

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

**REF** GXNPM1-CE-10

Navodila za uporabo

**IVD** CE

## **Blagovna znamka, patenti in izjave o avtorskih pravicah**

### **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>, logotip Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> in Xpert<sup>®</sup> so blagovne znamke družbe Cepheid, registrirane v ZDA in drugih državah.

Vse druge blagovne znamke so v lasti njihovih lastnikov.

NAKUP TEGA IZDELKA NA KUPCA PRENESE NEPRENOSLJIVO PRAVICO DO NJEGOVE UPORABE V SKLADU S TEMI NAVODILI ZA UPORABO. NA KUPCA SE NE PRENESE IZRECNO, IMPLICITNO ALI S PREKLUZIJO NOBENIH DRUGIH PRAVIC. POLEG TEGA SE Z NAKUPOM TEGA IZDELKA NE PRIDOBİ PRAVIC ZA PREPRODAJO.

© 2022–2023 Cepheid.

Za opis sprememb glejte Razdelek 28 Zgodovina revizij.

# Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

---

Za *in vitro* diagnostično uporabo.

## 1 Lastniško ime

Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

## 2 Splošno ali običajno ime

Xpert NPM1 Mutation

## 3 Predviden namen

### 3.1 Namen uporabe

Test Xpert NPM1 Mutation, opravljen na Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> Dx System, je *in vitro* diagnostični test za določanje prepisov mRNK z mutiranim NPM1 (tipi A, B in D v eksonu 12) v vzorcih periferne krvi bolnikov z akutno mieloično levkemijo (AML). Test uporablja avtomatizirano verižno reakcijo s polimerazo z reverzno transkripcijo v realnem času (RT-PCR) in poroča o odstotnem razmerju med mutiranimi NPM1 in ABL1 v endogenih kontrolnih prepisih mRNK. Test je namenjen za pomoč pri spremljanju ravnih prepisov mRNK z mutiranim NPM1 pri bolnikih z AML z mutacijami NPM1. Test mora biti uporabljen skupaj z drugimi klinično-patološkimi dejavniki.

Test Xpert NPM1 Mutation ne razlikuje med prepisi z mutiranim NPM1 tipa A, B ali D ter ne zaznava in ne spremlja drugih redkih tipov mutiranega NPM1. Ta test ni namenjen diagnosticiranju AML.

### 3.2 Predvideni uporabnik/okolje

Za test Xpert NPM1 Mutation je predvideno, da ga izvajajo usposobljeni uporabniki v laboratorijskem okolju.

## 4 Povzetek in razlaga

Akutna mieloična levkemija (AML) je rak krvotvornih matičnih celic mieloidne krvi v kostnem mozgu<sup>1,2</sup> s katerim so povezane različne mutacije eksona 12 nukleofosmina (NPM1)<sup>3</sup>. Vstavitve nukleotidov v ekson 12 povzročijo premik bralnega okvirja in ustvari jedrni izvozni signal (NES). Mutacije v genu NPM1 povzročijo aberantno citoplazmatsko lokalizacijo NPM1 in beljakovin, ki delujejo z NPM1. NPM1 je eden izmed najbolj mutiranih genov pri AML, saj se mutacije pojavijo v 28 % do 35 % vseh primerov AML. Trenutno je v preskušanju več zdravil, ki ciljajo na mutirani NPM1, vendar pa na voljo ni nobenih ciljnih terapij z odobritvijo uprave FDA.<sup>4</sup>

Gen NPM1 kodira jedrno transportno beljakovino, ki ima vlogo v biologiji centrosomov in ribosomov, pa tudi pri regulaciji drugih celičnih sistemov, vključno s potmi zaviralcem tumorjev. NPM1 je nukleolarni fosfoprotein, ki deluje kot transportno sredstvo med jedrom in citoplazmo. NPM1 uravnava transport ribosomskih delcev skozi jedrno membrano. Mutacije NPM1 so bile prvič odkrite pri posameznikih z AML po opazovanju nenormalne citoplazemske lokacije namesto normalne lokacije jedra. Genetska ocena levkemičnih blastov v kombinaciji s citoplazemsko lokacijo NPM1 je privedla do opredelitve znanih premikov bralnega okvirja eksona 12.<sup>3</sup> Najpogostejše mutacije NPM1 so tipa A (~ 75–80 %), tipa B (~ 10 %) in tipa D (~ 5 %). Do vseh pride v eksonu 12, kar povzroči premik bralnega okvirja zaradi vstavitve štirih nukleotidov. Mutacija pri bolnikih z AML povzroči izgubo signala nukleolarne lokalizacije in aberantno citoplazemsko lokalizacijo beljakovine.<sup>5</sup>

## 5 Načelo postopka

Test Xpert NPM1 Mutation je avtomatiziran test za določanje količine prepisov mutacije NPM1 kot razmerja mutacij NPM1/ABL1. Test se izvaja na Cepheid GeneXpert Dx System, ki avtomatizira in integrira prečiščevanje vzorca, amplifikacijo nukleinske kisline in zaznavanje ciljnega zaporedja v enostavnih ali kompleksnih vzorcih s pomočjo testov RT-PCR in ugnezdenih PCR v realnem času. Sistem sestavljajo instrument, računalnik in vnaprej naložena programska oprema za izvajanje testov in ogledovanje rezultatov. Sistem uporablja vložke GeneXpert za enkratno uporabo, ki vsebujejo reagente za RT-PCR in ugnezdene PCR in v katerih potekajo procesi RT-PCR in ugnezdene PCR. Za celoten opis sistema glejte ustrezni *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Test Xpert NPM1 Mutation vključuje reagente za odkrivanje mutacije NPM1 in prepisa ABL1 kot endogene kontrole v vzorcih periferne krvi. Količina prepisa mutacije NPM1 je količinsko določena kot odstotno razmerje med mutacijo NPM1/ABL1. V testu Xpert NPM1 Mutation sta vključeni dve kontroli – endogena kontrola (ABL1) in kontrola za preverjanje sonde (PCC). Endogena kontrola ABL1 normalizira tarčo mutacije NPM1 in zagotavlja, da se v testu uporabi zadostna količina vzorca. PCC preverja rehidracijo reagenta, polnjenje epruvete za PCR in da so v vložku prisotne vse komponente, vključno s sondami in barvili, in da delujejo.

## 6 Reagenti in instrumenti

### 6.1 Materiali na voljo

Komplet Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) vsebuje dovolj reagentov za obdelavo 10 vzorcev ali kontrol kakovosti. Komplet vsebuje naslednje:

#### Xpert NPM1 Mutation Reagenti V kompletu vsakih 10

<b>Proteinaza K (PK)</b>	<b>10 × 130 µl na vialo</b>
<b>Sestavina</b>	<b>Sestavina reagenta</b>
Proteinaza K	< 5 %
<b>Reagent za lizo (LY) (gvanidinijev klorid)</b>	<b>10 × 5,3 ml na vialo</b>
<b>Sestavina</b>	<b>Sestavina reagenta</b>
Gvanidinijev klorid	25–50 %
Urea	25–50 %
Natrijev dodecil sulfat	< 2 %
<b>Reagent za izpiranje</b>	<b>10 × 2,9 ml na ampulo</b>
<b>Sestavina</b>	<b>Sestavina reagenta</b>
Etanol	< 50 %
Gvanidinij tiocianat	< 50 %

Xpert NPM1 Mutation Vložki z vgrajenimi reakcijskimi epruvetami		10 na komplet
Sestavina	Sestavina reagenta	Količina
Zrno 1 (liofilizirano)	Encim: Taq DNK polimeraza < 50 e./zrno	1 na vložek
	dNTPs < 0,05 %	
Zrno 2 (liofilizirano)	Začetni oligonukleotidi in sonde < 0,005 %	1 na vložek
Zrno 3 (liofilizirano)	Začetni oligonukleotidi in sonde < 0,005 %	1 na vložek
Zrno 4 (liofilizirano)	Encim: Taq DNK polimeraza < 50 e./zrno	1 na vložek
	dNTPs < 0,05 %	
Reagent za izpiranje	Kalijev klorid < 4%	2 ml na vložek
	Natrijev azid < 0,1%	
	Polietilen glikol < 40 %	
	Tween 20 < 0,2 %	
Elucijski reagent	Trizma baza < 0,3 %	2,5 ml na vložek
	Trizma hidroklorid < 0,1 %	
	Natrijev azid < 0,05 %	

**CD****1 na komplet**

- Datoteka z opredelitvijo testa (Assay Definition File – ADF)
- Navodila za uvoz ADF v programsko opremo GeneXpert
- Navodila za uporabo

**Opomba**

Goveji serumski albumin (BSA) v zrnih v tem izdelku je bil izdelan in proizveden izključno iz goveje plazme, pridobljene v Združenih državah. Živali niso bile hranjene z beljakovinami prežvekovalcev ali drugih živali. Živali so bile testirane pred zakolom in po njem. Med obdelovanjem se material ni mešal z drugimi živalskimi materiali.

**Opomba**

Certifikati analize in Podatkovni listi s specifikacijami serije so na voljo pri tehnični podpori družbe Cepheid.

## 7 Materiali, ki so potrebni, a niso dostavljeni

- GeneXpert Dx System (kataloška številka se razlikuje glede na konfiguracijo): instrument GeneXpert, računalnik, bralnik črtnih kod in uporabniški priročnik.
- Za GeneXpert Dx System: GeneXpert Dx različica programske opreme 6.2 ali novejša.
- Tiskalnik: Če potrebujete tiskalnik, stopite v stik z oddelkom za tehnično podporo družbe Cepheid, da se dogovorite za nakup priporočenega tiskalnika.
- Vibracijski mešalnik
- Mikrocentrifuga (najmanj 1000 × g)
- Pipete in nastavki pipet s filtrom za aerosol
- 50-mililitrske konične epruvete
- Absolutni etanol kakovosti reagenta
- 1X PBS, pH 7,4

## 8 Shranjevanje in uporaba

- Vsebino kompleta Xpert NPM1 Mutation hranite pri temperaturi 2–8 °C do datuma izteka roka uporabnosti, navedenega na oznaki.
- Pokrovčka vložka ne odpirajte, dokler niste pripravljeni na izvajanje testa.
- Ne uporabljajte vložkov, ki jim je potekel rok uporabnosti.

- Ne uporabljajte vložka, ki pušča.
- Reagent za izpiranje je bistra brezbarvna tekočina. Ne uporabljajte reagenta za izpiranje, ki je postal moten ali je spremenil barvo.
- Dvajset (20) minut pred začetkom postopka vzemite vzorec krvi, vložek in reagente za pripravo vzorca iz shrambe, da se ogrejejo na sobno temperaturo (20–30 °C).

## 9 Opozorila in previdnostni ukrepi

### 9.1 Splošno

- Za *in vitro* diagnostično uporabo.
- Z vsemi biološkimi vzorci, kar vključuje uporabljene vložke in reagente, ravnajte kot če bi lahko prenašali kužna sredstva. Ker pogosto ni mogoče vedeti, kateri so lahko kužni, je treba vse biološke vzorce obravnavati s standardnimi previdnostnimi ukrepi.
- Smernice za ravnanje z vzorci so na voljo pri Centru za nadzor in preprečevanje bolezni v ZDA<sup>6</sup> in Inštitutu za klinične in laboratorijske standarde (CLSI).<sup>7</sup>
- Upoštevajte varnostne postopke svoje ustanove za delo s kemikalijami in ravnanje z biološkimi vzorci.
- Značilnosti učinkovitosti tega testa so bile potrjene samo s krvjo, odvzeto v epruvete z EDTA. Delovanje testa ni bilo ocenjeno z drugimi vrstami vzorcev.
- Zanesljivi rezultati so odvisni od zbiranja zadostnih vzorcev, njihovega transporta, shranjevanja in obdelave. Do napačnih rezultatov lahko pride zaradi nepravilnega odvzema, rokovanja ali shranjevanja vzorca, tehnične napake, zamenjave vzorca ali zato, ker je tarčni prepis v vzorcu pod mejo zaznavnosti testa. Da bi se izognili napačnim rezultatom, je treba natančno upoštevati ta navodila za uporabo in *GeneXpert Dx System Operator Manual*.
- Izvedba testa Xpert NPM1 Mutation izven priporočenih časovnih in temperaturnih razponov za shranjevanje kompleta ali vzorca lahko povzroči napačne ali neveljavne rezultate.
- Biološke vzorce, pripomočke za prenašanje in uporabljene vložke je treba obravnavati kot sposobne prenašanja kužnih sredstev, ki zahtevajo standardne previdnostne ukrepe. Za pravilno odstranitev uporabljenih vložkov in neuporabljenih reagentov upoštevajte smernice svoje ustanove za ravnanje z okoljskimi odpadki. Ti materiali imajo lahko lastnosti kemičnih nevarnih odpadkov, ki jih je treba obravnavati po točno določenih nacionalnih ali regionalnih postopkih za odlaganje. Če nacionalni ali regionalni predpisi ne vključujejo jasnih navodil za pravilno odstranjevanje, je treba biološke vzorce in uporabljene vložke odstraniti skladno s smernicami SZO za ravnanje z medicinskimi odpadki in njihovo odstranjevanje.<sup>8</sup>

### 9.2 Vzorec

- Vzdržujte ustrezne pogoje shranjevanja, ki zagotavljajo celovitost vzorca (glejte Razdelek 11, Zbiranje in shranjevanje vzorcev). Stabilnost vzorca pri pogojih pri pošiljanju, drugačnih od priporočenih, ni bila ocenjena.
- Ne zamrzujte vzorcev periferne krvi z EDTA.
- Ustrezen odzem, shranjevanje in transport vzorca so bistveni za pravilne rezultate.


### 9.3 Test/reagent

- Reagentov Xpert NPM1 Mutation ne nadomestite z drugimi reagenti.
- Pokrovčka vložka Xpert NPM1 Mutation ne odpirajte, razen ko dodajate vzorec in reagent za izpiranje.
- Ne uporabljajte vložka, ki vam je padel, ko ste ga vzeli iz ovojnine.
- Vložka ne stresajte. Če vložek stresate oziroma vam ta pade po odprtju pokrovčka vložka, lahko pride do neveljavnih rezultatov.
- Oznake ID vzorca ne namestite na pokrovček vložka ali na oznako s črtno kodo vložka.
- Ne uporabljajte vložka s poškodovano oznako s črtno kodo.
- Ne uporabljajte vložka, ki ima poškodovano reakcijsko epruveto.
- Priporočljivo je, da vložke testa Xpert NPM1 Mutation ob uporabi za testiranje hranite pri sobni temperaturi (20–30 °C).
- Vsak vložek za enkratno uporabo v Xpert NPM1 Mutation se uporabi za obdelavo enega testa. Obdelanih vložkov ne uporabite znova.
- Celotno vsebino ene ampule reagenta za izpiranje (1) prenesite v komoro reagenta za izpiranje. Če niste dodali reagenta za izpiranje, lahko to povzroči napačen rezultat **NI ZAZNANO** (NOT DETECTED).

