

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Instrucciones de uso

IVD CE

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

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[®], el logotipo de Cepheid, GeneXpert[®] y Xpert[®] son marcas comerciales de Cepheid, registradas en los EE. UU. y otros países.

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA AL COMPRADOR EL DERECHO INTRANSFERIBLE DE UTILIZARLO SEGÚN ESTAS INSTRUCCIONES DE USO. NO SE OTORGA NINGÚN OTRO DERECHO DE FORMA EXPRESA, IMPLÍCITA O POR IMPEDIMENTO LEGAL. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

© 2022–2023 Cepheid.

Consulte el Apartado 28, Historial de revisiones para obtener una descripción de los cambios.

Xpert[®] NPM1 Mutation

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Nombre patentado

Xpert[®] NPM1 Mutation

2 Denominación común o habitual

Xpert NPM1 Mutation

3 Propósito previsto

3.1 Indicaciones

La prueba Xpert NPM1 Mutation realizada en el GeneXpert[®] Dx System de Cepheid es una prueba diagnóstica *in vitro* para la detección cuantitativa de transcritos de ARNm de NPM1 mutante (tipos A, B y D en el exón 12) en muestras de sangre periférica de pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA). La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real y automática, y notifica la proporción de transcritos del ARNm de control endógeno de NPM1 a ABL1 mutante. La prueba también está indicada como ayuda en el control de pacientes con LMA con mutación en NPM1 para conocer los niveles de transcritos del ARNm de NPM1 mutante. La prueba debe utilizarse junto con otros factores clinicopatológicos.

La prueba Xpert NPM1 Mutation no diferencia entre los transcritos de NPM1 mutante de tipo A, B o D, y no detecta ni controla otros tipos raros de NPM1 mutante. Esta prueba no está indicada para el diagnóstico de LMA.

3.2 Usuario/entorno previsto

La prueba Xpert NPM1 Mutation está indicada para que la utilicen usuarios que hayan recibido formación en un entorno de laboratorio.

4 Resumen y explicación

La leucemia mieloide aguda (LMA) es un cáncer de las células madre hematopoyéticas de la sangre mieloide en la médula ósea^{1,2} y se sabe que tiene varias mutaciones en el exón 12 de la nucleofosmina (NPM1)³. La inserción de nucleótidos en el exón 12 da como resultado una mutación por cambio de marco y crea una señal de exportación nuclear (NES). Las mutaciones en el gen NPM1 dan lugar a una localización citoplasmática aberrante de NPM1 y proteínas que interactúan con NPM1. NPM1 es uno de los genes más mutados en la LMA y las mutaciones ocurren en el 28 % al 35 % de todos los casos de LMA. Si bien se están investigando varios medicamentos dirigidos a la mutación en NPM1, actualmente no hay disponibles terapias dirigidas aprobadas por la FDA.⁴

El gen NPM1 codifica la proteína de transporte nuclear que tiene una función en la biología del centrosoma y el ribosoma, así como en la regulación de otros sistemas celulares, incluidas las vías supresoras de tumores. La NPM1 es una fosfoproteína nucleolar que sirve como transporte entre el núcleo y el citoplasma. Regula el transporte de partículas ribosomales a través de la membrana nuclear. Las mutaciones en NPM1 se descubrieron por primera vez en personas con LMA tras la observación de una ubicación citoplasmática anormal en lugar de la ubicación nuclear normal. La evaluación genética de los blastos leucémicos, combinada con la ubicación citoplasmática de NPM1, ha permitido ampliar los conocimientos sobre las mutaciones conocidas por cambio de marco del exón 12.³ Las mutaciones más frecuentes en NPM1

son el tipo A (~75-80 %), el tipo B (~10 %) y el tipo D (~5 %), todas en el exón 12, lo que da como resultado una mutación por cambio de marco a partir de una inserción de cuatro nucleótidos. La mutación provoca una pérdida de una señal de localización nucleolar y una localización citoplasmática aberrante de la proteína en pacientes con LMA.⁵

5 Principio del procedimiento

La prueba Xpert NPM1 Mutation es una prueba automatizada para cuantificar la cantidad de transcritos de mutación en NPM1 como una proporción de mutación en NPM1/ABL1. La prueba se realiza en el Cepheid GeneXpert Dx System, que automatiza e integra la purificación de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en muestras simples y complejas mediante ensayos de RT-PCR y PCR anidada en tiempo real. El sistema está formado por un instrumento, un ordenador y software precargado para realizar los ensayos y ver los resultados. El sistema requiere el uso de cartuchos de GeneXpert desechables, de un solo uso, que contienen los reactivos de RT-PCR y PCR anidada, y alojan ambos procesos. Para obtener una descripción completa del sistema, consulte el Manual del operador del sistema GeneXpert Dx (*GeneXpert Dx System Operator Manual*) correspondiente.

La prueba Xpert NPM1 Mutation incluye reactivos para detectar la mutación en NPM1 y el transcrito de ABL1 como control endógeno en muestras de sangre periférica. La cantidad de transcrito de mutación en NPM1 se cuantifica como la proporción porcentual de mutación en NPM1/ABL1. La prueba Xpert NPM1 Mutation incluye dos controles: un control endógeno (ABL1) y un control de comprobación de la sonda (PCC). El control endógeno ABL1 normaliza la diana de mutación en NPM1 y garantiza que se utilice suficiente muestra en el ensayo. El PCC verifica la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR, así como la presencia y funcionalidad en el cartucho de todos los componentes de la reacción, lo que incluye las sondas y los colorantes.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Materiales suministrados

El kit del Xpert NPM1 Mutation (GXNPM1-CE-10) contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de ensayo o de control de calidad. El kit contiene lo siguiente:

Xpert NPM1 Mutation Reactivos

10 de cada por kit

Proteinasa K (PK)	10 x 130 µl por vial
Componente	Ingrediente del reactivo
Proteinasa K	<5 %

Reactivo de lisis (LY) (cloruro de guanidinio)	10 x 5,3 ml por vial
Componente	Ingrediente del reactivo
Cloruro de guanidina	25 - 50 %
Urea	25 - 50 %
Sulfato dodecil sódico	<2 %

Reactivo de lavado	10 x 2,9 ml por ampolla
Componente	Ingrediente del reactivo
Etanol	<50 %
Tiocianato de guanidinio	<50 %

Xpert NPM1 Mutation Cartuchos de con tubos de reacción integrados		10 por kit
Componente	Ingrediente del reactivo	Cantidad
Microesfera 1 (liofilizada)	Enzima: Taq ADN-polimerasa < 50 U/ microesfera	1 por cartucho
	dNTPs < 0,05 %	
Microesfera 2 (liofilizada)	Cebadores y sondas < 0,005 %	1 por cartucho
Microesfera 3 (liofilizada)	Cebadores y sondas < 0,005 %	1 por cartucho
Microesfera 4 (liofilizada)	Enzima: Taq ADN-polimerasa < 50 U/ microesfera	1 por cartucho
	dNTPs < 0,05 %	
Reactivo de enjuague	Cloruro potásico < 4 %	2 ml por cartucho
	Azida sódica < 0,1 %	
	Polietilenglicol < 40 %	
	Tween 20 < 0,2 %	
Reactivo de elución	Trizma base < 0,3 %	2,5 ml por cartucho
	Clorhidrato de Trizma < 0,1 %	
	Azida sódica < 0,05 %	

CD**1 por kit**

- Archivo de definición del ensayo (ADF)
- Instrucciones para importar ADF en el software GeneXpert
- Instrucciones de uso

Nota

La albúmina sérica bovina (BSA) del interior de las microesferas de este producto se obtuvo y se fabricó exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. Los animales no fueron alimentados con proteínas de rumiantes ni con otras proteínas animales; los animales superaron las pruebas ante y post mórtem. Durante el procesamiento, no hubo mezcla del material con otros materiales de origen animal.

Nota

Los certificados de análisis y las fichas de datos de especificaciones de lote pueden obtenerse a través del servicio técnico de Cepheid.

7 Materiales requeridos pero no suministrados

- GeneXpert Dx System (el número de catálogo varía según la configuración): instrumento GeneXpert, ordenador, lector de códigos de barras y manual del operador.
- Para GeneXpert Dx System: software GeneXpert Dx versión 6.2 o superior.
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Agitadora vorticial
- Microcentrífuga (1000 x g mínimo)
- Pipetas y puntas de pipeta con filtro de aerosoles
- Tubos cónicos de 50 ml
- Etanol absoluto para reactivos
- PBS 1x, pH 7,4

8 Conservación y manipulación

- Conserve los contenidos del kit Xpert NPM1 Mutation a una temperatura de 2 °C a 8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No abra la tapa del cartucho hasta que esté listo para realizar la prueba.
- No utilice cartuchos cuya fecha de caducidad haya vencido.
- No utilice cartuchos que presenten fugas.
- El reactivo de lavado es un líquido transparente e incoloro. No utilice el reactivo de lavado si se ha vuelto turbio o ha cambiado de color.
- Veinte (20) minutos antes de iniciar el procedimiento, saque la muestra de sangre, el cartucho y los reactivos de preparación de la muestra de su lugar de conservación y espere a que se equilibren a la temperatura ambiente (de 20 °C a 30 °C).

