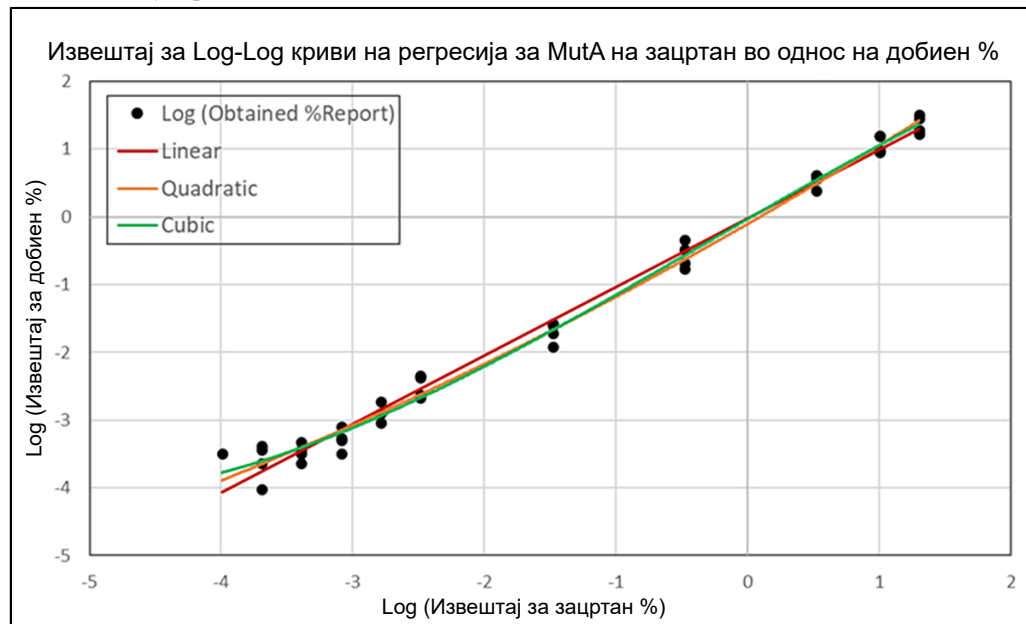
Слика 13. Дијаграм на Бланд-Алтман за Хpert NPM1 Mutation и процентуален сооднос на споредбениот тест

Средната разлика беше 0,08 во процентуалниот сооднос меѓу резултатот од тестот Хpert NPM1 Mutation и споредбениот тест. Мнозинството (91,4 %, 32/35) од резултатите беа во рамките на 2SD од средната разлика.