- Uporabljenih nastavkov pipete ne uporabite ponovno.
- Ne uporabite vložka, če je videti moker ali če tesnilo pokrovčka deluje nepopolno.
- Vložka Xpert NPM1 Mutation ne uporabite, če ste dodali reagent v napačno odprtino.
- Po končanem testu ne odpirajte vložkov Xpert NPM1 Mutation.
- Komplet pipet in reagentov namenite izključno za pripravo vzorcev.
- Uporabljajte čiste laboratorijske halje in rokavice. Po rokovanju z vsakim vzorcem zamenjajte rokavice.
- V primeru razlitja vzorca ali kontrol natakните rokavice in razlitje popivnjajte s papirnatimi brisačami. Nato kontaminirano območje temeljito očistite z raztopino gospodinjskega belila na osnovi klora v razmerju 1 : 10. Končna koncentracija aktivnega klora mora biti 0,5 % ne glede na dovoljeno koncentracijo gospodinjskega belila v vaši državi. Dovolite najmanj dve minuti časa za stik.
- Preden uporabite 70-odstotni denaturiran etanol za odstranitev ostankov belila, se prepričajte, da je delovno območje suho. Pred nadaljevanjem počakajte, da se delovna površina popolnoma posuši. Alternativno v primeru kontaminacije ali razlitja upoštevajte standardne postopke vaše ustanove. Za opremo upoštevajte priporočila proizvajalca za dekontaminacijo.

## 10 Kemične nevarnosti

**Opomba** Spodnje informacije veljajo za celoten izdelek, ki vsebuje proteinazo K, reagente za lizo, izpiranje in splakovanje.

- Piktogram za nevarnost CLP/GHS: 
- Opozorilna beseda: NEVARNOST
- **Stavki o nevarnostih UN GHS**
  - Lahko vnetljiva tekočina in hlapi H225.
  - Povzroča draženje kože H315.
  - Povzroča hudo draženje oči H319.
  - Lahko povzroči zaspanost ali omotico H336.
  - Sum povzročitve genetskih okvar H341.
- **Previdnostni stavki UN GHS**
  - **Preprečevanje**
    - Za posebna navodila pred uporabo glejte Varnostni list.
    - Pred uporabo pridobiti posebna navodila.
    - Ne uporabljajte, dokler se ne seznanite z vsemi varnostnimi ukrepi.
    - Hraniti ločeno od vročine, isker, odprtega ognja in/ali vročih površin. Kajenje prepovedano.
    - Hraniti v tesno zaprti posodi.
    - Izogibajte se vdihavanju meglice/hlapov/pršila.
    - Po uporabi temeljito umiti roke.
    - Uporabljati le zunaj ali v dobro prezračenem prostoru.
    - Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
    - Uporabiti predpisano osebno zaščitno opremo.
  - **Odziv**
    - Ob POŽARU: Za gašenje se uporabi primerno sredstvo.
    - PRI VDIHAVANJU: Prenesti žrtev na svež zrak in jo pustiti počivati v položaju, ki olajša dihanje.
    - Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika.
    - PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo/prho.
    - Posebno zdravljenje, glejte dodatne informacije o prvi pomoči.
    - Sleči kontaminirana oblačila in jih oprati pred ponovno uporabo.
    - Če nastopi draženje kože: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
    - PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.
    - Če draženje oči ne preneha: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
    - Pri izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
  - **Shranjevanje/odstranjevanje**

- Hraniti na hladnem.
- Hraniti na dobro prezračevanem mestu.
- Hraniti v tesno zaprti posodi.
- Hraniti zaklenjeno.
- Vsebinsko in/ali vsebnik odstranite v skladu z lokalnimi, regionalnimi, nacionalnimi in/ali mednarodnimi predpisi.

## 11 Odvzem vzorca in shranjevanje

- Vzorci periferne krvi morajo biti v epruvete z EDTA odvzeti v skladu s smernicami vaše ustanove. Plazma ne sme biti ločena od celic.
- Vzorci morajo biti shranjeni pri temperaturi od 2 °C do 8 °C, in sicer največ 3 dni (72 ur) pred testiranjem.
- Pravilen odvzem in shranjevanje vzorcev sta bistvenega pomena za delovanje tega testa. Stabilnost vzorca pri pogojih shranjevanja, drugačnih od tistih, ki so priporočeni v spodnji rubriki „Razdelek 12, postopek“, za test Xpert NPM1 Mutation ni bila ocenjena.

## 12 Postopek

### 12.1 Pred začetkom

Dvajset (20) minut pred začetkom postopka vzemite vzorec krvi, reagente za pripravo vzorca in vložke iz hladilnika, da se ogrejejo na sobno temperaturo. Na kratko zavrtite proteinazo K (PK) v mikrocentrifugi.

---

**Pomembno** Ko vložku dodate vzorec, obdelan z vzorčnim reagentom, s testom začnite v roku 1 ure.

---

**Pomembno** Pred pripravo vzorca vložek odstranite iz kartonske embalaže. (Glejte Razdelek 12.3, Priprava vložka).

---

### 12.2 Priprava vzorca

#### 12.2.1 Priprava vzorca z neznanim številom belih krvničk (WBC) ali vzorcev z manj kot 30 milijonov levkocitov/ml

1. Na dno nove, označene 50-mililitrske konične epruvete dodajte 100 µl proteinaze K (PK).
2. Zagotovite, da je vzorec krvi dobro premešan tako, da epruveto za odvzem vzorca 8-krat obrnete neposredno pred pipetiranjem. Glejte navodila proizvajalca za epruvete za odvzem krvi z EDTA.
3. V epruveto, ki že vsebuje PK, dodajte 4 ml vzorca krvi.
4. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 3 sekunde.
5. Vzorec inkubirajte 1 minuto pri sobni temperaturi.
6. V isto epruveto dodajte 2,5 ml reagenta za lizo (LY).

---

**Opomba** Shranite preostali reagent za lizo, da ga boste ponovno uporabili v koraku 13.

---

7. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
8. Vzorec inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi.
9. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
10. Vzorec inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi.
11. Premešajte vzorec tako, da 10-krat potrepate dno epruvete.
12. Prenesite 1 ml pripravljene lizate v novo, označeno 50-mililitrsko konično epruveto.

---

**Opomba** Preostali lizat lahko hranite pri 2–8 °C do 48 ur, lahko pa ga hranite pri -20 °C ali manj do 1 meseca.

---

13. V novo konično epruveto z lizatoma dodajte 1,5 ml preostalega LY iz koraka 6.
14. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
15. Vzorec 10 minut inkubirajte pri sobni temperaturi.
16. V isto konično epruveto dodajte 2 ml absolutnega etanola kakovosti reagenta (priskrbi uporabnik).



17. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund. Postavite na stran.
18. Zavržite morebitni preostali PK ali reagent za lizo.

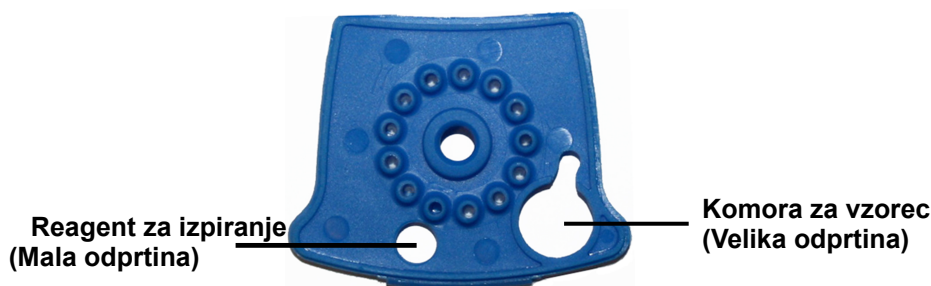
### 12.2.2 Priprava vzorca z vrednostjo WBC, ki je enaka ali večja od 30 milijonov WBC/ml

1. Na dno nove 50-mililitrske konične epruvete dodajte 100 µl PK.
2. Zagotovite, da je vzorec krvi dobro premešan tako, da epruveto za odvzem vzorca 8-krat obrnete neposredno pred pipetiranjem. Glejte navodila proizvajalca za epruvete za odvzem krvi z EDTA.
3. V epruveto, ki že vsebuje PK, dodajte 250 µl vzorca krvi in 3,75 ml 1xPBS (pH7,4, priskrbi uporabnik).
4. Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 3 sekunde.
5. Vzorec inkubirajte 1 minuto pri sobni temperaturi.
6. Sledite korakom 6–17 v Razdelek 12.2.1 za pripravo končnega lizata.
7. Zavržite morebitni preostali PK ali reagent za lizo.

## 12.3 Priprava vložka

Dodajanje vzorca v vložek testa Xpert NPM1 Mutation:

1. Vložek odstranite iz kartonske embalaže.
2. Preverite, ali je vložek poškodovan. Če je poškodovan, ga ne uporabljajte.
3. Vložek odprite, tako da dvignete pokrovček vložka in prenesite celotno vsebino ene (1) ampule reagenta za izpiranje v komoro reagenta za izpiranje (z majhno odprtino). Glejte Slika 1.
4. Odpipetirajte vso vsebino pripravljenega vzorca (4,5 ml) v komoro za vzorec (velika odprtina). Glejte Slika 1.



Slika 1. Xpert NPM1 Mutation Vložek (pogled od zgoraj)

5. Zaprite pokrovček vložka. Poskrbite, da se pokrovček dobro zapre. Začnite s testom (glejte poglavje 11.4, Začetek testa).

## 12.4 Začetek testa

**Pomembno** Pred začetkom testa preverite, da sistem uporablja različico programske opreme GeneXpert Dx 6.2 ali novejšo in da je v programsko opremo uvožena pravilna datoteka za opredelitev testa. Ta razdelek navaja privzete korake za upravljanje s sistemom GeneXpert Dx System.

**Opomba** Koraki, ki sledijo, so lahko drugačni, če je skrbnik sistema spremenil privzeti potek dela sistema.

1. Vključite sistem GeneXpert tako, da najprej vklopite instrument GeneXpert Dx in nato vklopite računalnik. Samodejno se bo zagnala programska oprema GeneXpert Dx, morda pa bo zahtevan dvoklik na ikono bližnjice za programsko opremo GeneXpert Dx na namizju Windows®.
2. Prijavite se v programsko opremo GeneXpert s svojim uporabniškim imenom in geslom.
3. V oknu sistema GeneXpert kliknite na **Ustvari test (Create Test)** (GeneXpert Dx). Odpre se okno **Ustvari test (Create Test)**.
4. Skenirajte ali vtipkajte ID bolnika (Patient ID). Če vtipkate ID bolnika (Patient ID), preverite, da ste ga vtipkali pravilno. ID bolnika (Patient ID) je povezan z rezultati testa in je prikazan v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in v vseh poročilih. Odpre se pogovorno okno **Skeniranje črtnih kode ID vzorca (Scan Sample ID barcode)**.
5. Skenirajte ali vtipkajte ID vzorca (Sample ID). Če vtipkate ID vzorca (Sample ID), preverite, ali ste ga vtipkali pravilno. ID vzorca (Sample ID) je prikazan na levi strani okna **Ogled rezultatov (View Results)** in vseh poročil. Odpre se pogovorno okno **Skeniranje črtnih kode vložka (Scan Cartidge barcode)**.

6. Skenirajte črtno kodo na vložku Xpert NPM1 Mutation. Programska oprema z informacijami črtne kode samodejno izpolni naslednja polja: ID serije reagentov (Reagent Lot ID), Serijska št. vložka (Cartridge SN) in Rok uporabnosti (Expiration Date).

**Opomba**

Če črtne kode na vložku testa Xpert NPM1 Mutation ni mogoče skenirati, ponovite test z drugim vložkom. Če ste s programsko opremo optično prebrali črtno kodo vložka in datoteka z definicijo testa ni na voljo, se prikaže zaslon, ki kaže, da datoteka z opredelitvijo testa ni naložena v sistem. Če se pojavi ta zaslon, se obrnite na tehnično podporo družbe Cepheid.

7. Kliknite **Začni test (Start Test)**. V pogovorno okno, ki se pojavi, boste morebiti morali vtiskati svoje geslo.
8. Odprite vrata modula instrumenta z utripajočo zeleno lučjo in naložite vložek.
9. Zaprite vrata. Test se začne izvajati, zelena luč pa preneha utripati. Ko je test končan, se luč izklopi.
10. Preden odprete vrata in odstranite vložek, počakajte, da sistem sprostí zaklepni mehanizem vrat.
11. Uporabljene vložke odvrzite v ustrezen vsebnik za odpadne vzorce skladno s standardnimi praksami vaše ustanove.

**Opomba**

Rezultat bo na voljo čez manj kot 3 ure (približno 30 minut priprave vzorca in manj kot 2,5 ure izvajanja testa).

## 13 Pregledovanje in tiskanje rezultatov

V tem razdelku so navedeni osnovni koraki za ogled in tiskanje rezultatov. Za podrobnejša navodila o tem, kako pregledati in natisniti rezultate, glejte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Za ogled rezultatov kliknite ikono **Ogled rezultatov (View Results)**.
- Ko se test konča, kliknite gumb **Poročilo (Report)** na zaslonu **Ogled rezultatov (View Results)** in si oglejte in/ali ustvarite datoteko s poročilom v obliki PDF.

## 14 Kontrola kakovosti

Vsak vložek vključuje endogeno kontrolo ABL1 in kontrolo za preverjanje sonde (PCC).

**Endogena kontrola ABL1** – Endogena kontrola ABL1 preveri, da se v testu uporabi zadostna količina vzorca. Poleg tega ta kontrola zazna inhibicijo testa PCR v realnem času, povezano z vzorcem. ABL1 je uspešen, če ustreza dodeljenim merilom sprejemljivosti.

**Kontrola za preverjanje sonde (PCC)** – Pred začetkom reakcije PCR sistem GeneXpert izmeri signal fluorescence sond, da nadzira rehidracijo zrn, polnjenje reakcijske epruvete in ali delujejo vse v vložku prisotne komponente za reakcijo. PCC je uspešen, če vzorec ustreza dodeljenim merilom sprejemljivosti.

## 15 Tolmačenje rezultatov

Rezultate samodejno tolmači sistem GeneXpert iz izmerjenih fluorescentnih signalov in vgrajenih algoritmov za izračune, prikazani pa so v oknu Ogled rezultatov (View Results). Možni rezultati in interpretacije so prikazani v Preglednica 1.