9 Declaraciones de atención y precaución

9.1 General

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos y reactivos usados, como posibles agentes transmisores de infecciones. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales.
- Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁶ y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁷
- Siga los procedimientos de seguridad establecidos por su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- La eficacia diagnóstica de esta prueba solo se ha establecido para sangre recogida en tubos con EDTA. El funcionamiento del ensayo no se ha evaluado con otros tipos de muestras.
- La fiabilidad de los resultados depende de la realización correcta de la recogida, el transporte, la conservación y el procesamiento de las muestras. El ensayo puede arrojar resultados incorrectos si las muestras no se recogen, manipulan y conservan correctamente, si hay errores técnicos, si se confunden las muestras o si los transcritos diana en la muestra son inferiores al límite de detección del ensayo. Para evitar resultados erróneos es necesario seguir estrictamente las instrucciones de uso y el Manual del operador del sistema GeneXpert Dx (*GeneXpert Dx System Operator Manual*).
- Si la prueba Xpert NPM1 Mutation se realiza fuera del tiempo o los intervalos de temperatura de almacenamiento de la muestra o el kit recomendados, es posible que se obtengan resultados erróneos o no válidos.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos, y requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden presentar características propias de los residuos químicos peligrosos, que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos usados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) relativas a la manipulación y eliminación de residuos médicos.⁸

9.2 Muestra


- Para asegurar la integridad de la muestra, mantenga las condiciones de conservación adecuadas (consulte el Apartado 11, Recogida y conservación de las muestras). No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de transporte distintas a las recomendadas.
- No congele las muestras de sangre periférica.
- La recogida, conservación y transporte adecuados de las muestras son esenciales para obtener resultados correctos.

9.3 Prueba/reactivo

- No sustituya los reactivos de la prueba Xpert NPM1 Mutation por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho de la prueba Xpert NPM1 Mutation, excepto cuando vaya a añadir la muestra y el reactivo de lavado.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del empaquetado.
- No agite el cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de haber abierto su tapa, es posible que se obtengan resultados no válidos.
- No coloque la etiqueta de identificación de la muestra sobre la tapa del cartucho ni sobre la etiqueta del código de barras del cartucho.
- No utilice cartuchos con etiquetas de código de barras dañadas.
- No utilice un cartucho que tenga un tubo de reacción dañado.
- Se recomienda que los cartuchos de Xpert NPM1 Mutation estén a temperatura ambiente (de 20 °C a 30 °C) cuando se vayan a utilizar en la prueba.
- Cada cartucho de un solo uso de Xpert NPM1 Mutation se utiliza para procesar un solo ensayo. No reutilice los cartuchos procesados.
- Transfiera todo el contenido de una (1) ampolla del reactivo de lavado a la cámara del reactivo de lavado. Si no se añade el reactivo de lavado, se podría generar un resultado falso **NO DETECTADO (NOT DETECTED)**.
- No reutilice las puntas de pipeta.
- No utilice cartuchos que parezcan mojados o que tengan el precinto de la tapa roto.
- No utilice el cartucho de Xpert NPM1 Mutation si se ha añadido un reactivo en la abertura equivocada.
- No abra los cartuchos de Xpert NPM1 Mutation una vez finalizado el ensayo.
- Dedique un juego de pipetas y reactivos exclusivamente a la preparación de las muestras.
- Use guantes y bata de laboratorio limpios. Cámbiese los guantes entre la manipulación de una muestra y la siguiente.
- En caso de un derrame de muestras o controles, póngase guantes y utilice toallitas de papel para absorber el derrame. A continuación, limpie a fondo la zona contaminada con una dilución 1:10 de lejía de uso doméstico recién preparada. La concentración de cloro activo final deberá ser del 0,5 %, independientemente de la concentración de la lejía de uso doméstico en su país. Deje un mínimo de dos minutos de tiempo de contacto.
- Asegúrese de que el área de trabajo esté seca antes de usar etanol desnaturalizado al 70 % para eliminar los residuos de lejía. Espere a que la superficie esté completamente seca antes de continuar. O bien, siga los procedimientos habituales del centro en caso de contaminación o derrame. Siga las recomendaciones del fabricante para la descontaminación de los equipos.

10 Peligros químicos

Nota La información siguiente se refiere a todo el producto, que contiene reactivos de proteinasa K, lisis, lavado y enjuague.

- Pictograma de peligro CLP/SGA: 
- Palabra de advertencia: PELIGRO
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
 - Líquido y vapor altamente inflamables, H225.
 - Provoca irritación cutánea, H315.
 - Provoca irritación ocular grave, H319.
 - Puede provocar somnolencia o vértigo, H336.
 - Se sospecha que provoca defectos genéticos, H341.
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
 - **Prevención**
 - Consulte la ficha de datos de seguridad para obtener instrucciones especiales antes del uso.
 - Pedir instrucciones especiales antes del uso.
 - No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.
 - Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. No fumar.
 - Mantener el recipiente herméticamente cerrado.
 - Evitar respirar las nieblas, los vapores o el aerosol.
 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.

- Utilizar únicamente en exteriores o en un lugar bien ventilado.
- Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- Utilizar el equipo de protección individual obligatorio.
- **Respuesta**
 - En caso de INCENDIO: Utilizar los medios adecuados para apagarlo.
 - EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar.
 - Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.
 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua/ducharse.
 - Se necesita un tratamiento específico; ver información adicional de medidas de primeros auxilios.
 - Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
 - En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 - Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
 - En caso de exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.
- **Conservación/eliminación**
 - Mantener en lugar fresco.
 - Almacenar en un lugar bien ventilado.
 - Mantener el recipiente herméticamente cerrado.
 - Guardar bajo llave.
 - Eliminar el contenido/el recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

11 Recogida y conservación de muestras

- Las muestras de sangre periférica deben recogerse en tubos con EDTA, siguiendo las directrices del centro. No debe separarse el plasma de las células.
- Las muestras deben conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante un máximo de 3 días (72 horas) antes de realizar la prueba.
- La recogida y conservación correctos de las muestras son fundamentales para el funcionamiento del análisis. La estabilidad de las muestras en condiciones de transporte y conservación distintas a las indicadas en el Apartado 12 Procedimiento a continuación no se han evaluado con la prueba Xpert NPM1 Mutation.

12 Procedimiento

12.1 Antes de empezar

Veinte (20) minutos antes de iniciar el procedimiento, saque la muestra de sangre, los reactivos de preparación de la muestra y los cartuchos de su lugar de almacenamiento en refrigeración y espere a que se equilibren a la temperatura ambiente. Centrifugue brevemente la proteínasa K (PK) en una microcentrifugadora.

Importante Inicie la prueba en la hora siguiente a la adición de la muestra tratada con reactivo para muestras al cartucho.

Importante Saque el cartucho del empaquetado de cartón antes de preparar la muestra. (Consulte el Apartado 12.3, Preparación del cartucho).

12.2 Preparación de la muestra

12.2.1 Preparación de la muestra con un recuento desconocido de leucocitos (LEU) o muestras con menos de 30 millones de LEU/ml

1. Añada 100 µl de proteinasa K (PK) al fondo de un tubo cónico nuevo de 50 ml etiquetado.
2. Asegúrese de que la muestra de sangre esté bien mezclada, invirtiendo el tubo de recogida de sangre 8 veces inmediatamente antes de pipetear. Consulte las instrucciones del fabricante del tubo de recogida de sangre con EDTA.
3. Añada 4 ml de la muestra de sangre al tubo que ya contiene PK.
4. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 3 segundos.
5. Incube a temperatura ambiente durante 1 minuto.
6. Añada al mismo tubo 2,5 ml de reactivo de lisis (LY).

Nota Conserve el reactivo de lisis sobrante para utilizarlo de nuevo en el paso 13.

7. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos.
8. Incube a temperatura ambiente durante 5 minutos.
9. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos.
10. Incube a temperatura ambiente durante 5 minutos.
11. Mezcle la muestra, golpeando el fondo del tubo 10 veces.
12. Transfiera 1 ml del lisado preparado a un nuevo tubo cónico de 50 ml etiquetado.

Nota El lisado sobrante puede conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante 48 horas como máximo, o a -20 °C o menos durante 1 mes como máximo.

13. Añada 1,5 ml del reactivo de lisis (LY) conservado del paso 6 al nuevo tubo cónico que contiene el lisado.
14. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos.
15. Incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.
16. Añada al mismo tubo cónico 2 ml de etanol absoluto para reactivos (suministrado por el usuario).
17. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Déjelo a un lado.
18. Deseche los reactivos PK o LY sobrantes.

12.2.2 Preparación de la muestra con un recuento de LEU igual o superior a 30 millones de LEU/ml

1. Añada 100 µl de PK al fondo de un tubo cónico nuevo de 50 ml.
2. Asegúrese de que la muestra de sangre esté bien mezclada, invirtiendo el tubo de recogida de sangre 8 veces inmediatamente antes de pipetear. Consulte las instrucciones del fabricante del tubo de recogida de sangre con EDTA.
3. Al tubo que ya contiene PK, añada 250 µl de muestra de sangre y 3,75 ml de PBS 1x (pH 7,4, suministrado por el usuario).
4. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 3 segundos.
5. Incube a temperatura ambiente durante 1 minuto.
6. Siga los pasos 6-17 del Apartado 12.2.1 para realizar el lisado final.
7. Deseche los reactivos PK o LY sobrantes.

12.3 Preparación del cartucho

Para añadir la muestra al cartucho del Xpert NPM1 Mutation:

1. Saque el cartucho del envase de cartón.
2. Inspeccione el cartucho para comprobar que no esté dañado. Si está dañado, no lo utilice.
3. Levante la tapa del cartucho para abrirlo y transfiera el contenido completo de una (1) ampolla de reactivo de lavado a la cámara del reactivo de lavado (que tiene la abertura pequeña). Consulte la Figura 1.
4. Pipetee todo el contenido de la muestra preparada (4,5 ml) en la cámara de muestras (abertura grande). Consulte la Figura 1.