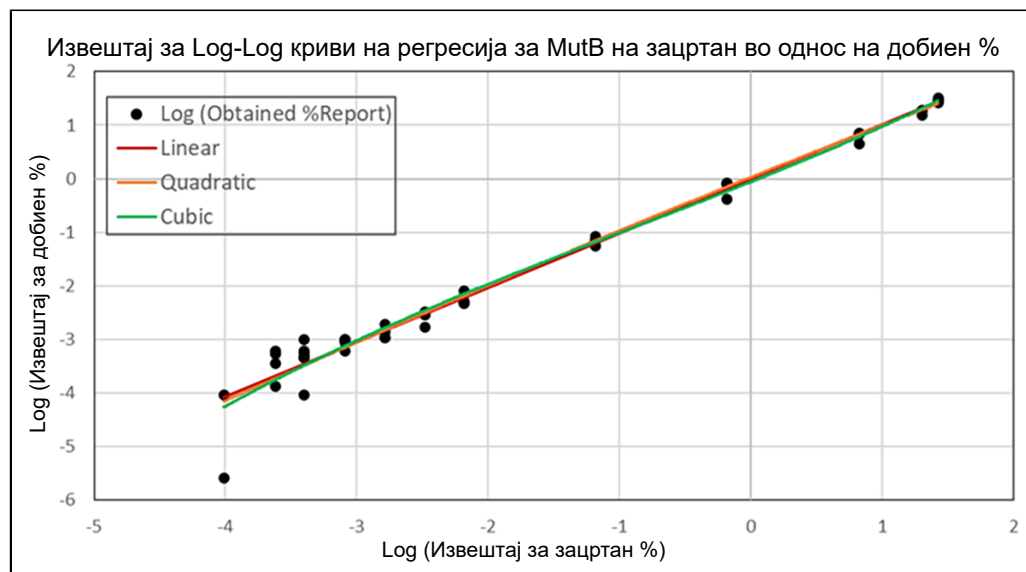
22 Аналитички податоци

22.1 Опсег на линеарност/динамички опсег

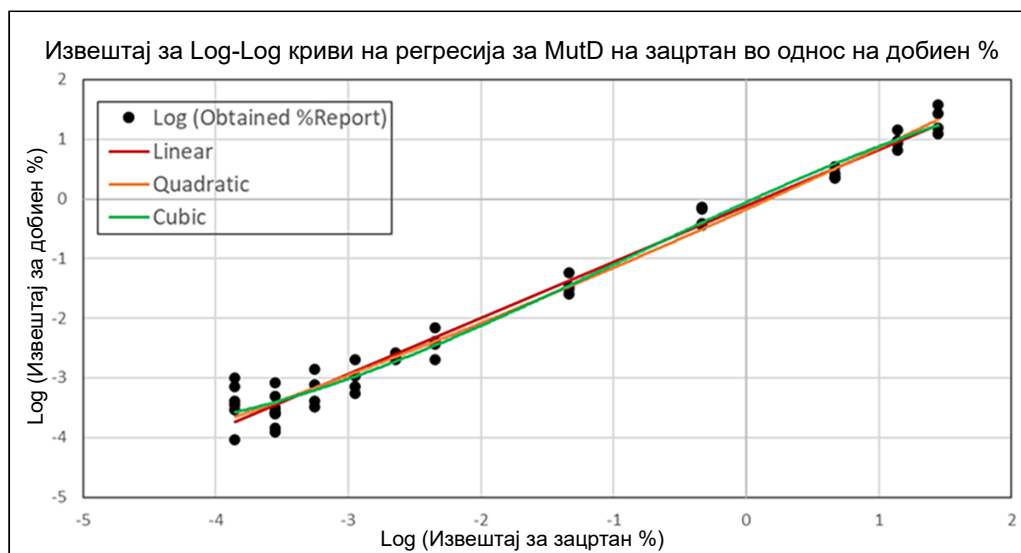
Линеарноста беше одредена за секој од трите поттипови на мутантниот NPM1, mutA, mutB и mutD, со користење клеточни лизати кои содржат високи нивоа на транскрипт на секој поттип. Тие лизати беа разредени во основен лизат подготвен од претпоставено негативни донори на мутација на NPM1 до целни опсежи од ~0,01 – 2500 % мутација на NPM1/ABL. Сите нивоа беа тестирани на една серија на реагенси во четири копии. Тестирањето и статистичките анализи беа направени во согласност со CLSI EP06-A⁹. Кривите на регресија за секој поттип се прикажани на Слика 14, Слика 15 и Слика 16. Линеарниот опсег на секој поттип и нивните коефициенти на линеарниот модел се сумирани во Табела 4.



Слика 14. Криви на регресија за mutA



Слика 15. Криви на регресија за mutB



Слика 16. Криви на регресија за mutD

Табела 4. Резиме на линеарните опсези и коефициентите на линеарниот модел

Поттип	Линеарен опсег	Пресек	Наклон	R ²
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

Заеднички, тестот Xpert NPM1 Mutation покажа линеарност во рамките на мутацијата на NPM1/ABL од 0,014 – 2020 %. Ограничен со LoQ и горната граница на софтверот, динамичкиот опсег што се пријавува е 0,030 – 500 %.