Preglednica 1. Xpert NPM1 Mutation Rezultati testa in tolmačenje

Rezultat	Tolmačenje
<b>Mutacija NPM1 ZAZNANA (NPM1 Mutation DETECTED)</b> Glejte Slika 2, Slika 3, Slika 4	Zaznan je bil prepis mutacije NPM1. <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutacija NPM1 ZAZNANA (NPM1 Mutation DETECTED) – Zaznan je bil prepis mutacije NPM1 s pragom cikla (Ct) znotraj veljavnega razpona in končno točko nad nastavitvami praga.</li> <li>Možni zaznani rezultati:               <ul style="list-style-type: none"> <li>MUTACIJA NPM1 ZAZNANA [#,## %] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.##%]); Slika 2.</li> <li>MUTACIJA NPM1 ZAZNANA [Nad zgornjo LoQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); Slika 3.</li> <li>MUTACIJA NPM1 ZAZNANA [Pod LoD; &lt; #,### %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #.###%]); Slika 4.</li> </ul> </li> <li>ABL USPEŠNO (ABL PASS) – Zaznan je bil prepis ABL s pragom cikla (Ct) znotraj veljavnega razpona in končno točko nad nastavitvami praga.</li> <li>Preverjanje sonde USPEŠNO (Probe Check PASS) – Vsi rezultati testiranja sond so bili uspešni.</li> </ul>
<b>Mutacija NPM1 NI BILA ZAZNANA (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</b> Glejte Slika 5	Prepis mutacije NPM1 ni bil zaznan. <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutacija NPM1 NI BILA ZAZNANA [Dovolj prepisa ABL] (NPM1 Mutation DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – Prepis mutacije NPM1 s pragom cikla (Ct) nič ali nad zgornjim koncem veljavnega razpona in končno točko nad nastavitvami praga ni bil zaznan.</li> <li>ABL USPEŠNO (ABL PASS) – Zaznan je bil prepis ABL s pragom cikla (Ct) znotraj veljavnega razpona in končno točko nad nastavitvami praga.</li> <li>Preverjanje sonde USPEŠNO (Probe Check PASS) – Vsi rezultati testiranja sond so bili uspešni.</li> </ul>
<b>NEVELJAVNO (INVALID)</b> (Glejte Slika 6, Slika 7, Slika 8, Slika 9, Slika 10)	Ravni prepisa mutacije NPM1 ni mogoče določiti zaradi vzorca, ki vsebuje preveč prepisa mutacije NPM1 in/ali preveč ali premalo prepisa ABL. Za dodatna navodila za ponovno testiranje vzorca glejte Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav. <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutacija NPM1 NEVELJAVNA (NPM1 Mutation INVALID) – Prag cikla NPM1 (Ct) je bil nad ničlo in pod spodnjim koncem veljavnega razpona (Slika 8, Slika 9)</li> <li>ABL NEUSPEH (ABL FAIL) – Prag cikla (Ct) ni bil znotraj veljavnega razpona ali je bila končna točka pod nastavljenim pragom (Slika 6, Slika 7, Slika 8, Slika 10).</li> <li>Preverjanje sonde USPEŠNO (Probe Check PASS) – Vsi rezultati testiranja sond so bili uspešni.</li> </ul>
<b>NAPAKA (ERROR)</b> Glejte Slika 11	Ravni prepisa mutacije NPM1 ni mogoče določiti. Za dodatna navodila za ponovno testiranje vzorca glejte Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav. <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutacija NPM1 BREZ REZULTATA (NPM1 Mutation NO RESULT)</li> <li>ABL BREZ REZULTATA (ABL NO RESULT)</li> <li>Preverjanje sonde NEUSPEŠNO (Probe Check FAIL) – Neuspeh vseh ali enega od rezultatov testiranja sond.</li> <li>Preverjanje sonde USPEŠNO (Probe Check PASS) ali Ni smiselno (NA) in Prekinitev tlaka (Pressure Abort).*</li> </ul> <p>*Če je bilo preverjanje sond uspešno, je napako povzročilo preseganje sprejemljivega razpona meje najvišjega tlaka ali okvara komponente sistema.</p>
<b>BREZ REZULTATA (NO RESULT)</b>	Ravni prepisa mutacije NPM1 ni mogoče določiti. Za pridobitev rezultata testa je bilo zbranih premalo podatkov. Na primer, do tega lahko pride, če operater zaustavi testiranje, ki se je izvajalo. Za dodatna navodila za ponovno testiranje vzorca glejte Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav. <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutacija NPM1 BREZ REZULTATA (NPM1 Mutation NO RESULT)</li> <li>ABL BREZ REZULTATA (ABL NO RESULT)</li> <li>Preverjanje sonde ni smiselno (Probe Check NA)</li> </ul>

## 16 Kvantitativni rezultati

Kvantitativni rezultati Xpert NPM1 Mutation so podani kot odstotno razmerje mutacije NPM1/ABL1. Kompletom so dodeljene vrednosti učinkovitosti ( $E_{\Delta Ct}$ ), specifične za serijo, in faktorja skaliranja (SF), ki količinsko določanje mutacije NPM1 (A, B in D) in prepisov ABL1 povezujejo s številom kopij sintetične mutacije NPM1 in primarnimi standardi za ABL1 prepisani RNK *in vitro* (IVT-RNA).

**Preglednica 2. Primeri rezultatov testov Xpert NPM1 Mutation**

Test	Mutirani NPM1		ABL		Xpert NPM1 Mutation Rezultati testa	Opombe
	Ct	Rezultat <sup>a</sup>	Ct	Rezultat <sup>a</sup>		
1	5,2	NEVELJAVNO (INVALID)	5,8	NEUSPEH (FAIL)	NEVELJAVNO [Preveč prepisov mutacije NPM1 in ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	Ni na voljo
2	9	NEVELJAVNO (INVALID)	5,5	NEUSPEH (FAIL)	NEVELJAVNO [Preveč prepisov ABL] (INVALID [Too high ABL transcripts])	Ni na voljo
3	5,5	NEVELJAVNO (INVALID)	8,5	USPEŠNO (PASS)	NEVELJAVNO [Preveč prepisov mutacije NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	Ni na voljo
4	25,0	NEVELJAVNO (INVALID)	21,8	NEUSPEH (FAIL)	NEVELJAVNO [Premalo prepisa ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Ni na voljo
5	0	NEVELJAVNO (INVALID)	0	NEUSPEH (FAIL)	NEVELJAVNO [Brez prepisa ABL] (INVALID [No ABL transcript])	Ni na voljo
6	8,5	POZ (POS)	13,6	USPEŠNO (PASS)	Mutacija NPM1 ZAZNANA [Nad zgornjo LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]); .	Ni na voljo
7	22,5	POZ (POS)	14,8	USPEŠNO (PASS)	Mutacija NPM1 ZAZNANA [1,05 %] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Poročana vrednost: 1,05%
8	27,9	POZ (POS)	14,0	USPEŠNO (PASS)	Mutacija NPM1 ZAZNANA [Pod LoD; < 0,030 %](NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%]); .	Ni na voljo
9	0	NEG	14,6	USPEŠNO (PASS)	NEGATIVNO [Dovolj prepisa ABL] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	Ni na voljo
10	0	BREZ REZULTATA (NO RESULT)	0	BREZ REZULTATA (NO RESULT)	NAPAKA (ERROR)	Na primer: Napaka 5017 [ABL] (Error 5017 [ABL]), neuspešno preverjanje sonde

<sup>a</sup> Za podrobnosti glejte zavihek Analitični rezultati (Analyte Results) v programski opremi sistema GeneXpert Dx.

## 16.1 Mutacija NPM1 ZAZNANA [#,## %] (NPM1 Mutation DETECTED [#.##%]); .

Mutacija NPM1 je bila zaznana na ravni #,## %.

Za rezultat „**Mutacija NPM1 ZAZNANA [#,## %]**“ („NPM1 Mutation DETECTED [#.##%]“) je mogoče mutacijo NPM1 zaznati s Ct mutacije NPM1, ki je večji ali enak 6 in manjši ali enak 32, Ct ABL pa večji od ali enak 6 in manjši ali enak 20. Programska oprema GeneXpert izračuna % z naslednjo enačbo, kjer je vrednost Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) pridobljena iz Ct ABL minus Ct mutacije NPM1:

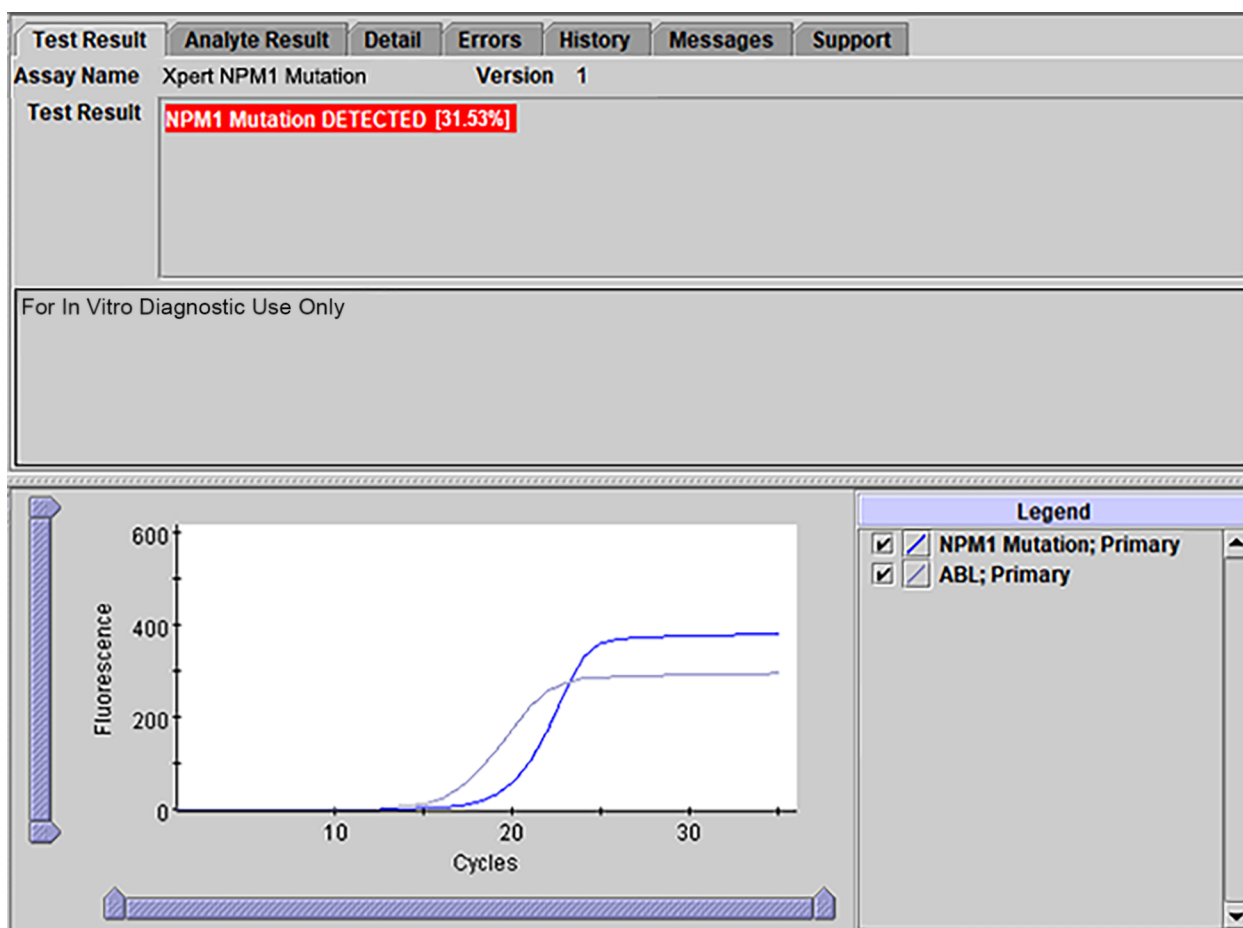
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{skalirni faktor}$$

### Opomba

Skalirni faktor (*SF*) je parameter, specifičen za serijo, ki je del črtne kode testnega vložka. Vrednost tega faktorja in učinkovitost testa, specifičnega za serijo ( $E_{\Delta Ct}$ ), se pri testiranju za nadzor kakovosti vsake testne serije določita z uporabo primarnih standardov, kalibriranih na število kopij sintetičnih mutacij NPM1, in kalibratorjev ABL1 v prepisani RNK *in vitro* (IVT-RNA) za kvantifikacijo prepisa mutacije NPM1. Za naslednji primer je vrednost  $E_{\Delta Ct}$  1,95, vrednost *SF* pa 1,79.

**Primer:** Za serijo specifičen  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Testne vrednosti: Ct ABL = 14,5; Ct mutacije NPM1 = 17,1;  $\Delta Ct = -2,6$   
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53 \%$

**Rezultat:** **Mutacija NPM1 ZAZNANA [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])** Glejte Slika 2.



Slika 2. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: Mutacija NPM1 ZAZNANA [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

## 16.2 Mutacija NPM1 ZAZNANA [Nad zgornjo LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]); .

Mutacija NPM1 je bila zaznana na ravni > 500 %.

Za rezultat „**Mutacija NPM1 ZAZNANA [Nad zgornjo LoQ]**“ („NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]“) je mogoče mutacijo NPM1 zaznati s Ct mutacije NPM1, ki je večji ali enak 6 in manjši ali enak 32, Ct ABL pa večji od ali enak 6 in manjši ali enak 20. Programska oprema GeneXpert izračuna % z naslednjo enačbo, kjer je vrednost Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) pridobljena iz Ct ABL minus Ct mutacije NPM1:

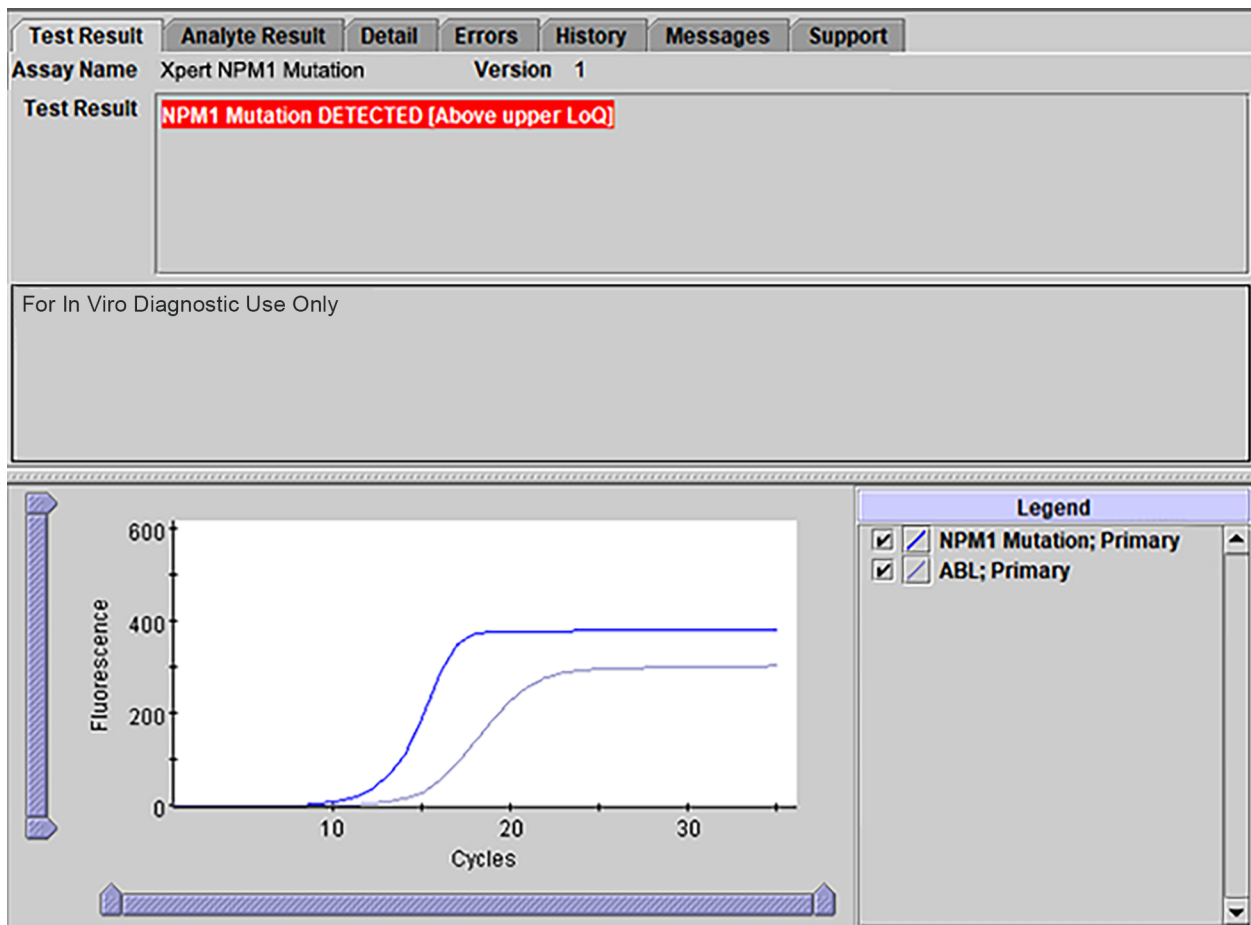
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{skalirni faktor (SF)}$$