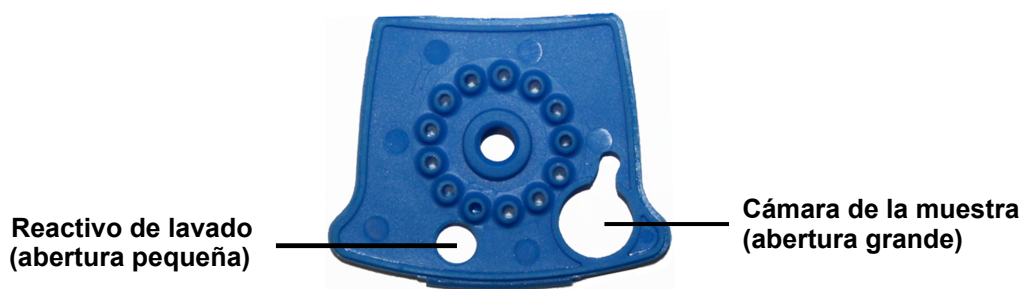


Figura 1. Cartucho de Xpert NPM1 Mutation (Vista superior)

5. Cierre la tapa del cartucho. Asegúrese de que la tapa encaje firmemente en su sitio. Inicie el ensayo (consulte el Apartado 12.4, Iniciar el ensayo).

12.4 Iniciar el ensayo

Importante Antes de iniciar el ensayo, asegúrese de que el sistema esté ejecutando el software GeneXpert Dx versión 6.2 o posterior, y de que se haya importado el archivo de definición del ensayo correcto al software. Este apartado enumera los pasos predeterminados para utilizar el GeneXpert Dx System.

Nota Los pasos que debe seguir pueden variar si el administrador del sistema ha cambiado el flujo de trabajo predeterminado del sistema.

1. Encienda el sistema GeneXpert encendiendo primero el instrumento GeneXpert Dx y luego el ordenador. El software GeneXpert Dx se ejecutará automáticamente, o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de acceso directo del software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.
2. Inicie una sesión en el software GeneXpert con su nombre de usuario y su contraseña.
3. En la ventana del **sistema GeneXpert**, haga clic en **Crear prueba (Create Test)** (GeneXpert Dx). Se abre la ventana **Crear prueba (Create Test)**.
4. Escanee o escriba la Id. paciente (Patient ID). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. de la muestra (Scan Sample ID barcode)**.
5. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente. La ID de la muestra se muestra en el lado izquierdo de la ventana **View Results (Ver resultados)** y en todos los informes. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Escanee el código de barras del cartucho de Xpert NPM1 Mutation. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Id. del lote del reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si el código de barras del cartucho de Xpert NPM1 Mutation no se escanea, repita el ensayo con un cartucho nuevo. Si ha escaneado el código de barras del cartucho en el software y el archivo de definición del ensayo no está disponible, aparecerá una pantalla que indica que el archivo de definición del ensayo no está cargado en el sistema. Si aparece esta pantalla, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)**. Es posible que tenga que introducir su contraseña en el cuadro de diálogo que aparece.
8. Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
9. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizado el ensayo, la luz se apaga.
10. Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla y retirar el cartucho.
11. Elimine los cartuchos usados en los recipientes de residuos de muestras adecuados, de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

Nota El tiempo hasta la obtención del resultado es inferior a 3 horas (aproximadamente 30 minutos de preparación de la muestra fuera del instrumento y menos de 2,5 horas de tiempo de ejecución del ensayo).

13 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo visualizar e imprimir los resultados, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Haga clic en el icono **Ver resultados (View Results)** para ver los resultados.
- Una vez finalizada la prueba, haga clic en el botón **Informe (Report)** de la pantalla **Ver resultados (View Results)** para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

14 Control de calidad

Cada cartucho contiene un control endógeno ABL1 y un control de comprobación de la sonda (PCC).

Control endógeno ABL1: El control endógeno ABL1 verifica que se haya utilizado suficiente muestra en la prueba. Además, este control también detecta la inhibición asociada a la muestra del ensayo de PCR en tiempo real. El ABL1 se considera superado si cumple los criterios de aceptación asignados.

Control de comprobación de la sonda (PCC): Antes de iniciar la reacción PCR, el sistema GeneXpert mide la señal de fluorescencia de las sondas para monitorizar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción y la funcionalidad de todos los componentes de la reacción en el cartucho. El PCC se considera superado si cumple los criterios de aceptación asignados.

15 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert interpreta automáticamente los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra en la ventana Ver resultados (View Results). Los resultados y las interpretaciones posibles se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Xpert NPM1 Mutation Resultados e interpretación de la prueba

Resultado	Interpretación
<p>Mutación en NPM1 DETECTADA (NPM1 Mutation DETECTED)</p> <p>Consulte Figura 2, Figura 3, Figura 4</p>	<p>Se ha detectado transcrito de mutación en NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Mutación en NPM1 DETECTADA (NPM1 Mutation DETECTED); se ha detectado transcrito de mutación en NPM1, su umbral del ciclo (Ct) está dentro del intervalo válido y su criterio de valoración está por encima del umbral configurado. ● Posibles resultados detectados: <ul style="list-style-type: none"> ● Mutación en NPM1 DETECTADA [#.##%] (NPM1 Mutation DETECTED) [#.##%]; Figura 2. ● Mutación en NPM1 DETECTADA [Por encima del LC superior] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]); Figura 3. ● Mutación en NPM1 DETECTADA [Por debajo del LD; <#.###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #.###%]); Figura 4. ● ABL – SUPERADO (PASS); se ha detectado transcrito del ABL, su umbral del ciclo (Ct) está dentro del intervalo válido y su criterio de valoración está por encima del umbral configurado. ● Comprobación de la sonda SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda son correctos.
<p>Mutación en NPM1 NO DETECTADA (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 5</p>	<p>No se ha detectado transcrito de mutación en NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Mutación en NPM1 NO DETECTADA [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]); no se ha detectado transcrito de mutación en NPM1 y tiene un umbral del ciclo (Ct) de cero o por encima del extremo superior del intervalo válido, o su criterio de valoración está por debajo del umbral configurado. ● ABL – SUPERADO (PASS); se ha detectado transcrito del ABL, su umbral del ciclo (Ct) está dentro del intervalo válido y su criterio de valoración está por encima del umbral configurado. ● Comprobación de la sonda SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda son correctos.
<p>NO VÁLIDO (INVALID)</p> <p>Consulte Figura 6, Figura 7, Figura 8, Figura 9, Figura 10</p>	<p>No se puede determinar el nivel de transcrito de mutación en NPM1 debido a que la muestra contiene un exceso de transcrito de mutación en NPM1 o un exceso o insuficiencia de transcrito ABL. Consulte el Apartado 18, Guía de solución de problemas, para obtener instrucciones adicionales para volver a analizar la muestra.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Mutación en NPM1 NO VÁLIDA (NPM1 Mutation INVALID); el umbral de ciclo de NPM1 (Ct) estaba por encima de cero y por debajo del extremo inferior del intervalo válido (Figura 8, Figura 9) ● ABL NO SUPERADO (FAIL); el umbral de ciclo (Ct) de ABL no estaba dentro del intervalo válido o el criterio de valoración estaba por debajo del umbral configurado (Figura 6, Figura 7, Figura 8, Figura 10) ● Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda son correctos.

Resultado	Interpretación
<p>ERROR</p> <p>Consulte la Figura 11</p>	<p>No se puede determinar el nivel de transcrito de la mutación en NPM1. Consulte el Apartado 18, Guía de solución de problemas, para obtener instrucciones adicionales para volver a analizar la muestra.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Mutación en NPM1 SIN RESULTADO (NO RESULT) ● ABL SIN RESULTADO (NO RESULT) ● Comprobación de la sonda NO SUPERADO (FAIL): Todos o alguno de los resultados de comprobación de la sonda no han sido correctos. ● Comprobación de la sonda SUPERADO (PASS) o N/A (NA) (no aplicable) e interrupción por presión*. <p>*Si se ha superado la comprobación de la sonda, el error se debe a que el límite máximo de presión ha excedido el intervalo aceptable o a que ha fallado un componente del sistema.</p>
<p>SIN RESULTADO (NO RESULT)</p>	<p>No se puede determinar el nivel de transcrito de la mutación en NPM1. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado del ensayo. Por ejemplo, esto puede ocurrir si el usuario paró un ensayo que estaba en curso. Consulte el Apartado 18, Guía de solución de problemas, para obtener instrucciones adicionales para volver a analizar las muestras.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Mutación en NPM1 SIN RESULTADO (NO RESULT) ● ABL SIN RESULTADO (NO RESULT) ● Comprobación de la sonda N/A (NA) (no aplicable)

16 Resultados cuantitativos

Los resultados cuantitativos de Xpert NPM1 Mutation se proporcionan como una proporción porcentual de mutación en NPM1/ABL1. A los kits se les asignan valores de eficiencia ($E_{\Delta Ct}$) y factor de escala (SF) específicos de lote que vinculan la cuantificación de la mutación en NPM1 (A, B y D) y los transcritos de ABL1 a números de copias de patrones primarios de ARN transcrito sintético *in vitro* (ARN-TIV) de mutación en NPM1 y ABL1.