22.2 Аналитичка чувствителност (граница на откривање, граница на квантификација, граница на незабележливост)

Границата на откривање (LoD) е најниското ниво на мутацијата на NPM1/ABL на кое 95 % од примероците постојано се даваат како „**ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [##,## %] (NPM1 Mutation DETECTED [##,## %])**“. LoD беше поединечно утврдена за поттиповите mutA, mutB и mutD со тестирање сериски разредувања на лизати на клетки позитивни на мутација на NPM1 и клинички лизати во кои го има секој поттип на мутацијата. Соодветните граници на откривање беа проценети и потврдени во согласност со CLSI EP17-A2¹⁰. Анализите кои произлегоа дадоа LoD од 0,025 % за mutA, 0,023 % за mutB и 0,030 % за mutD (Табела 5). Највисоката LoD меѓу трите поттипа при 0,030 % е земена како вкупна LoD на тестот Xpert NPM1 Mutation.

Границата на квантификација (LoQ) е најниското ниво на мутацијата на NPM1/ABL над кое примероците може да се квантификуваат со стандардна девијација $\leq 0,36$ логаритамска редуција (LR) за средни логаритамски редуции над 3,5. Во согласност со CLSI EP17-A2¹⁰, границите на квантификација беа проценети и потврдени на 0,025 % за поттипот mutA, 0,023 % за поттипот mutB и 0,030 % за поттипот mutD (Табела 5). Највисоката LoQ меѓу трите поттипа при 0,030 % е земена како вкупна LoQ на тестот Xpert NPM1 Mutation.

Границата на слепи примероци (LoB) е највисокиот резултат на мутацијата на NPM1/ABL што се очекува меѓу 95 % од слепите примероци од претпоставено негативните донори на мутација на NPM1. Во согласност со CLSI EP17-A2¹⁰, LoB на тестот Xpert NPM1 Mutation беше проценета и потврдена на 0,0085 % (Табела 5).

Табела 5. Граница на откривање, граница на квантификација и граница на слепи примероци на тестот Хpert NPM1 Mutation [% на мутација на NPM1/ABL]

Поттип	LoD [% на мутација на NPM1/ABL]	LoQ [% на мутација на NPM1/ABL]	LoB [% на мутација на NPM1/ABL]
mutA	0,025 %	0,025 %	0,0085 %
mutB	0,023 %	0,023 %	
mutD	0,030 %	0,030 %	

22.3 Аналитичка специфичност

Аналитичката специфичност на тестот Хpert NPM1 Mutation беше одредена со тестирање примероци на периферна крв тестирани со EDTA земени од дваесет и пет здрави крводарители.

Не беше добиен ниту еден резултат ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 (NPM1 Mutation **DETECTED**) од кој било од претпоставено негативните примероци на мутација на NPM1 кои беа проценети во оваа студија. На тој начин, тестот Хpert NPM1 Mutation е специфичен за транскриптите на mRNA на мутантниот NPM1 (типови А, В и D во егзон 12) поврзани со AML и има аналитичка специфичност од 100 % за примероци на периферна крв EDTA.

22.4 Процена на пренесената контаминација

Беше спроведена студија за да се покаже дека затворените патрони GeneХpert за еднократна употреба спречуваат пренесена контаминација од тестирање на патроните последователно во истиот модул на инструменти. Претпоставено негативен примерок на мутација на NPM1 беше тестиран по високо позитивен примерок на мутација на NPM1 во истиот модул на GeneХpert. Шемата на тестирање беше повторена 10 пати на два модули GeneХpert (вкупно 22 негативни и 20 позитивни). Сите тестирања на позитивниот примерок го покажаа очекуваниот резултат „ОТКРИЕНА Е мутација на NPM1 [#,#%] (NPM1 Mutation **DETECTED** [#,#%])“, а сите тестирања на негативните примероци го покажаа очекуваниот резултат „НЕ Е ОТКРИЕНА мутација на NPM1 [доволен транскрипт на ABL] (NPM1 Mutation **NOT DETECTED** [Sufficient ABL transcript])“.