Skalirni faktor (*SF*) je parameter, specifičen za serijo, ki je del črtno kode testnega vložka. Vrednost tega faktorja in učinkovitost testa, specifičnega za serijo ( $E_{\Delta Ct}$ ), se pri testiranju za nadzor kakovosti vsake testne serije določita z uporabo primarnih standardov, kalibriranih na število kopij sintetičnih mutacij NPM1, in kalibratorjev ABL1 v prepisani RNK *in vitro* (IVT-RNA) za kvantifikacijo prepisa mutacije NPM1. Za naslednji primer je vrednost  $E_{\Delta Ct}$  1,95, vrednost *SF* pa 1,79.

### Opomba

**Primer:** Za serijo specifičen  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Testne vrednosti: Ct ABL = 13,4; Ct mutacije NPM1 = 10,2;  $\Delta Ct = 3,2$   
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92 \%$  je več od definirane zgornje LOQ testa pri 500 %

**Rezultat:** **Mutacija NPM1 ZAZNANA [Nad zgornjo LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).** Glejte Slika 3.



Slika 3. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: Mutacija NPM1 ZAZNANA [Nad zgornjo LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]); .

### 16.3 Mutacija NPM1 ZAZNANA [Pod LoD; < 0,030 %](NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%]); .

Mutacija NPM1 je bila zaznana na ravni < 0,030 %.

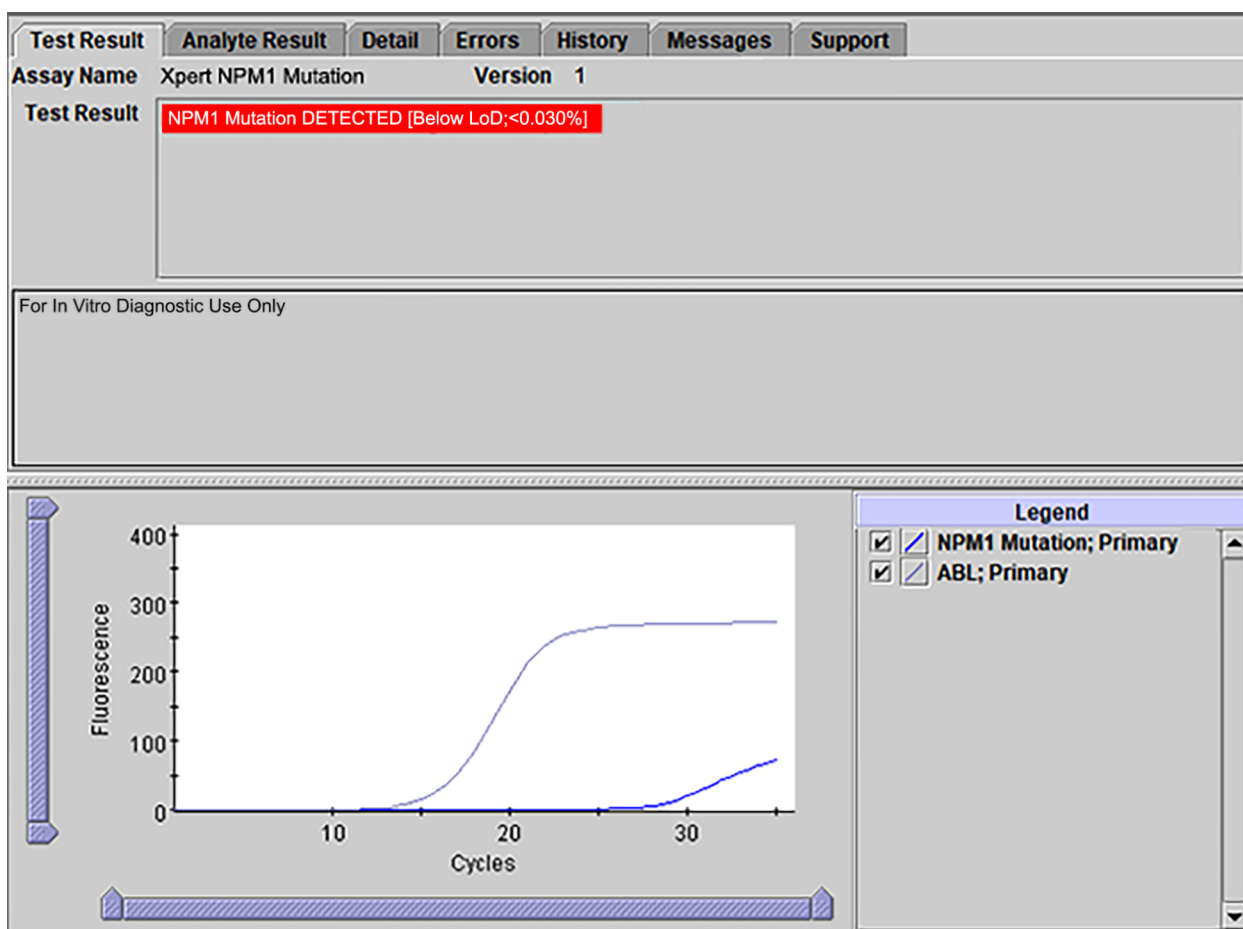
Za rezultat „**Mutacija NPM1 ZAZNANA [Pod LoQ < 0,030 %]**“ („NPM1 Mutation DETECTED [Below LoQ 0.030%]“) je mogoče mutacijo NPM1 zaznati s Ct mutacije NPM1, ki je večji ali enak 6 in manjši ali enak 32, Ct ABL pa večji od ali enak 6 in manjši ali enak 20. Programska oprema GeneXpert izračuna % z naslednjo enačbo, kjer je vrednost Delta Ct ( $\Delta Ct$ ) pridobljena iz Ct ABL minus Ct mutacije NPM1:

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

#### Opomba

Skalirni faktor (*SF*) je parameter, specifičen za serijo, ki je del črtno koda testnega vložka. Vrednost tega faktorja in učinkovitost testa, specifičnega za serijo ( $E_{\Delta Ct}$ ), se pri testiranju za nadzor kakovosti vsake testne serije določita z uporabo primarnih standardov, kalibriranih na število kopij sintetičnih mutacij NPM1, in kalibratorjev ABL1 v prepisani RNK *in vitro* (IVT-RNA) za kvantifikacijo prepisa mutacije NPM1. Za naslednji primer je vrednost  $E_{\Delta Ct}$  1,95, vrednost *SF* pa 1,79.

- Primer:** Za serijo specifičen  $E_{\Delta Ct} = 1,95$ ;  $SF = 1,79$   
 Testne vrednosti: Ct ABL = 14,3; Ct mutacije NPM1 = 28,8;  $\Delta Ct = -14,5$   
 $\% = 1,95,^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011 \%$  je več od definirane zgornje LoD testa pri 0,030 %
- Rezultat:** **Mutacija NPM1 ZAZNANA [Pod LoD; < 0,030 %](NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%]).** Glejte Slika 4.



Slika 4. Okence za ogled rezultatov GeneXpert: Mutacija NPM1 ZAZNANA [Pod LoD; < 0,030 %](NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%]); .

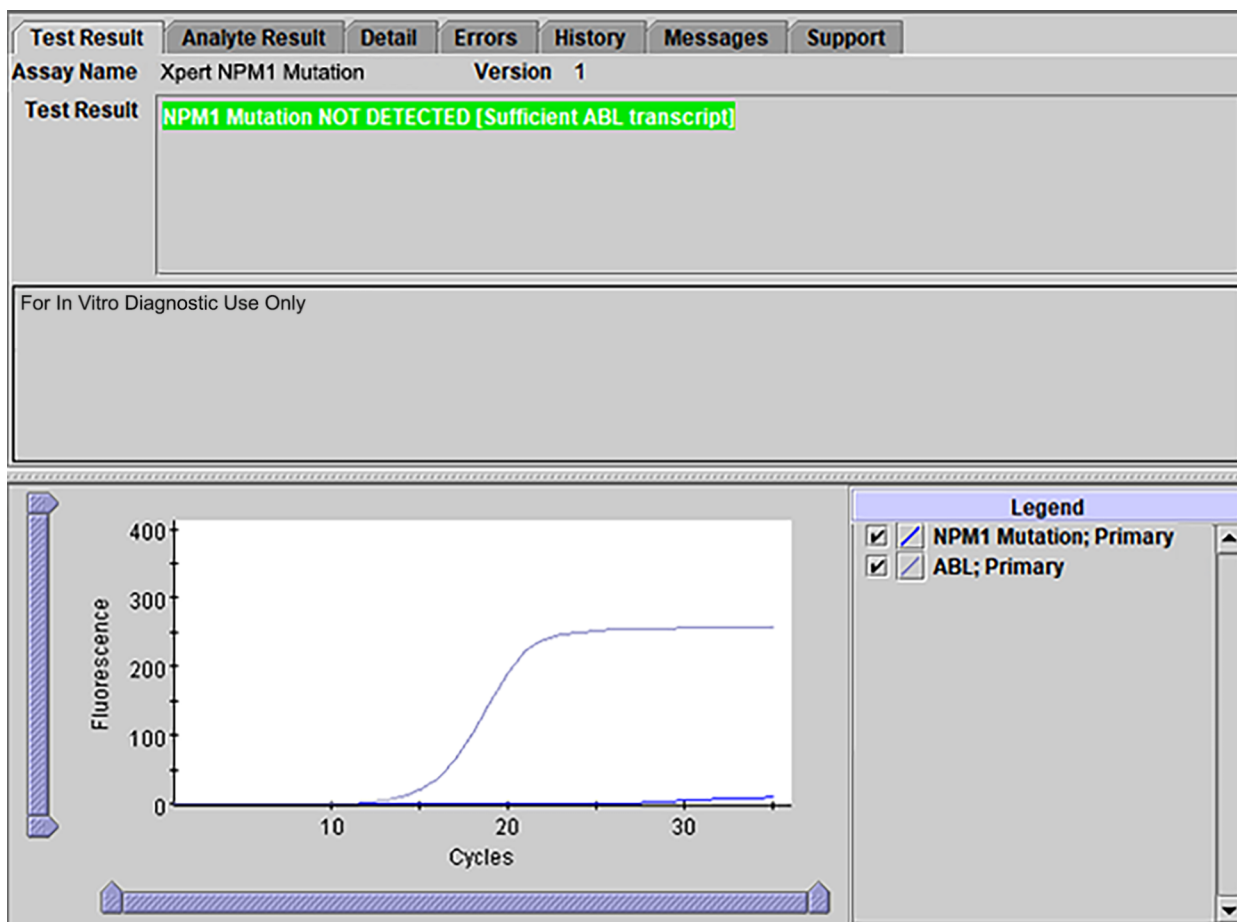
## 16.4 Mutacija NPM1 Mutation NI BILA ZAZNANA [Dovolj prepisa ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

Mutacija NPM1 z vrednostjo Ct NPM1, ki je bila večja od 32 ali enaka 0, ter vrednostjo Ct ABL, ki je bila večja od 6 in manjša ali enaka 20, ni bila zaznana.

Programska oprema GeneXpert zahteva, da je Ct ABL za test Xpert NPM1 Mutation večji ali enak 6 in manjši ali enak 20, kar zagotovi „dovolj prepisa ABL“. Glejte Razdelek 15, Razlaga rezultatov, Preglednica 1.

**Primer:** Testne vrednosti: Ct mutacije NPM1 = 0; Ct ABL = 14,0, kar je med 6 in 20.

**Rezultat:** **Mutacija NPM1 Mutation NI BILA ZAZNANA [Dovolj prepisa ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Glejte Slika 5.