Tabla 2. Ejemplos de resultados de la prueba Xpert NPM1 Mutation

Ensayo	Mutación en NPM1		ABL		Xpert NPM1 Mutation Resultados de la prueba	Notas
	Ct	Resultado ^a	Ct	Resultado ^a		
1	5,2	NO VÁLIDO (INVALID)	5,8	NO SUPERADO (FAIL)	NO VÁLIDO [Transcritos de mutación en NPM1 y ABL demasiado altos] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	NA
2	9	NO VÁLIDO (INVALID)	5,5	NO SUPERADO (FAIL)	NO VÁLIDO [Transcritos ABL demasiado altos] (INVALID [Too high ABL transcripts])	NA
3	5,5	NO VÁLIDO (INVALID)	8,5	SUPERADO (PASS)	NO VÁLIDO [Transcritos de mutación en NPM1 demasiado altos] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	NA
4	25,0	NO VÁLIDO (INVALID)	21,8	NO SUPERADO (FAIL)	NO VÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	NA
5	0	NO VÁLIDO (INVALID)	0	NO SUPERADO (FAIL)	NO VÁLIDO [Sin transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript])	NA
6	8,5	POS	13,6	SUPERADO (PASS)	Mutación en NPM1 DETECTADA [Por encima del LC superior] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	NA
7	22,5	POS	14,8	SUPERADO (PASS)	Mutación en NPM1 DETECTADA [1,05 %] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Valor notificado: 1,05 %
8	27,9	POS	14,0	SUPERADO (PASS)	Mutación en NPM1 DETECTADA [Por debajo del LD; <0,030 %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #.###%])	NA
9	0	NEG	14,6	SUPERADO (PASS)	NEGATIVO [Transcrito ABL suficiente] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	NA
10	0	SIN RESULTADO (NO RESULT)	0	SIN RESULTADO (NO RESULT)	ERROR	Por ejemplo: Error 5017 [ABL] ha fallado la comprobación de la sonda [ABL] ([ABL] probe check failed)

^a Consulte la ficha Resultados de analitos en el software del sistema GeneXpert Dx para obtener más información.

16.1 Mutación en NPM1 DETECTADA [#,#%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])

Se ha detectado una mutación en NPM1 a un nivel de #,#%.

Para un resultado «**Mutación en NPM1 DETECTADA [#,#%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])**», la mutación en NPM1 es detectable con un Ct de mutación en NPM1 superior o igual a «6» y menor o igual a «32», y un Ct de ABL superior o igual a «6» e inferior o igual a «20». El software GeneXpert calcula el % (IS) usando la siguiente ecuación, donde el valor de delta Ct (ΔCt) se obtiene del Ct de ABL menos el Ct de la mutación en NPM1:

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Factor de escala}$$

Nota

El factor de escala (SF) es un parámetro específico del lote incorporado en el código de barras del cartucho del ensayo. El valor de este factor y la eficiencia de ensayo específica del lote ($E_{\Delta Ct}$) se determinan en las pruebas de control de calidad de cada lote de ensayo mediante patrones primarios calibrados según el número de copias de calibradores de ARN transcrito sintético *in vitro* (ARN-TIV) de mutación en NPM1 y ABL para la cuantificación de transcrito de mutación en NPM1. La $E_{\Delta Ct}$ se establece a 1,95 y el valor de SF a 1,79, con el fin de utilizarlos en el ejemplo que se muestra aquí.

Ejemplo: $E_{\Delta Ct}$ específico del lote = 1,95; SF = 1,79
 Ct de ABL del ensayo = 14,5; Ct de mutación en NPM1 = 17,1; ΔCt = -2,6
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53 \%$

Resultado: **Mutación en NPM1 DETECTADA [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]).**
 Consulte la Figura 2.

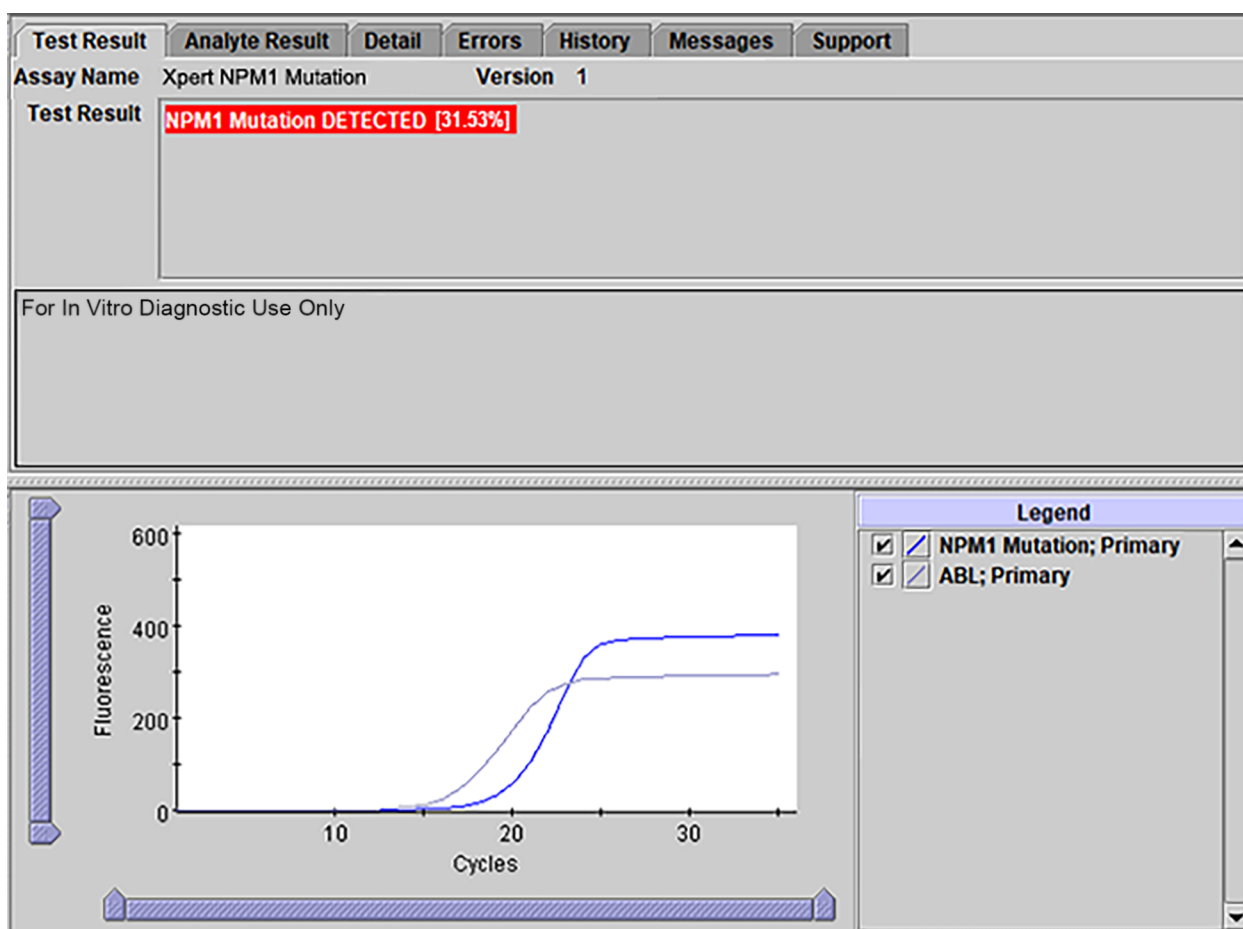


Figura 2. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert Dx: Mutación en NPM1 DETECTADA [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

16.2 Mutación en NPM1 DETECTADA [Por encima del LC superior] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

Se ha detectado una mutación en NPM1 a un nivel > 500 %.

Para un resultado «**Mutación en NPM1 DETECTADA [Por encima del LC superior] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**», la mutación en NPM1 es detectable con un Ct de mutación en NPM1 superior o igual a «6» e inferior o igual a «32», y un Ct de ABL superior o igual a «6» e inferior o igual a «20». El software GeneXpert calcula el % (IS) usando la siguiente ecuación, donde el valor de delta Ct (ΔCt) se obtiene del Ct de ABL menos el Ct de la mutación en NPM1:

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

Nota

El factor de escala (*SF*) es un parámetro específico del lote incorporado en el código de barras del cartucho del ensayo. El valor de este factor y la eficiencia de ensayo específica del lote ($E_{\Delta Ct}$) se determinan en las pruebas de control de calidad de cada lote de ensayo mediante patrones primarios calibrados según el número de copias de calibradores de ARN transcrito sintético *in vitro* (ARN-TIV) de mutación en NPM1 y ABL para la cuantificación de transcrito de mutación en NPM1. La $E_{\Delta Ct}$ se establece a 1,95 y el valor de *SF* a 1,79, con el fin de utilizarlos en el ejemplo que se muestra aquí.

Ejemplo: $E_{\Delta Ct}$ específico del lote = 1,95; *SF* = 1,79
 Ct de ABL del ensayo = 13,4; Ct de mutación en NPM1 = 10,2; $\Delta Ct = 3,2$
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92 \%$ es mayor que el límite superior de cuantificación definido para el ensayo, del 500 %

Resultado: **Mutación en NPM1 DETECTADA [Por encima del LC superior] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).** Consulte la Figura 3.