22.5 Потенцијално интерферирачки супстанции

Во оваа студија беа проценети пет супстанции кои може да се присутни во примероците на периферна крв EDTA со потенцијал за интерферирање со ефикасноста на тестот. Тестираните компоненти и нивоа (погледнете во Табела 6) беа засновани на водичот од документот EP07-ED3¹¹ на CLSI. Интерферентите беа тестирани во примероци на периферна крв EDTA направени со лизати на култивирани клетки позитивни на мутација на NPM1, кои претставуваат три нивоа: > 1 %, 0,1 – 0,5 % и негативен. Контролите на тестот се состоеја од истите примероци без потенцијално интерферирачките супстанции. Секое ниво беше тестирано во отсуство и во присуство на петте поединечни интерферирачки супстанции со 4 копии по услов. Супстанцијата се сметаше за неинтерферирачка ако, во нејзино присуство, средниот процентуален сооднос беше во рамките на трикратната разлика при споредбата со контролата.

Не беа забележани клинички значителни инхибиторни ефекти на тестот Хpert NPM1 Mutation со која било од интерферирачките супстанции што беа проценети во оваа студија. Не беа забележани статистички значителни разлики (p-вредност < 0,05) во кои било тестирани услови, а дадените процентуални соодноси меѓу условите на тестот и контролите беа во рамките на прифатливиот трикратен опсег.

Табела 6. Потенцијално интерферирачки тестирани супстанции со користење Хpert NPM1 Mutation

Интерферирачки супстанции	Тестирана концентрација
Неконјугиран билирубин	20 mg/dl
Холестерол, вкупен	500 mg/dl
Триглицериди, вкупно (липиди)	3000 mg/dl

Интерферирачки супстанции	Тестирана концентрација
Хепарин	3500 U/l
EDTA (помалку од препорачаната количина)	930 mg/dl

23 Репродуцибилност и прецизност

Студијата е дизајнирана во согласност со општите принципи усвоени во стандардот CLSI EP05-A3 за повеќекратно спроведена во три центри. Дизајнот на студијата вклучи членови на панелот на примероци кои ги вклучуваа мутациите А, В и D во две концентрации. Седум членови на панелот беа тестирани во дупликати, две тестирања на ден, за вкупно 6 дена од страна на два оператори во три различни центри (3 центри × 2 оператори × 3 серии × 2 дена × 2 теста × 2 копии = 144 резултати од тестот/член на панелот). Панелите за репродукцибилност и прецизност беа подготвени од Serheid и се состојат од седум членови на панелот како што е прикажано во Табела 7. Панелите беа направени во симулирана матрица на периферна крв (PB) EDTA.

Табела 7. Панели за прецизност и репродукцибилност

Член на панелот	Цел	Ниво на процентуален сооднос (PR)
1	Негативен	НП
2	Мутација А на NPM1	Умерено позитивен (~ 5 %)
3	Мутација А на NPM1	Ниско позитивен (~ 0,2 %)
4	Мутација В на NPM1	Умерено позитивен (~ 5 %)
5	Мутација В на NPM1	Ниско позитивен (~ 0,2 %)
6	Мутација D на NPM1	Умерено позитивен (~ 5 %)
7	Мутација D на NPM1	Ниско позитивен (~ 0,2 %)

Бројот на примероци со важечки резултати за секој член на панелот анализиран од секој од двата оператори во сите три центри е прикажан во Табела 8.