Slika 5. Okence za ogled rezultatov GeneXpert: Mutacija NPM1 Mutation NI BILA ZAZNANA [Dovolj prepisa ABL] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])



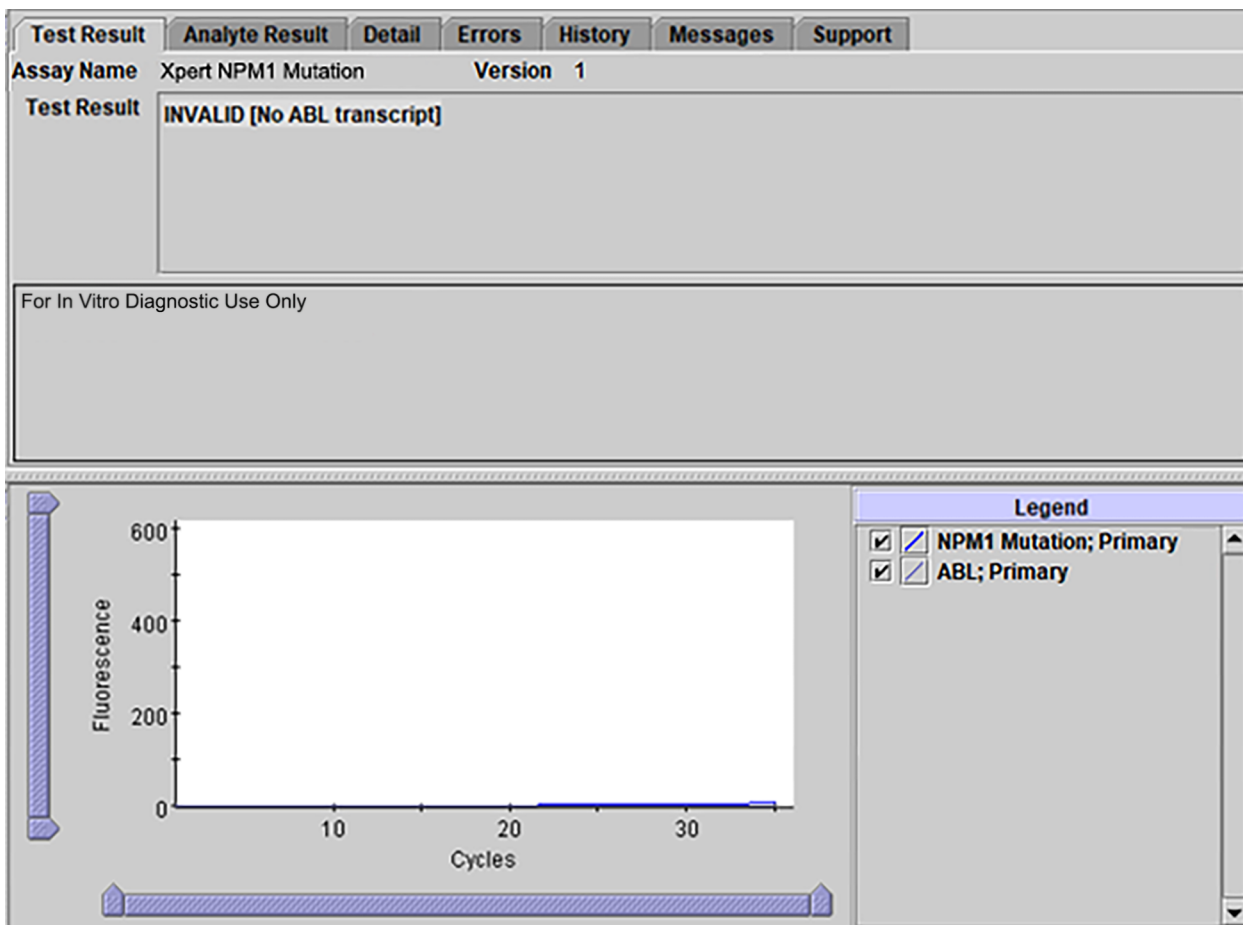
## 16.5 NEVELJAVNO [Brez prepisa ABL] (INVALID [No ABL transcript])

Mutacija NPM1 je bila zaznana ali ni bila zaznana ob vrednosti Ct ABL, enaki 0.

Programska oprema GeneXpert zahteva, da je Ct ABL za test Xpert NPM1 Mutation večji ali enak 6 in manjši ali enak 20, kar zagotovi „dovolj prepisa ABL“. Glejte Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav.

**Primer:** Testne vrednosti: Ct mutacije NPM1 = 0; Ct ABL = 0.

**Rezultat:** **NEVELJAVNO [Brez prepisa ABL] (INVALID [No ABL transcript]).** Glejte Slika 6.



Slika 6. Okence za ogled rezultatov GeneXpert: NEVELJAVNO [Brez prepisa ABL] (INVALID [No ABL transcript])

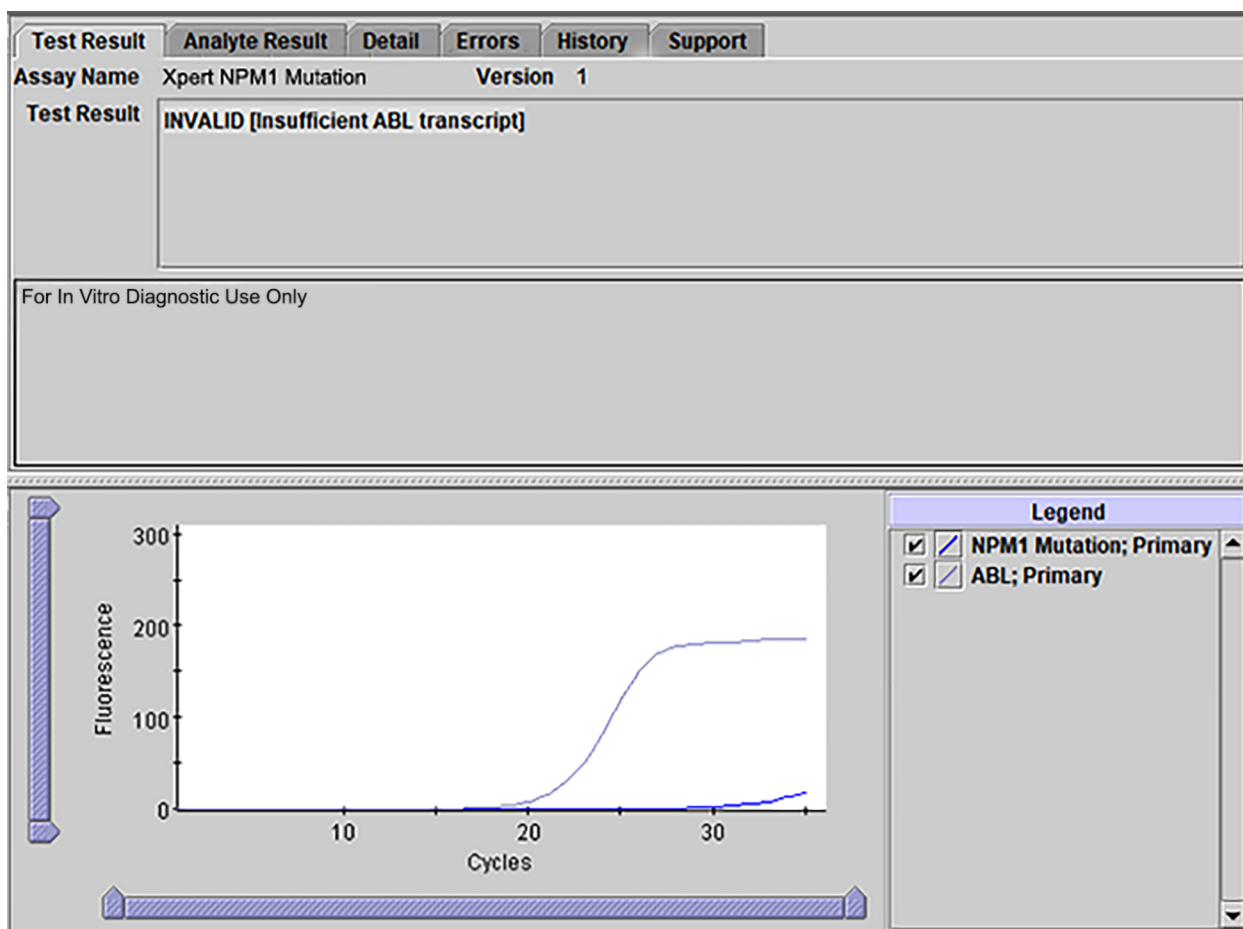
## 16.6 NEVELJAVNO [Premalo prepisa ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

Mutacija NPM1 je bila zaznana ali ni bila zaznana ob vrednosti Ct ABL, večji od 20.

Programska oprema GeneXpert zahteva, da je Ct ABL za test Xpert NPM1 Mutation večji ali enak 6 in manjši ali enak 20, kar zagotovi „dovolj prepisa ABL“. Glejte Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav.

**Primer:** Testne vrednosti: Ct mutacije NPM1 = 33,3; Ct ABL = 20,2, kar je več od 20.

**Rezultat:** **NEVELJAVNO [Premalo prepisa ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Glejte Slika 7.



Slika 7. Okence za ogled rezultatov GeneXpert: NEVELJAVNO [Premalo prepisa ABL] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

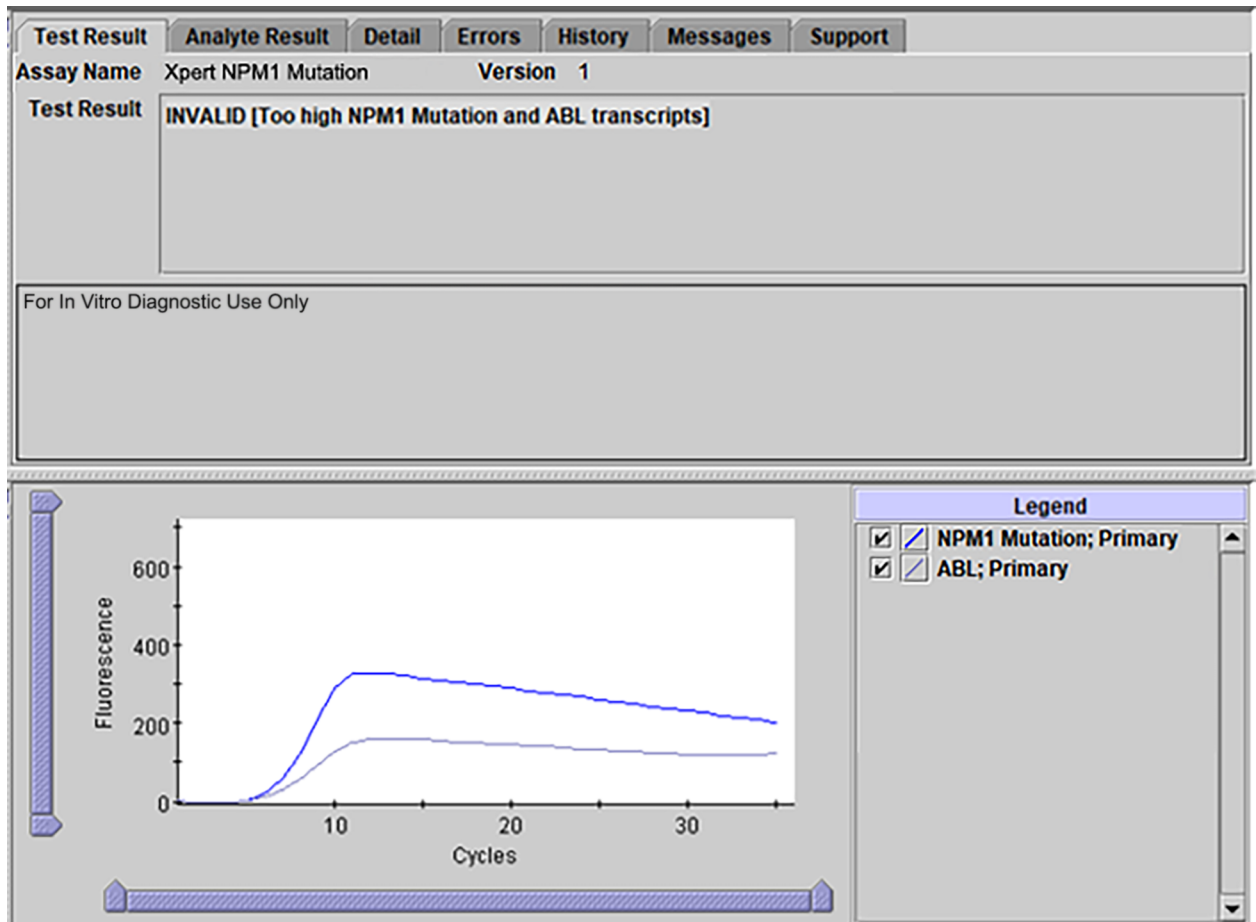
## 16.7 NEVELJAVNO [Preveč prepisa mutacije NPM1 in ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

Zaznana je bila mutacija NPM1 z vrednostma Ct mutacije NPM1 in ABL, ki sta bili večji od 0 in manjši od 6.

Programska oprema GeneXpert zahteva, da je Ct ABL za test Xpert NPM1 Mutation večji ali enak 6 in manjši ali enak 20, kar zagotovi „dovolj prepisa ABL“. Glejte Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav.

**Primer:** Testne vrednosti: Ct mutacije NPM1 = 5,4, kar je več kot 0 in manj kot 6; Ct ABL = 5,9, kar je manj kot 6.

**Rezultat:** **NEVELJAVNO [Preveč prepisa mutacije NPM1 in ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])**. Glejte Slika 8.



Slika 8. GeneXpert Dx Okno za ogled rezultatov: NEVELJAVNO [Preveč prepisa mutacije NPM1 in ABL] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

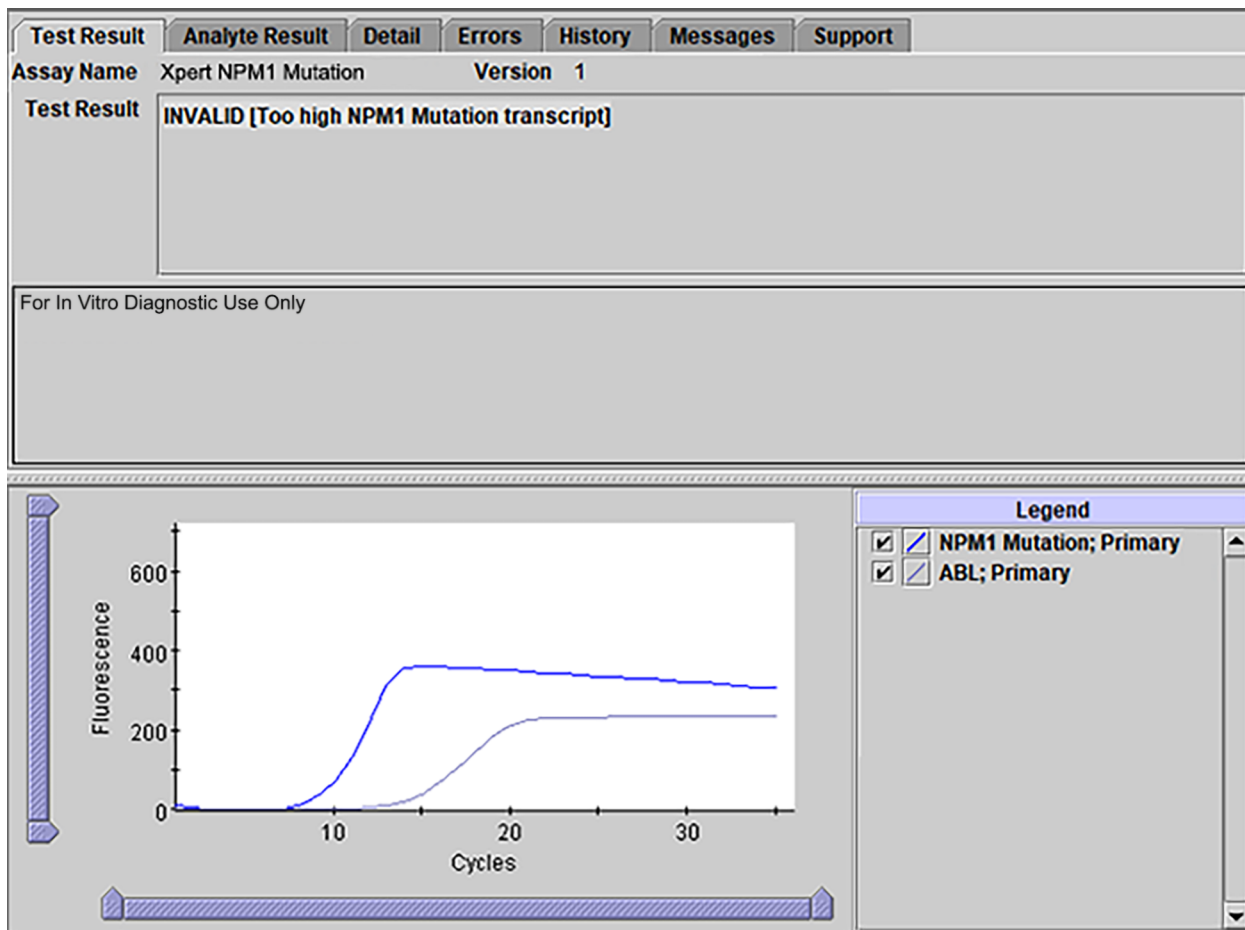
## 16.8 NEVELJAVNO [Preveč prepisa mutacije NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

Zaznana je bila mutacija NPM1 z vrednostjo Ct mutacije NPM1, ki je bila večja od 0 in manjša od 6 ter vrednostjo Ct ABL, ki je bila večja od 6 in manjša ali enaka 20.