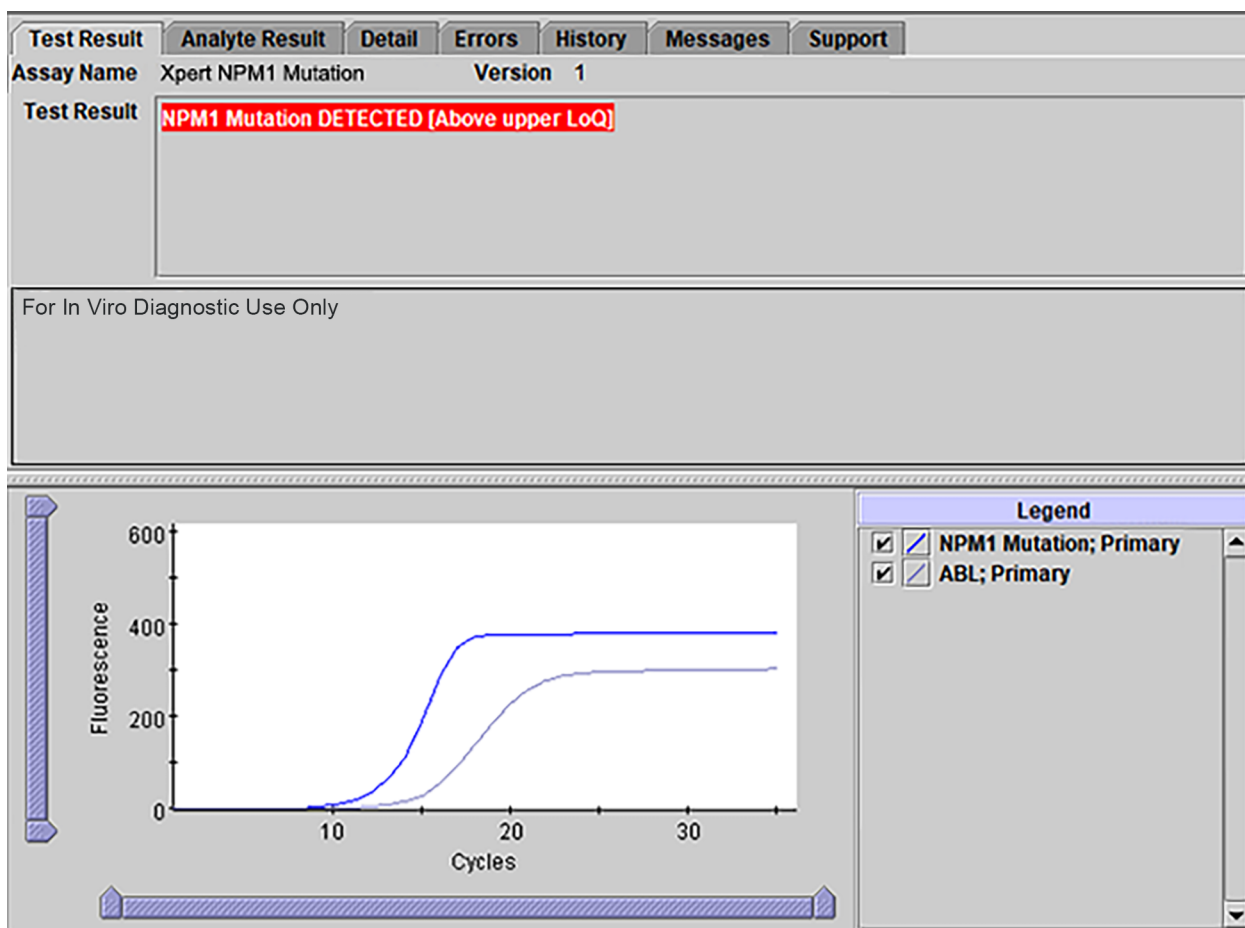


Figura 3. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert Dx: Mutación en NPM1 DETECTADA [Por encima del LC superior] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

16.3 Mutación en NPM1 DETECTADA [Por debajo del LD; <0,030 %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #.###%])

Se ha detectado una mutación en NPM1 a un nivel < 0,030 %.

Para un resultado «**Mutación en NPM1 DETECTADA [Por debajo del LD]; <0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])**», la mutación en NPM1 es detectable con un Ct de mutación en NPM1 superior o igual a «6» e inferior o igual a «32», y un Ct de ABL superior o igual a «6» e inferior o igual a «20». El software GeneXpert calcula el % (IS) usando la siguiente ecuación, donde el valor de delta Ct (ΔCt) se obtiene del Ct de ABL menos el Ct de la mutación en NPM1:

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

El factor de escala (*SF*) es un parámetro específico del lote incorporado en el código de barras del cartucho del ensayo. El valor de este factor y la eficiencia de ensayo específica del lote ($E_{\Delta Ct}$) se determinan en las pruebas de control de calidad de cada lote de ensayo mediante patrones primarios calibrados según el número de copias de calibradores de ARN transcrito sintético *in vitro* (ARN-TIV) de mutación en NPM1 y ABL para la cuantificación de transcrito de mutación en NPM1. La $E_{\Delta Ct}$ se establece a 1,95 y el valor de *SF* a 1,79, con el fin de utilizarlos en el ejemplo que se muestra aquí.

Nota

Ejemplo: $E_{\Delta Ct}$ específico del lote = 1,95; *SF* = 1,79
 Ct de ABL del ensayo = 14,3; Ct de mutación en NPM1 = 28,8; ΔCt = -14,5
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011 \%$ es menor que el límite de detección definido para el ensayo, del 0,030 %

Resultado: **Mutación en NPM1 DETECTADA [Por debajo del LD; <0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])**. Consulte la Figura 4.

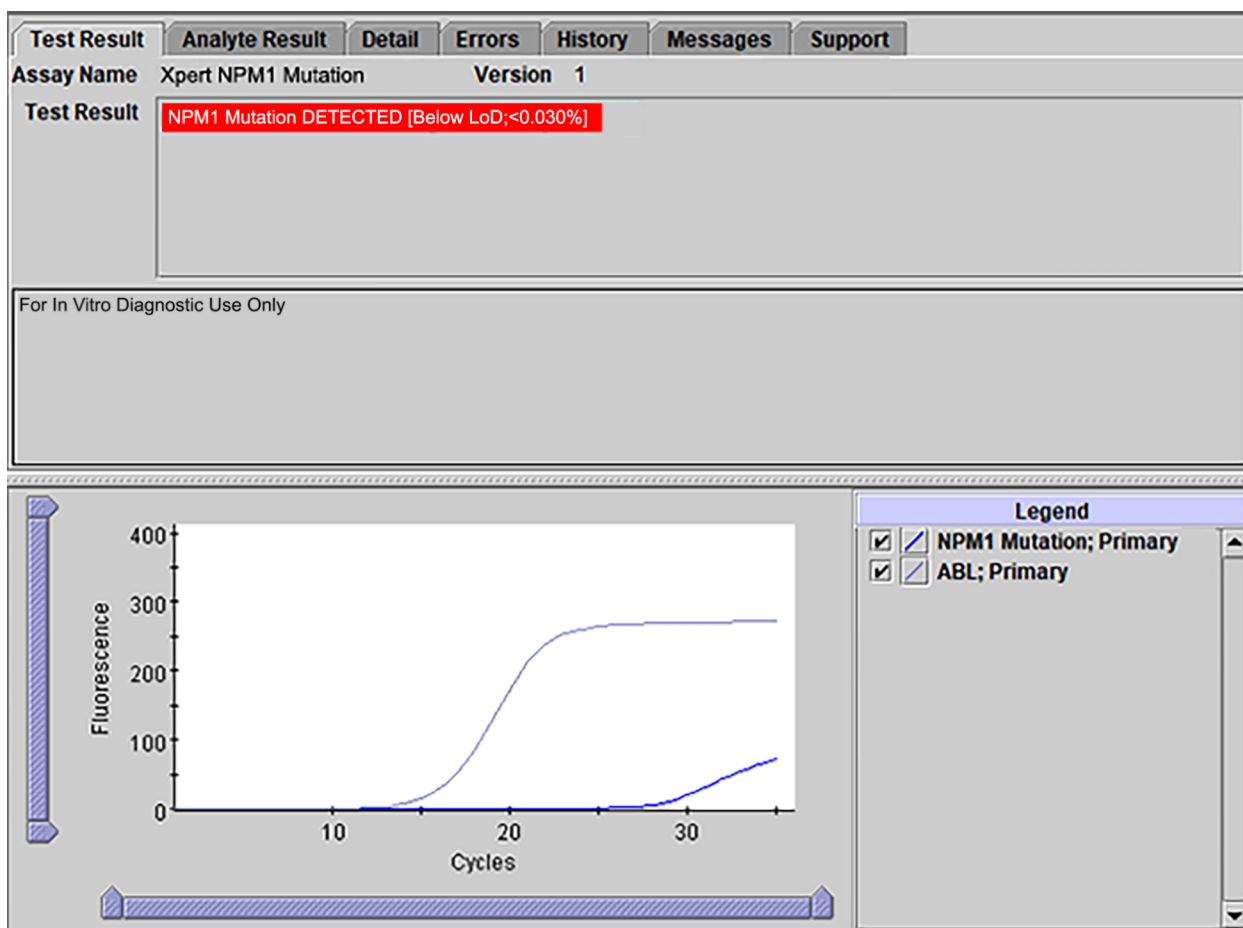


Figura 4. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert: Mutación en NPM1 DETECTADA [Por debajo del LD; <0,030 %] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #.###%])

16.4 Mutación en NPM1 NO DETECTADA [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

No se detectó una mutación en NPM1 con un Ct de NPM1 igual a «0» o superior a «32», y un Ct de ABL superior a «6» e inferior o igual a «20».

El software GeneXpert requiere que el Ct ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)». Consulte el Apartado 15, Interpretación de los resultados, tabla 1.

Ejemplo: Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 0; el Ct de ABL = 14,0 está entre «6» y «20».

Resultado: **Mutación en NPM1 NO DETECTADA [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Consulte la Figura 5.