Табела 8. Репродуцибилност и прецизност: број на тестови со важечки резултати

Член на панелот		Центар 1			Центар 2			Центар 3			Вкупно примероци
		Оператор 1	Оператор 2	Центар	Оператор 1	Оператор 2	Центар	Оператор 1	Оператор 2	Центар	
1	Негативен	24/24 ^a	(24/24)	(48/48) ^a	(24/24) ^b	(24/24)	(48/48) ^b	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
2	LR1.3: mut A (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 5 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

Член на панелот		Центар 1			Центар 2			Центар 3			Вкупно примероци
		Оператор 1	Оператор 2	Центар	Оператор 1	Оператор 2	Центар	Оператор 1	Оператор 2	Центар	
7	LR2.7: mut D (сооднос од ~ 0,2 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) ^c	(24/24)	(48/48) ^c	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

- a Два негативни примероци имаа важечки но откриени резултати (FP)
- b Еден негативен примерок имаше важечки но откриен резултат (FP)
- c Еден примерок LR 2.7: mut D (сооднос ~ 0,2 %) имаше важечки но неоткриен резултат (FN)

Квантитативните резултати беа анализирани со вгнездена анализа на варијанса (ANOVA) со случајни ефекти и коефициентот на варијација (CV). Резултатите од пресметката со ANOVA за стандардната девијација и варијансата за секој позитивен примерок се дадени во Табела 9. Варијансата и процентот на вкупната варијанса со кои учествува секоја компонента (центар/инструмент, оператор, серија, ден, тестирање) се прикажани како SD и процентуално учество на секоја компонента.

Табела 9. Резултати од коефициентот на варијација (CV): Процентуален сооднос (PR)

Член на панелот	N	Средна вредност	Центар		Оператор		Серија		Ден		Циклус		Во рамки на анализа		Вкупно	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1.3: mut A (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 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 (сооднос од ~ 0,2 %)	143 ^a	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

- a Еден примерок не беше откриен од Xpert NPM1 и беше исклучен од анализата бидејќи немаше квантитативно мерење.

Вкупниот процент на коефициентот на варијација (CV) од процентуалниот сооднос што ги дава квантитативните вредности за умерено позитивните примероци LR1.3: mut A, mut B и mut D (сооднос од ~ 5 %) се движеше од 21,74 до 26,23, а за ниско позитивните примероци LR2.7: mut A, mut B и mut D (сооднос од ~ 0,2 %) се движеше од 20,68 до 79,22.

24 Референци

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>. Пристапено на 16 септември 2020 г.
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 (погледнете го последното издание). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (погледнете го последното издание).
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 Локации на седиштата на Cepheid

Корпоративно седиште

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европско седиште

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

26 Техничка помош

Соберете ги следните информации пред да стапите во контакт со одделот за техничка поддршка на Cepheid:

- Име на производот
- Број на серијата
- Сериски број на инструментот
- Пораки за грешка (ако има)
- Верзија на софтверот и, ако е применливо, број на ознаката за сервис на компјутерот

Соединети Држави





















Телефон: + 1 888 838 3222
Е-пошта: techsupport@cepheid.com

Франција

Телефон: + 33 563 825 319
Е-пошта: support@cepheideurope.com

Информациите за контакт за сите канцеларии за техничка поддршка на Cepheid се достапни на нашата интернет-страница: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

27 Табела на симболи

Симбол	Значење
	Каталошки број
	Ознака CE – Европска сообразност
	Медицински уред за <i>ин витро</i> дијагностика
	Шифра на серијата
	Да не се употребува повторно
	Погледнете го упатството за употреба
	Производител
	Земја на производство
	Содржи доволно за <i>n</i> тестови
	Контрола
	Рок на траење
	Ограничување на температурата
	Биолошки ризици
	Внимание
	Запаливи течности
	Репродуктивна токсичност и токсичност за органите
	Предупредување
	Овластен претставник во Европската заедница
	Овластен претставник во Швајцарија
	Увозник



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
САД
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франција
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 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 Историја на ревизии

Дел	Опис на промената
23	Поправена е грешка во делот „Репродуцибилност и прецизност“.