Programska oprema GeneXpert zahteva, da je Ct ABL za test Xpert NPM1 Mutation večji ali enak 6 in manjši ali enak 20, kar zagotovi „dovolj prepisa ABL“. Glejte Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav.

**Primer:** Testne vrednosti: Ct mutacije NPM1 = 5,8, kar je več kot 0 in manj kot 6; Ct ABL = 13, kar je med 6 in 20.

**Rezultat:** **NEVELJAVNO [Preveč prepisa mutacije NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**. Glejte Slika 9.



Slika 9. Okence za ogled rezultatov GeneXpert: NEVELJAVNO [Preveč prepisa mutacije NPM1] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

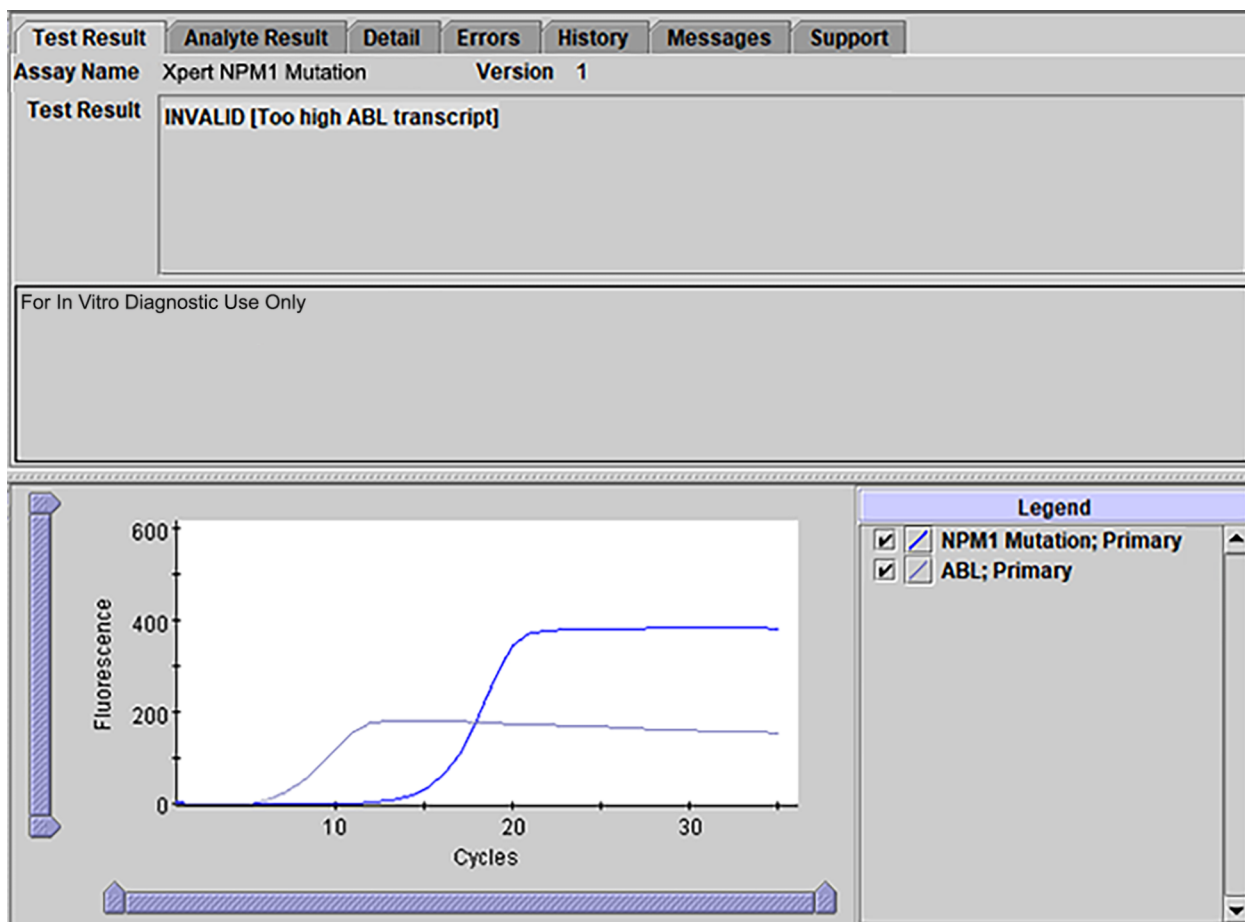
## 16.9 NEVELJAVNO [Preveč prepisa mutacije ABL] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

Zaznana je bila mutacija NPM1 z vrednostjo Ct mutacije NPM1, ki je bila večja od 6 in manjša ali enaka 32 ter vrednostjo Ct ABL, ki je bila manjša od 6, vendar ne enaka 0.

Programska oprema GeneXpert zahteva, da je Ct ABL za test Xpert NPM1 Mutation večji ali enak 6 in manjši ali enak 20, kar zagotovi „dovolj prepisa ABL“. Glejte Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav.

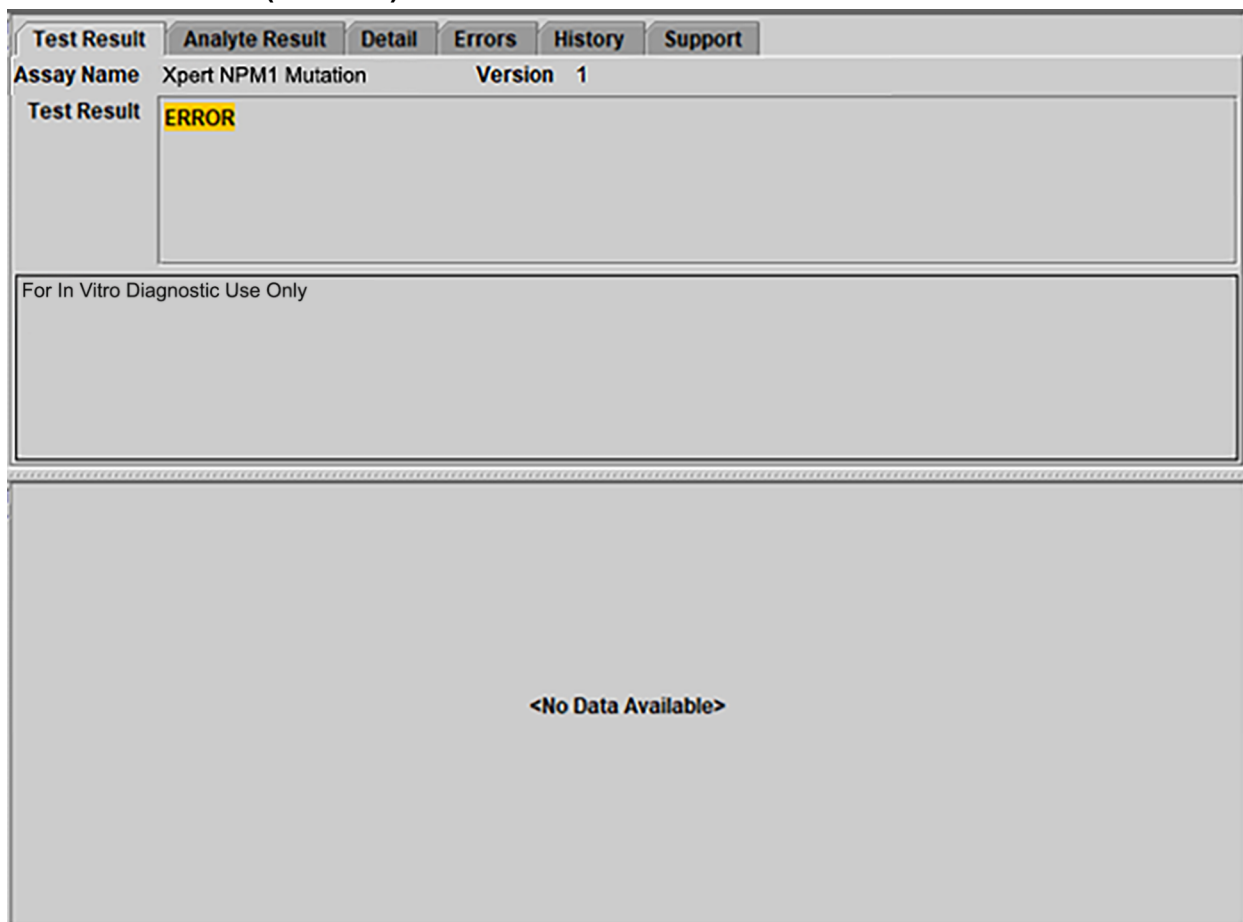
**Primer:** Testne vrednosti: Ct mutacije NPM1 = 13,2; Ct ABL = 5,8, kar je manj od 6.

**Rezultat:** **NEVELJAVNO [Preveč prepisa ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])**. Glejte Slika 10.



Slika 10. Okence za ogled rezultatov GeneXpert: NEVELJAVNO [Preveč prepisa ABL] (INVALID [Too high ABL transcript])

## 16.10 NAPAKA (ERROR)



Slika 11. Okence za ogled rezultatov GeneXpert: NAPAKA (ERROR)

## 17 Omejitve testa

- Test ni namenjen za uporabo z zunanjimi kalibratorji.
- Spreminjanje teh postopkov lahko spremeni delovanje testa.
- Ta izdelek je bil zasnovan za uporabo zgolj s krvjo, odvzeto v epruvete z EDTA.
- Ne uporabljajte heparina kot antikoagulanta, saj lahko inhibira reakcijo PCR.
- Vrste vzorcev z natrijevim citratom, zgoščene levkocitne plasti (buffy-coat) in kostnega mozga niso bile validirane.
- Napačni rezultati preskusov se lahko pojavijo zaradi neustreznega odvzema vzorcev, ravnanja z njimi, shranjevanja ali mešanja vzorcev. Da bi se izognili napačnim rezultatom, je treba natančno upoštevati navodila za uporabo.
- Mutacije ali polimorfizem začetnega oligonukleotida ali vezavne regije sonde lahko vplivajo na zaznavanje novih ali neznanih različic, kar lahko privede do lažno negativnega rezultata.
- Previsoka raven belih krvnih celic lahko poveča tlak v vložku in povzroči prekinitvev testa ali netočne rezultate.
- Nekateri vzorci z zelo nizkimi ravnmi prepisa ABL ali z belimi krvničkami pod 150.000 celic/ml so lahko sporočeni kot **NEVELJAVNO (INVALID)** (tip 1). Nedoločen rezultat ne izključuje prisotnosti zelo nizkih ravni levkemičnih celic v vzorcu.

# 18 Vodnik za odpravljanje težav

Preglednica 3. Vodnik za odpravljanje težav

Rezultat testa	Možni vzroki	Predlogi
<b>NEVELJAVNO (INVALID)</b>	<p>Tip 1: Neuspešna endogena kontrola ABL:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Slaba kakovost vzorca</li> <li>Inhibicija RT-PCR</li> <li>Če je ABL Ct &gt; 20 in/ali končna točka &lt; 100</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Preverite kakovost vzorca (npr. prekoračene zahteve glede shranjevanja vzorca, vključno s časom in temperaturo).</li> <li>Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 19.1, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 1).</li> </ul>
	<p>Tip 2: Ravni prepis mutacije NPM1 ni mogoče določiti zaradi vzorca, ki vsebuje preveč prepisa mutacije NPM1 in/ali prepisa ABL (Ct &lt; 6).</p>	<p>Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 19.2, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) (koda 2008) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 2).</p>
<b>NAPAKA (ERROR)</b> (koda 2008)	<p>Tlak presega omejitve (sporočilo o napaki 2008)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Preverite kakovost vzorca</li> <li>Preverite za skrajno povišano število levkocitov</li> <li>Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 19.2, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) (koda 2008) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 2).</li> </ul>
<b>NAPAKA (ERROR)</b> (koda 5006, 5007, 5008 in 5009*)  *To ni izčrpen seznam kod NAPAKA (ERROR).	<p>Neuspešno preverjanje sonde</p>	<p>Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in z novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 19.1, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 1).</p>
<b>BREZ REZULTATA (NO RESULT)</b>	<p>Napaka zbiranja podatkov. Na primer, operater je zaustavil testiranje, ki se je izvajalo, ali pa je prišlo do izpada napajanja.</p>	<p>Ponovite test z originalnim vzorcem (če je na voljo) ali iz preostalega lizata in z novim vložkom z upoštevanjem postopka, kot je opisano v Razdelek 19.1, Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 1).</p>

## 19 Ponovna testiranja

### 19.1 Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 1)

Ponovite testiranje vzorcev z rezultatom **NAPAKA (ERROR)** ali **NEVELJAVNO (INVALID)** zaradi praga cikla (Ct) ABL, ki presega največjo veljavno mejno vrednost Ct ( $Ct > 20$ ), ali če je končna točka pod prazno nastavitvijo ( $< 100$ ). Glejte tudi Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav.

- Če je na voljo zadostna količina vzorca krvi, ponovite test iz prvotne epruvete za odvzem vzorca krvi in sledite postopku v Razdelek 12.2.

#### OZIROMA

Če je količina vzorca nezadostna, lahko ponovni test izvedete s preostalim lizatom iz Razdelek 12.2.1, korak 12.

- Če je preostali lizat iz Razdelek 12.2.1, korak 12, shranjen zamrznjen, ga pred uporabo odmrznite in ogrejte na sobno temperaturo.
  - Poskrbite, da bo lizat dobro premešan z mešanjem vzorca z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund in ga postavite na stran za 3 minute, da se umirijo mehurčki.
- Prenesite 1 ml pripravljenega lizata v novo 50-mililitrsko konično epruveto.
  - Sledite korakom 13–17 v Razdelek 12.2.1 za pripravo končnega lizata.
  - Vložek odprite, tako da dvignete pokrovček vložka in prenesite celotno vsebino ene (1) ampule reagenta za izpiranje v komoro reagenta za izpiranje (z majhno odprtino). Glejte Slika 1.
  - Odpipetirajte vso vsebino pripravljenega vzorca v komoro za vzorec (velika odprtina). Glejte Slika 1.
  - Zaprte pokrovček vložka. Začnite s testom (glejte Razdelek 12.4, Začetek testa).