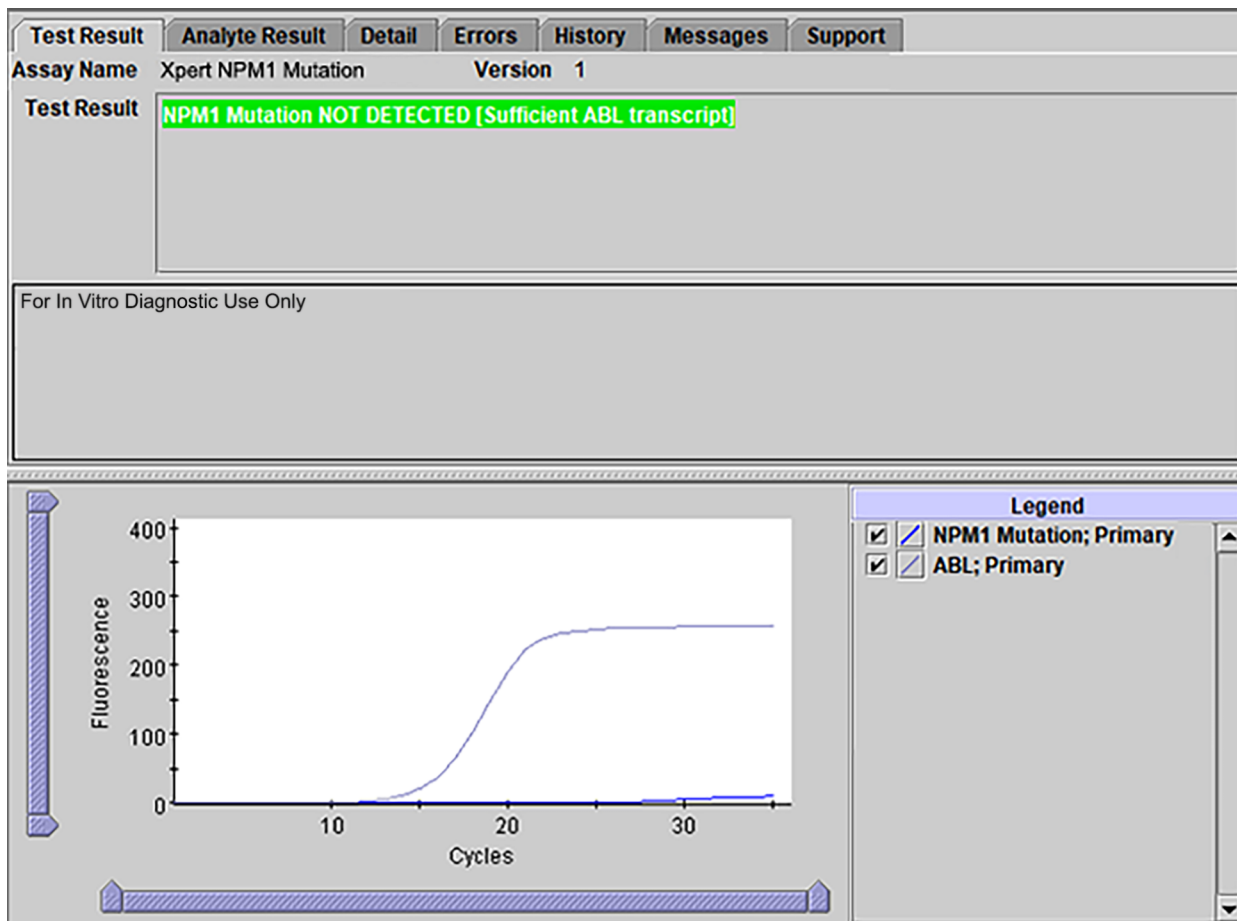


Figura 5. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert: Mutación en NPM1 NO DETECTADA [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

16.5 NO VÁLIDO [Sin transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript])

Se detectó una mutación en NPM1 o no se detectó, con un valor de Ct de ABL igual a «0».

El software GeneXpert requiere que el Ct ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)». Consulte el Apartado 18, Guía de solución de problemas.

Ejemplo: Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 0; Ct de ABL = 0.

Resultado: **NO VÁLIDO [Sin transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript])**. Consulte la Figura 6.

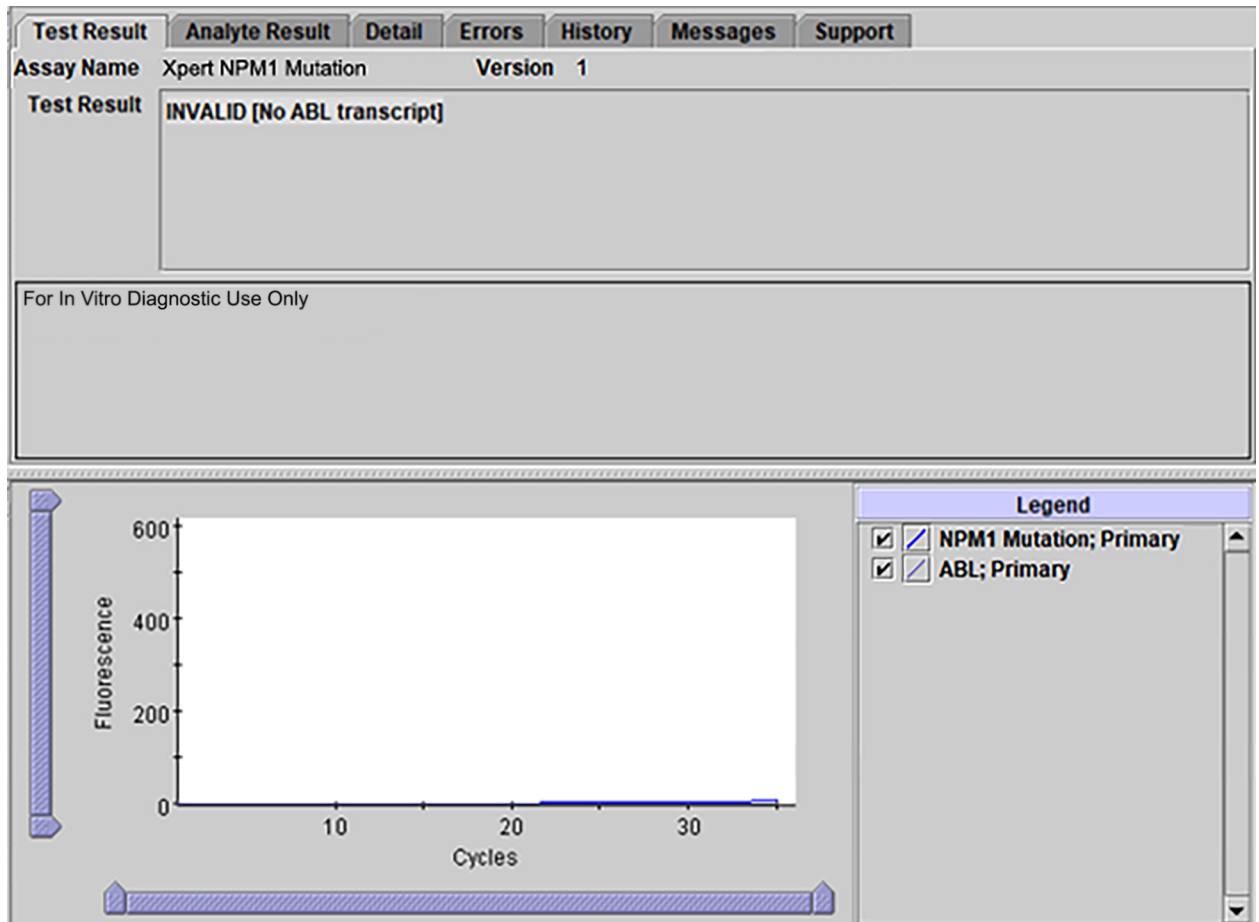


Figura 6. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert:
NO VÁLIDO [Sin transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript])

16.6 NO VÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

Se detectó una mutación en NPM1 o no se detectó, con un valor de Ct de ABL superior a «20».

El software GeneXpert requiere que el Ct ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)». Consulte el Apartado 18, Guía de solución de problemas.

Ejemplo: Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 33,3; Ct de ABL = 20,2 es superior a «20».

Resultado: **NO VÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).**
Consulte la Figura 7.

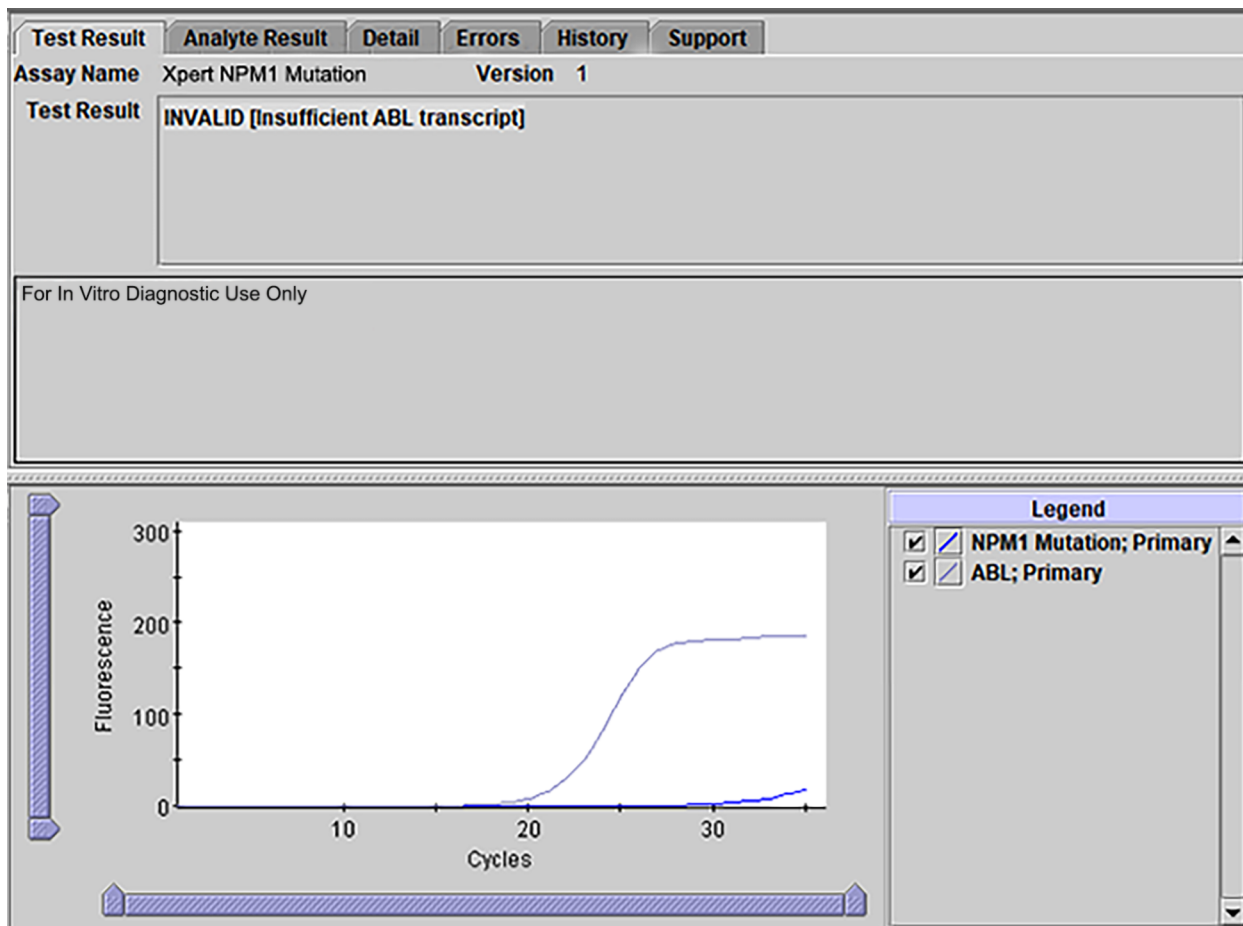


Figura 7. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert: NO VÁLIDO [Transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

16.7 NO VÁLIDO [Transcrito de mutación en NPM1 y ABL demasiado alto] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

Se detectó una mutación en NPM1 con Ct de mutación en NPM1 y Ct de ABL superiores a «0» e inferiores a «6».

El software GeneXpert requiere que el Ct ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)». Consulte el Apartado 18, Guía de solución de problemas.

Ejemplo: El Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 5,4 es superior a «0» e inferior a «6»; el Ct de ABL = 5,9 es inferior a «6».

Resultado: **NO VÁLIDO [Transcrito de mutación en NPM1 y ABL demasiado alto] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])**. Consulte la Figura 8.

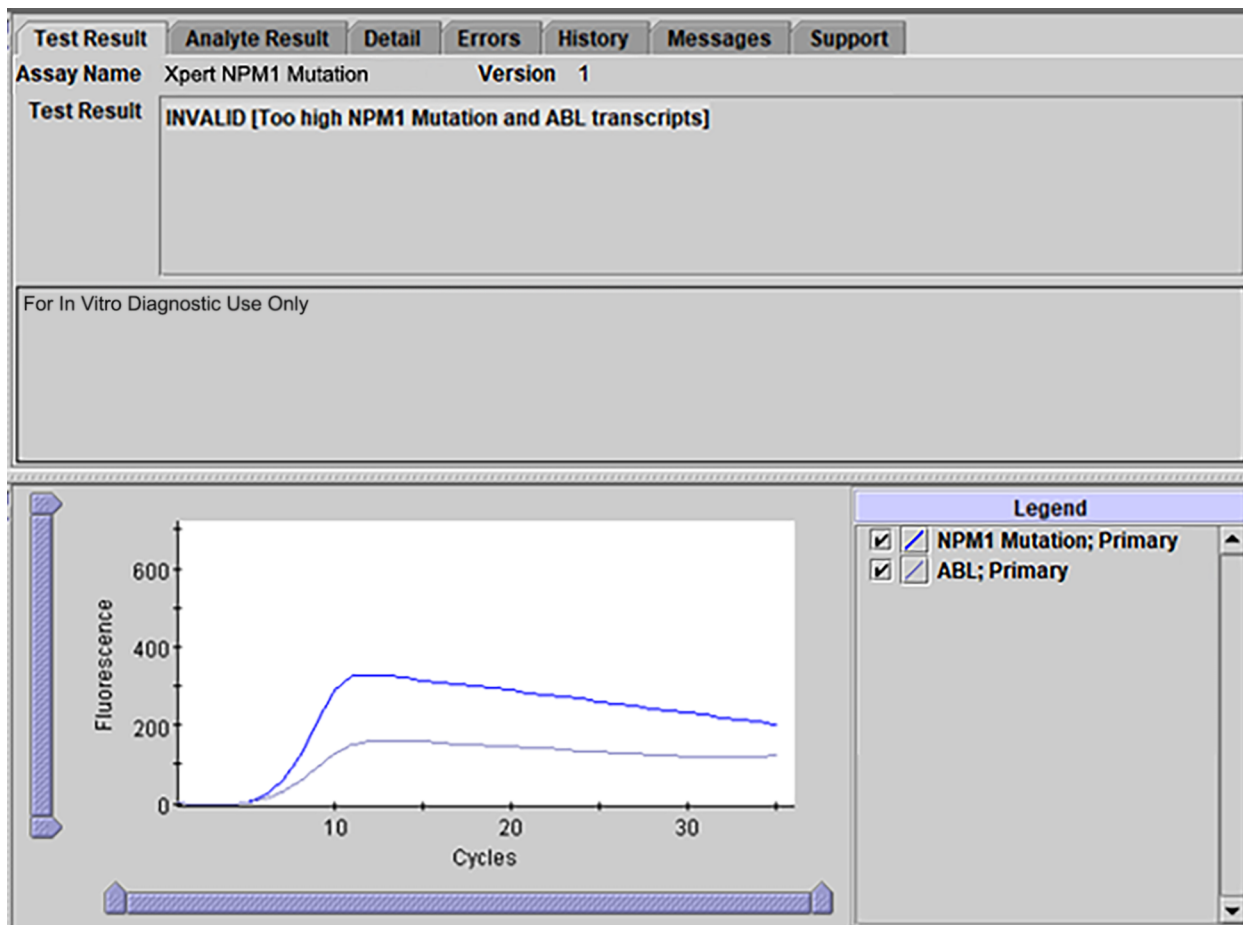


Figura 8. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert Dx: NO VÁLIDO [Transcrito de mutación en NPM1 y ABL demasiado alto] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

16.8 NO VÁLIDO [Transcrito de mutación en NPM1 demasiado alto] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

Se detectó una mutación en NPM1 con un Ct de mutación en NPM1 superior a «0» e inferior a «6», y un Ct de ABL superior a «6» e inferior o igual a «20».

El software GeneXpert requiere que el Ct ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)». Consulte el Apartado 18, Guía de solución de problemas.

Ejemplo: El Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 5,8 es superior a «0» e inferior a «6»; el Ct de ABL = 13 está entre «6» y «20».

Resultado: **NO VÁLIDO [Transcrito de mutación en NPM1 demasiado alto] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])**. Consulte la Figura 9.

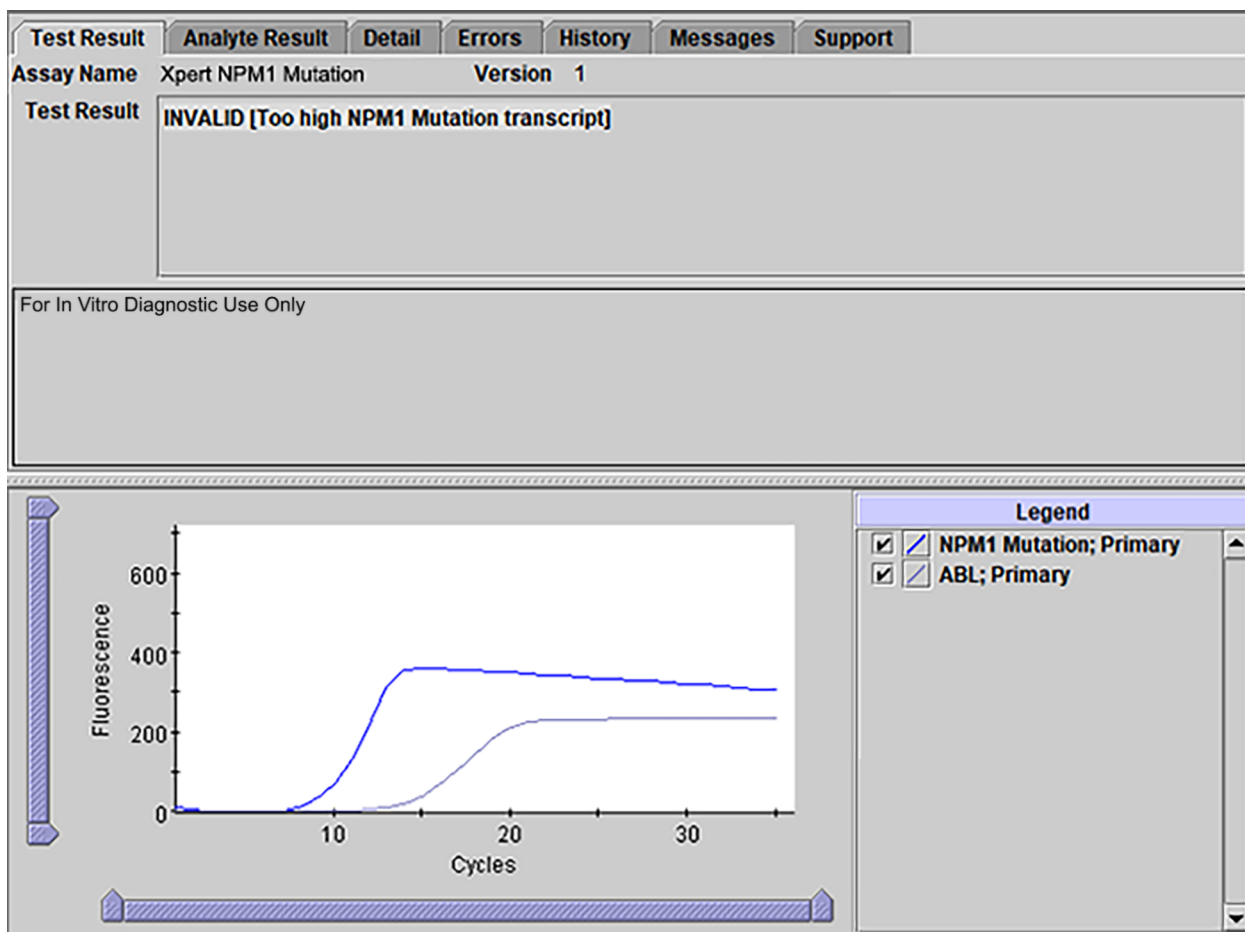


Figura 9. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert: NO VÁLIDO [Transcrito de mutación en NPM1 demasiado alto] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

16.9 NO VÁLIDO [Transcrito de mutación en ABL demasiado alto] (INVALID [Too high ABL transcript])

Se detectó una mutación en NPM1 con un Ct de mutación en NPM1 superior a «6» e inferior o igual a «32», y un Ct de ABL no igual a «0» e inferior a «6».