### 19.2 Postopek ponovnega testiranja v primeru rezultata NAPAKA (ERROR) (koda 2008) ali NEVELJAVNO (INVALID) (tip 2)

Ponovite testiranje vzorcev z ravnimi prepisov mutacije NPM1 in/ali ABL pod veljavno minimalno vrednostjo Ct ( $Ct > 0$  in  $Ct < 6$ ) in/ali je presežena meja tlaka. Glejte tudi Razdelek 18, Vodnik za odpravljanje težav.

- Na dno nove 50-mililitrske konične epruvete dodajte 100  $\mu$ l PK (proteinaze K).
- Prepričajte se, da je vzorec krvi ali preostanek lizata iz Razdelek 12.2, korak 12, dobro premešan, tako da epruveto tik pred pipetiranjem 8-krat obrnete.
- V epruveto, ki že vsebuje proteinazo K, dodajte 250  $\mu$ l vzorca krvi in 3,75 ml PBS (pH 7,4, priskrbi uporabnik), če je na voljo, ali 60  $\mu$ l lizata, prihranjenega iz Razdelek 12.2.1, korak 12.
  - Če je preostali lizat iz Razdelek 12.2.1, korak 12, shranjen zamrznjen, ga pred uporabo odmrznite in ogrejte na sobno temperaturo.
  - Poskrbite, da bo lizat dobro premešan z mešanjem vzorca z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund in ga postavite na stran za 3 minute, da se umirijo mehurčki.
- Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 3 sekunde.
- Vzorec inkubirajte 1 minuto pri sobni temperaturi.
- Za ponovno testiranje krvi s PBS sledite korakom 6–17 v Razdelek 12.2.1, da naredite končni lizat. Za ponovno testiranje prihranjenega lizata sledite spodnjim korakom a–g ter naredite končni lizat.
  - V epruveto z vzorcem prihranjenega lizata za ponovno testiranje dodajte 2,5 ml LY.
  - Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
  - Vzorec inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi.
  - Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund.
  - Vzorec inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi.
  - V isto epruveto dodajte 2 ml absolutnega etanola kakovosti reagenta (priskrbi uporabnik).
  - Premešajte vzorec z vibracijskim mešalnikom pri najvišji nastavitvi neprekinjeno 10 sekund. Postavite na stran.
- Vložek odprite, tako da dvignete pokrovček vložka in prenesite celotno vsebino ene (1) ampule reagenta za izpiranje v komoro reagenta za izpiranje (z majhno odprtino). Glejte Slika 1.
- Odpipetirajte vso vsebino pripravljenega vzorca v komoro za vzorec (velika odprtina). Glejte Slika 1.
- Zaprte pokrovček vložka. Začnite s testom (glejte Razdelek 12.4, Začetek testa).



## 20 Pričakovane vrednosti

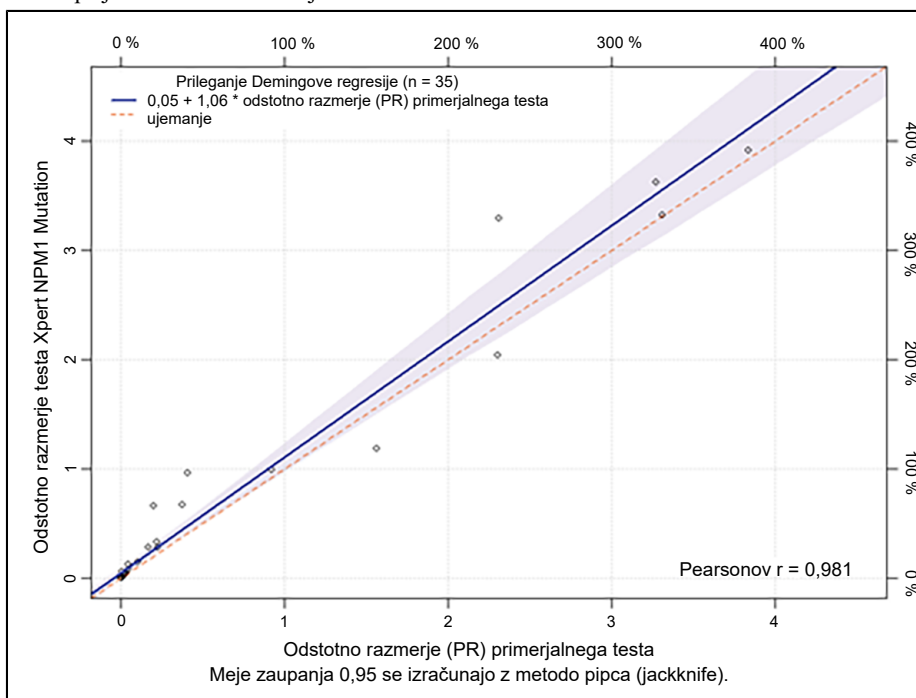
Razpon Xpert NPM1 Mutation zajema ključne točke klinične odločitve za spremljanje AML. Pričakovane vrednosti so izražene kot odstotno razmerje med mRNK z mutacijo NPM1 in mRNK ABL ter so v razponu med 0,030 % in 500 %. Meritve pod tem razponom se poročajo kot nezaznane ali pod mejo zaznavnosti (LOD). Meritve nad tem razponom se poročajo kot nad mejo določljivosti (LOQ). Za podrobnosti glejte Razdelek 15.

## 21 Klinična učinkovitost

Multicentrična primerjalna študija opazovalnih metod je bila izvedena na treh študijskih mestih v Združenih državah Amerike in enem študijskem mestu zunaj Združenih držav Amerike. V študijo so bili od ene časovne točke in v celotnem dinamičnem območju testa Xpert NPM1 Mutation vključeni vzorci 40 posameznih bolnikov z AML in mutacijo NPM1. Zabeležena sta bila starost in spol bolnikov, ki so jim bili odvzeti vzorci. Zastopanost spolov je bila 11 moških (27,5 %) in 29 žensk (72,5 %). Vsi vzorci so bili odvzeti bolnikom, starih med 16 in 81 let, s povprečno starostjo 59,7 leta.

Vseh 40 vzorcev je dalo veljavne rezultate testov. 36 od 40 vzorcev je dalo rezultate v kvantitativnih razponih obeh testov. Štirje vzorci so bili izključeni iz Demingove regresije, ker so bili pri testu Xpert NPM1 Mutation in/ali primerjalnem testu negativni. Dodaten vzorec je bil izključen, ker je predstavljal odstopanje. V Demingovo regresijsko analizo je bilo vključenih skupno 35 vzorcev.

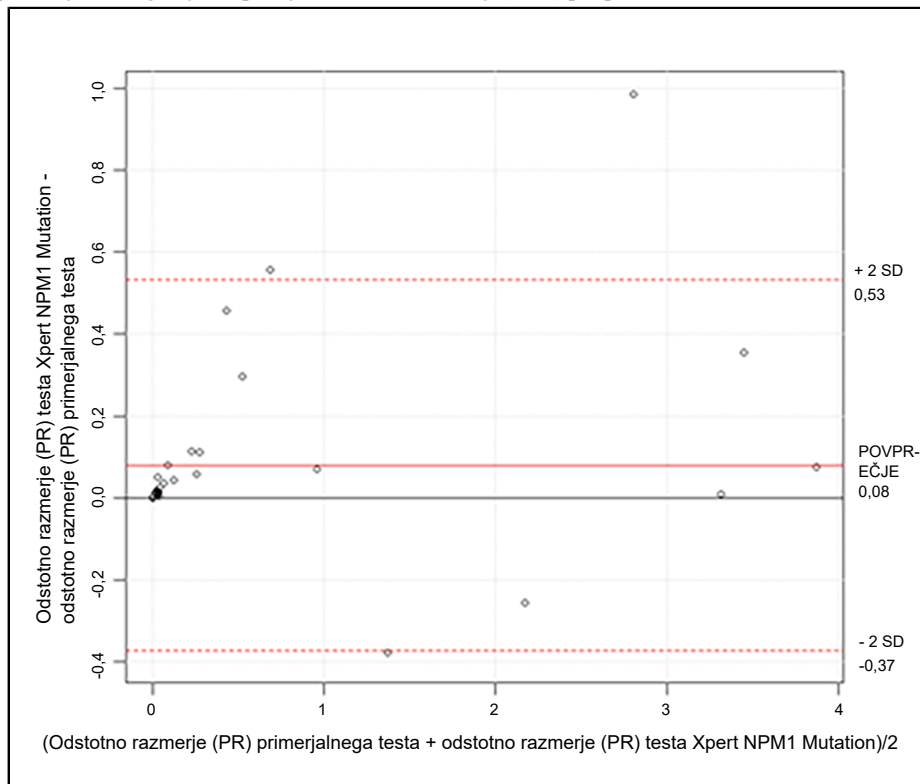
Učinkovitost testa Xpert NPM1 Mutation v primerjavi s primerjalnim testom je bila ovrednotena z uporabo Demingove regresije za določitev naklona in presečišča. Slika 12 prikazuje rezultate analize Demingove regresije, vključno z naklonom, presečiščem in ujemačo se črto 35 vzorcev. 95-odstotne meje zaupanja so bile izračunane z uporabo metode pipca (jackknife), prikazan pa je Pearsonov korelacijski koeficient.



**Slika 12. Demingova regresija za odstotno razmerje**

Naklon in presečišče za odstotno razmerje iz analize Demingove regresije sta bila 1,06 in 0,05, Pearsonova korelacija pa je bila med meritvami testa Xpert NPM1 Mutation in primerjalnega testa 0,981.

Bland-Altmanova analiza za razliko v odstotnem razmerju je bila ovrednotena za 35 vzorcev s kvantitativnimi rezultati, ki so bili v linearnem območju testa Xpert NPM1 Mutation in primerjalnega testa. Slika 13 prikazuje Bland-Altmanov graf z razliko v odstotnem razmerju med obema testoma v primerjavi s povprečnimi rezultati odstotnega razmerja za posamezen vzorec. Graf prikazuje tudi zgornji in spodnji standardni deviaciji (2SD) povprečne razlike, zabeležene v študiji.



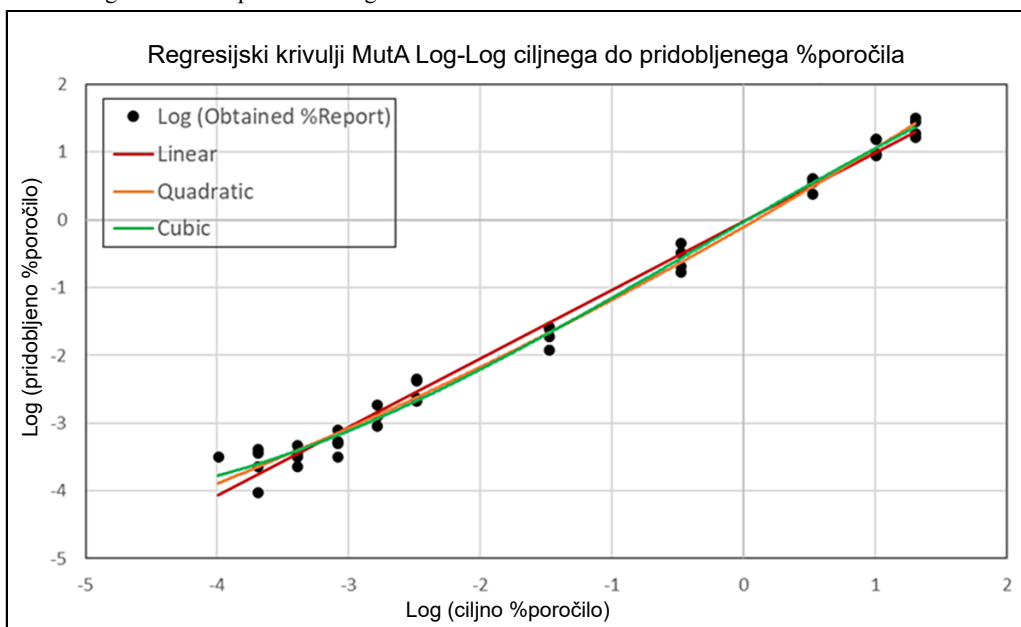
**Slika 13. Bland-Altmanov graf odstotnega razmerja Xpert NPM1 Mutation in primerjalnega testa**

Povprečna razlika v odstotnem razmerju med rezultatom testa Xpert NPM1 Mutation in primerjalnega testa je bila 0,08. Večina (91,4 %, 32/35) rezultatov je bila znotraj 2SD povprečne razlike.

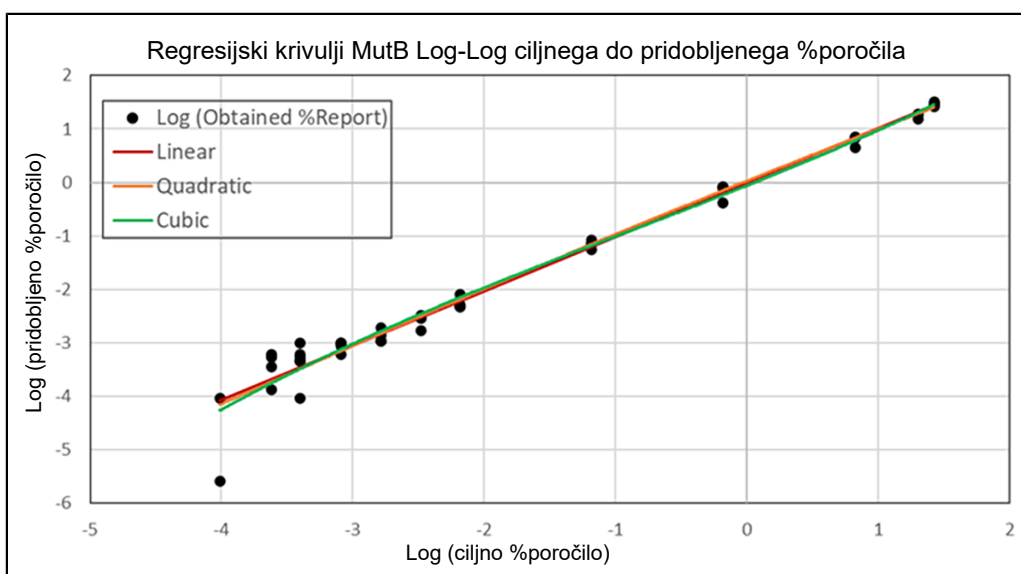
## 22 Analitični podatki

### 22.1 Linearnost/dinamično območje

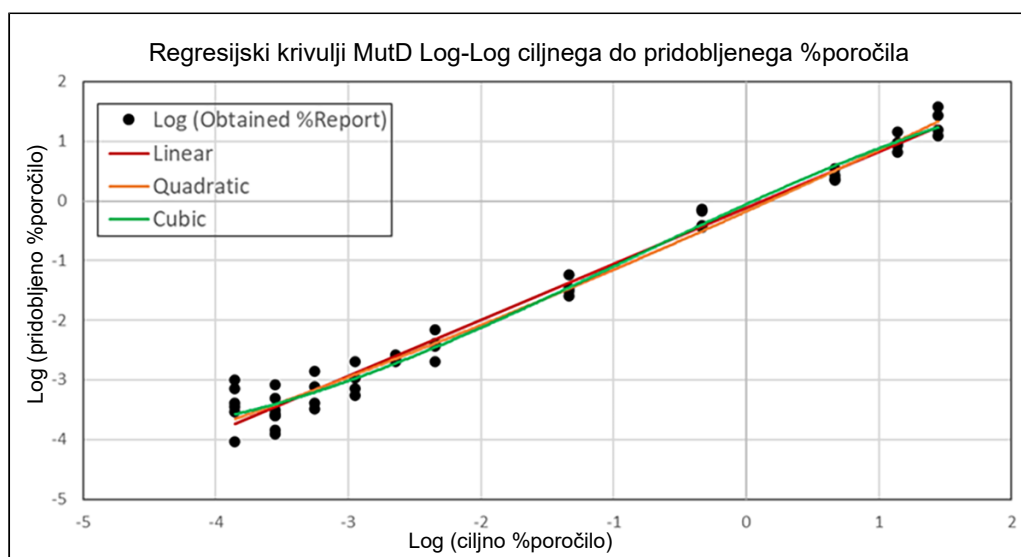
Linearnost je bila za vsakega od treh podtipov mutiranega NPM1 (mutA, mutB in mutD) določena z uporabo celičnih lizatov, ki vsebujejo visoke ravni prepisa vsakega podtipa. Takšni lizati so bili razredčeni v pomožnem lizatu, pripravljenem iz domnevno negativnih vzorcev na mutacijo NPM1, pa do ciljnih razponov ~0,01–2500 % mutacije NPM1/ABL. Vse ravni so bile testirane na eni seriji reagenta v štirih izvodih. Testi in statistične analize so bili izvedeni v skladu s CLSI EP06-A<sup>9</sup>. Regresijske krivulje za vsak podtip so prikazane v Slika 14, Slika 15 in Slika 16. Linearni razpon vsakega podtipa in njihovi koeficienti linearnega modela so povzeti v Preglednica 4.



Slika 14. Regresijske krivulje za mutA



Slika 15. Regresijske krivulje za mutB



Slika 16. Regresijske krivulje za mutD

Preglednica 4. Povzetek linearnih razponov in koeficientov linearnega modela

Podtip	Linearni razpon	Presečišče	Naklon	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

Skupno je test Xpert NPM1 Mutation pokazal linearnost znotraj 0,014–2020 % mutacije NPM1/ABL. Dinamični razpon, o katerem se poroča in ki je omejen z LoQ in zgornjo mejo programske opreme, je 0,030–500 %.

## 22.2 Analizna občutljivost (meja zaznavnosti, meja določljivosti, meja slepega testiranja)

Meja zaznavnosti (LoD) je najnižja raven mutacije NPM1/ABL, pri kateri se o 95 % vzorcev dosledno poroča z rezultatom „Mutacija NPM1 ZAZNANA [##,## %]“ („NPM1 Mutation DETECTED [##.##%]“). Meja zaznavnosti je bila za podtip mutA, mutB in mutD individualno določena s testiranjem serijskih razreditev celičnih lizatov, pozitivnih na mutacijo NPM1, in kliničnih lizatov, ki vsebujejo podtip mutacije. Ustrezne meje zaznavnosti so bile ocenjene in preverjene v skladu s CLSI EP17-A2<sup>10</sup>. Posledične analize so pokazale meje zaznavnosti 0,025 % za mutA, 0,023 % za mutB in 0,030 % za mutD (Preglednica 5). Najvišja meja zaznavnosti med tremi podtipi pri 0,030 % velja za splošno mejo zaznavnosti testa Xpert NPM1 Mutation.

Meja določljivosti (LoQ) je najnižja raven mutacije NPM1/ABL, nad katero je mogoče vzorce določiti s standardnim odklonom  $\leq 0,36$  logaritemske stopnje zmanjšanja (LR) za povprečne logaritemske stopnje zmanjšanja nad 3,5. V skladu s CLSI EP17-A2<sup>10</sup> so bile meje določljivosti ocenjene in preverjene pri 0,025 % za podtip mutA, 0,023 % za podtip mutB in 0,030 % za podtip mutD (Preglednica 5). Najvišja meja določljivosti med tremi podtipi pri 0,030 % velja za splošno mejo določljivosti testa Xpert NPM1 Mutation.

Meja slepega testiranja (LoB) je najvišji rezultat mutacije NPM1/ABL, ki se pričakuje pri 95 % slepih vzorcev darovalcev, domnevno negativnih na mutacijo NPM1. V skladu s CLSI EP17-A2<sup>10</sup> je bila meja slepega testiranja testa Xpert NPM1 Mutation ocenjena in preverjena pri 0,0085 % (Preglednica 5).

**Preglednica 5. Meja zaznavanja, meja določljivosti in meja slepega testiranja testa Xpert NPM1 Mutation [% mutacije NPM1/ABL]**

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

## 22.3 Analitična specifičnost

Analitična specifičnost testa Xpert NPM1 Mutation je bila določena s testiranjem vzorcev periferne krvi, obdelane z EDTA, odvzetih petindvajsetim zdravim darovalcem.

Pri nobenem od domnevno negativnih vzorcev na mutacijo NPM1, ocenjenih v tej študiji, ni bil pridobljen rezultat Mutacija NPM1 **ZAZNANA** (NPM1 Mutation DETECTED). Tako je test Xpert NPM1 Mutation specifičen za prepise mRNK z mutiranim NPM1 (tipi A, B in D v eksonu 12), ki so povezani z AML, obenem pa je njegova analitična specifičnost za vzorce periferne krvi z EDTA 100-odstotna.

## 22.4 Vrednotenje navzkrižnega onesnaženja

Opravljen je bila študija, ki je pokazala, da samostojni vložki GeneXpert za enkratno uporabo preprečujejo navzkrižno onesnaženje iz vložkov, ki so zaporedno v obdelavi v modulu istega instrumenta. Domnevno negativen vzorec na mutacijo NPM1 je bil testiran po vzorcu z visokim deležem pozitivne mutacije NPM1 v istem modulu GeneXpert. Shema testiranja je bila ponovljena 10-krat na dveh modulih GeneXpert (skupaj 22 negativnih in 20 pozitivnih). Vse obdelave pozitivnega vzorca so vrnilo pričakovani rezultat „Mutacija NPM1 **ZAZNANA** [#,## %]“ („NPM1 Mutation DETECTED [#,## %]“), vse obdelave negativnih vzorcev pa so vrnilo pričakovani rezultat „Mutacija NPM1 **NI BILA ZAZNANA** [dovolj prepisa ABL]“ („NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]“).

## 22.5 Morebitne moteče snovi

Ta študija je ocenjevala pet snovi, ki bi lahko bile prisotne v vzorcih periferne krvi z EDTA in bi lahko motile učinkovitost testa. Testirane sestavine in ravni (glejte Preglednica 6) so temeljile na smernici iz dokumenta CLSI EP07-ED3<sup>11</sup>. Interferenti so bili testirani v vzorcih periferne krvi z EDTA, pridobljene z lizati kultiviranih celic, pozitivnih na mutacijo NPM1, ki predstavljajo tri ravni: > 1 %, 0,1–0,5 % in negativno. Testne kontrole so vključevale iste vzorcev brez potencialno motečih snovi. Vsaka raven je bila testirana v odsotnosti in prisotnosti petih posameznih motečih snovi v 4 replikatih na stanje. Snov je bila smatrana kot nemoteča, če je bilo v njeni prisotnosti opaženo povprečno odstotno razmerje znotraj 3-kratne razlike v primerjavi s kontrolo.

Z nobeno od motečih snovi, ocenjenih v tej študiji, s testom Xpert NPM1 Mutation niso opazili klinično pomembnih inhibitornih učinkov. Pri nobenih testnih pogojih ni bilo opaženih statistično značilnih razlik (p-vrednost < 0,05), sporočena odstotna razmerja med pogoji testa in kontrol pa so bila znotraj sprejemljivega 3-kratnega razpona.

**Preglednica 6. Potencialno moteče snovi, testirane z Xpert NPM1 Mutation**

Moteče snovi	Testirana koncentracija
Nekonjugiran bilirubin	20 mg/dl
Holesterol, skupni	500 mg/dl
Trigliceridi, skupni (lipidi)	3000 mg/dl
Heparin	3500 e./l
EDTA (premalo vzorca)	930 mg/dl

## 23 Ponovljivost in natančnost

Študija je bila zasnovana v skladu s splošnimi načeli, predstavljenimi v sklopu standarda CLSI EP05-A3 za večfaktorske študije. Izvedena je bila na treh študijskih mestih. Zasnova študije je vključevala člane vzorčnega nabora, ki je vključeval mutacije A, B in D pri dveh koncentracijah. Vsak od dveh operaterjev je na treh različnih študijskih mestih dvakrat testiral 7 članov vzorčnega nabora, in sicer dvakrat na dan in skupno 6 dni (3 študijska mesta × 2 operaterja × 3 serije × 2 dni × 2 izvedbi × 2 ponovitvi = 144 rezultatov testov za vsakega člana nabora). Nabori za ponovljivost in natančnost, ki jih je pripravila družba Cepheid, vključujejo sedem članov, kot je prikazano v Preglednica 7. Nabori so bili izdelani v simulirani matriki periferne krvi (PB) z EDTA.

**Preglednica 7. Nabori za ponovljivost in natančnost**

Član nabora	Tarča	Odstotno razmerje (PR) ravni
1	Negativno	Ni na voljo
2	Mutacija NPM1 A	Zmerno pozitivno (~5 %)
3	Mutacija NPM1 A	Nizko pozitivno (~0,2 %)
4	Mutacija NPM1 B	Zmerno pozitivno (~5 %)
5	Mutacija NPM1 B	Nizko pozitivno (~0,2 %)
6	Mutacija NPM1 D	Zmerno pozitivno (~5 %)
7	Mutacija NPM1 D	Nizko pozitivno (~0,2 %)

Število vzorcev z veljavnimi rezultati za vsakega člana nabora, ki jih je analiziral vsak od dveh operaterjev na treh študijskih mestih, je prikazano v Preglednica 8.

**Preglednica 8. Ponovljivost in natančnost: Število vzorcev z veljavnim rezultatom**

Član nabora		Študijsko mesto 1			Študijsko mesto 2			Študijsko mesto 3			Skupno število vzorcev
		Op 1	Op 2	Študijsko mesto	Op 1	Op 2	Študijsko mesto	Op 1	Op 2	Študijsko mesto	
1	Negativno	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 (razmerje ~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 (razmerje ~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 (razmerje ~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 (razmerje ~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 (razmerje ~5 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
7	LR2.7: mut D (razmerje ~0,2 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) <sup>c</sup>	(24/24)	(48/48) <sup>c</sup>	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

<sup>a</sup> Dva negativna vzorca sta imela veljavne, a zaznane rezultate (FP)

<sup>b</sup> En negativen vzorec je imel veljaven, a zaznan rezultat (FP)

<sup>c</sup> En vzorec LR2.7: mut D (razmerje ~0,2 %) je imel veljaven, vendar nezaznan rezultat (FN)

Kvantitativni rezultati so bili analizirani z ugnezdno analizo variance (ANOVA) z naključnimi učinki in koeficientom variacije (CV). Rezultati izračunov ANOVA za standardni odklon in varianco za vsak pozitivni vzorec so navedeni v Preglednica 9. Varianca in odstotek celotne variance, ki jo prispeva vsaka komponenta (študijsko mesto/instrument, operater, sklop, dan, izvedba), sta navedena kot SD in odstotek prispevka vsake komponente.

**Preglednica 9. Rezultati koeficienta variacije (CV): Odstotno razmerje (PR)**

Član nabora	N	Povprečje	Študijsko mesto		Op		Serija		Dan		Izvedba		Znotraj testa		Skupno	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
LR1.3: mut A (razmerje ~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 (razmerje ~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 (razmerje ~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 (razmerje ~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 (razmerje ~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 (razmerje ~0,2 %)	143 <sup>a</sup>	0,2 %	0,00	10,86	0,00	0,00	0,00	12,91	0,00	6,77	0,00	0,00	0,00	22,83	0,00	29,18

<sup>a</sup> Test Xpert NPM1 ni zaznal enega vzorca, ki je bil izključen iz analize, saj ni bilo kvantitativne meritve.

Odstotek skupnega koeficienta variacije (CV) odstotnega razmerja, ki poroča o kvantitativnih vrednostih za zmerno pozitivne vzorce LR1.3: mut A, mut B in mut D (razmerje ~5 %), se je gibal od 21,74 do 26,23, za nizko pozitivne vzorce LR2.7: mut A, mut B in mut D (razmerje ~0,2 %) pa od 20,68 do 79,22.

## 24 Reference

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>. Dostop: 16. september 2020.
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 (glejte zadnjo izdajo). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (glejte zadnjo izdajo).
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 Kraji sedeža družbe Cepheid

### Sedež družbe

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

### Sedež v Evropi

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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

## 26 Tehnična pomoč

Preden stopite v stik z oddelkom za tehnično podporo Cepheid, zberite naslednje informacije:

- Ime izdelka
- Številka lota
- Serijska številka instrumenta
- Sporočila o napakah (če so se prikazala)
- Različica programske opreme in, če je primerno, številko značke računalniškega servisa

### Združene države Amerike





















Telefon: + 1 888 838 3222  
E-pošta: techsupport@cepheid.com

### Francija

Telefon: + 33 563 825 319  
E-pošta: support@cepheideurope.com

Informacije za stik z vsemi oddelki za tehnično podporo Cepheid so na voljo na naši spletni strani: [www.cepheid.com/en\\_US/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en_US/support/contact-us).

## 27 Preglednica simbolov

Simbol	Pomen
	Kataloška številka
	Oznaka CE – skladnost z evropskimi predpisi
	In vitro diagnostični medicinski pripomoček
	Številka serije
	Ne uporabite ponovno
	Glejte navodila za uporabo
	Izdelovalec
	Država izdelave
	Vsebina zadostuje za testov
	Kontrola
	Rok uporabnosti
	Omejitev temperature
	Biološka tveganja
	Svarilo
	Vnetljive tekočine
	Toksično za reprodukcijo in organe
	Pozor
	Pooblaščen predstavnik v Evropski skupnosti
	Pooblaščen zastopnik v Švici
	Uvoznik



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



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



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



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



## 28 Zgodovina revizij

Razdelek	Opis spremembe
23	Popravljena napaka v razdelku „Ponovljivost in natančnost“.