El software GeneXpert requiere que el Ct ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)». Consulte el Apartado 18, Guía de solución de problemas.

Ejemplo: Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 13,2; el Ct de ABL = 5,8 es inferior a «6».

Resultado: **NO VÁLIDO [Transcrito ABL demasiado alto] (INVALID [Too high ABL transcript]).** Consulte la Figura 10.

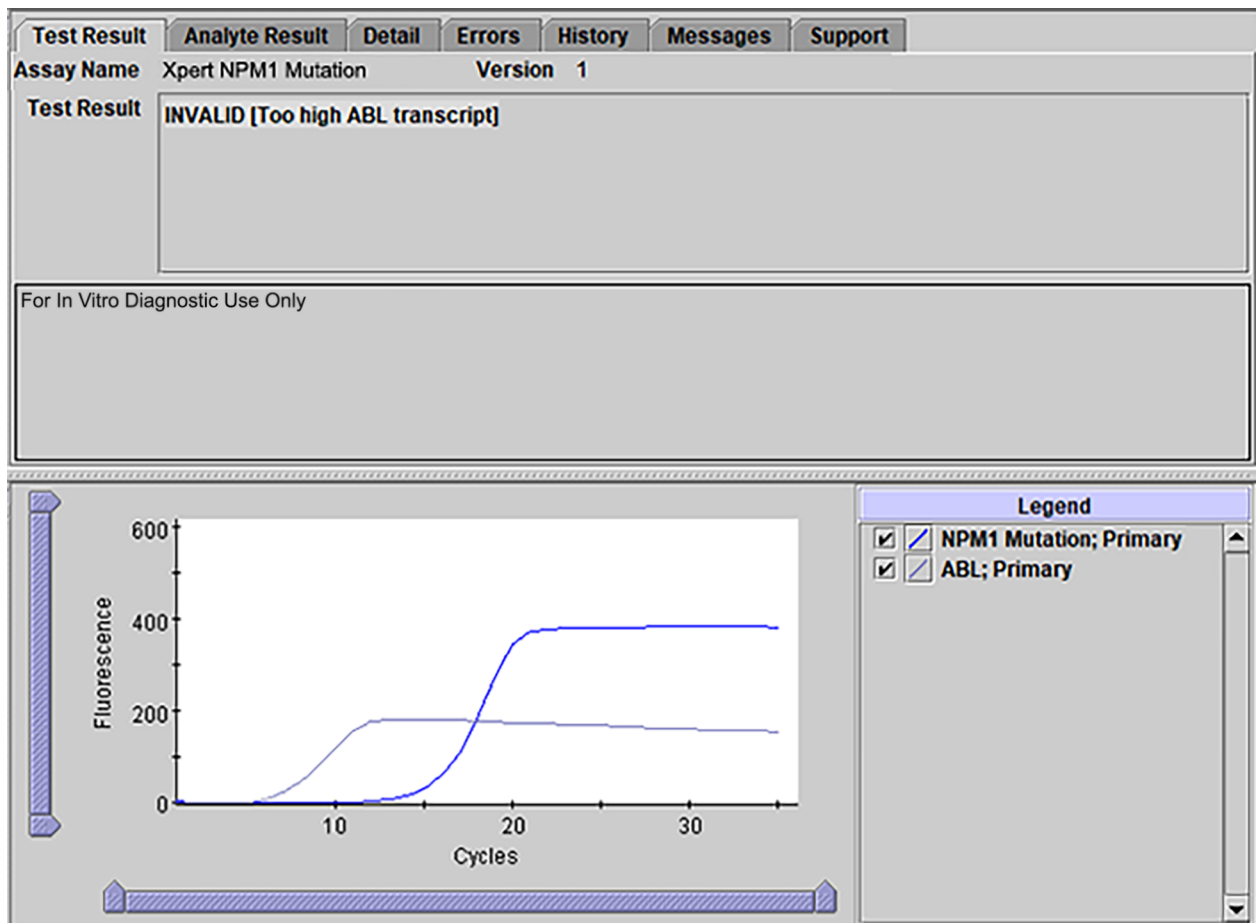


Figura 10. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert: NO VÁLIDO [Transcrito ABL demasiado alto] (INVALID [Too high ABL transcript])

16.10 ERROR

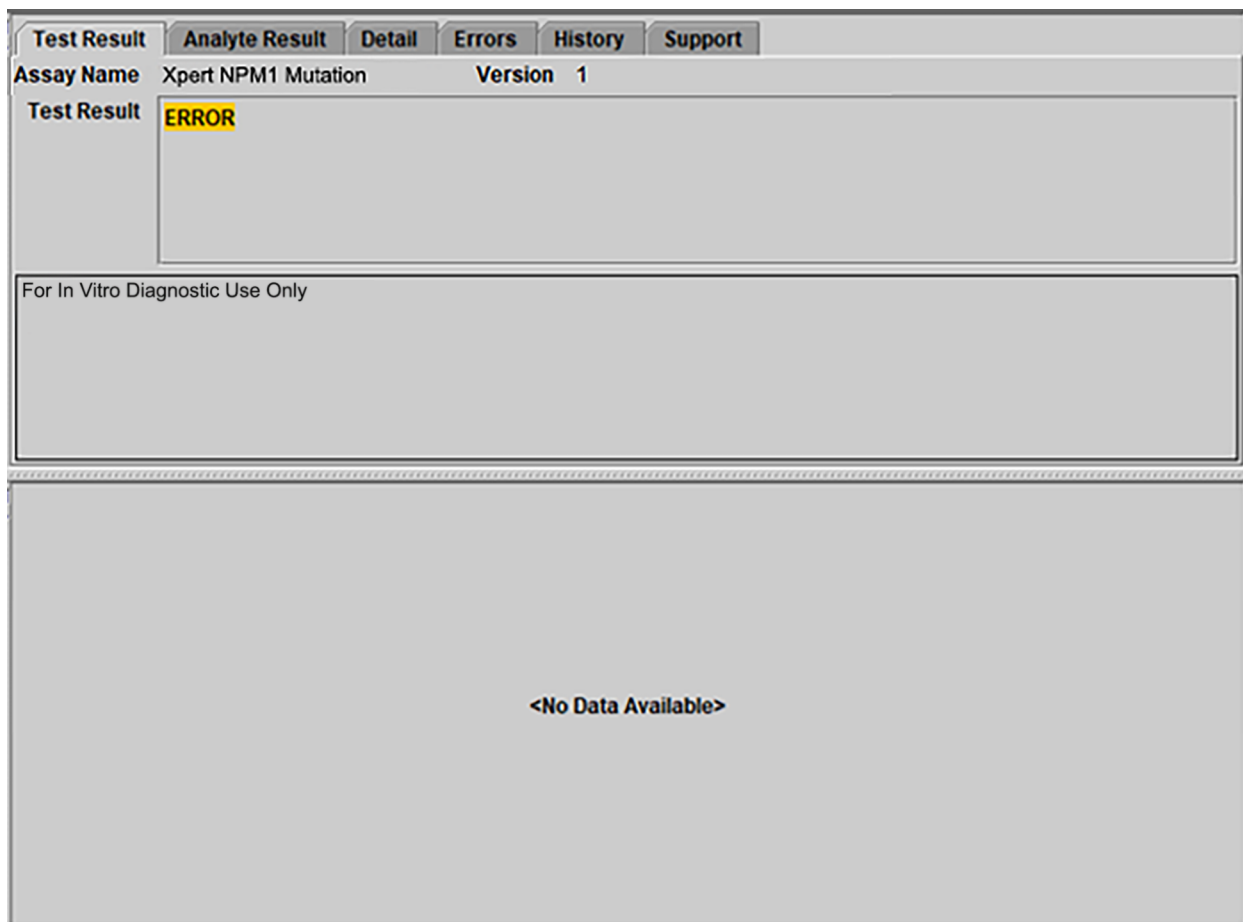


Figura 11. Ventana de visualización de resultados de GeneXpert: ERROR

17 Limitaciones del ensayo

- El ensayo no está concebido para utilizarse con calibradores externos.
- Las modificaciones de estos procedimientos pueden alterar la función del ensayo.
- El producto se ha diseñado para utilizarse con sangre recogida en tubos con EDTA únicamente.
- No utilice heparina como anticoagulante, ya que podría inhibir la reacción PCR.
- No se han validado tipos de muestras con citrato sódico, capa leucocitaria y médula ósea.
- El ensayo puede arrojar resultados erróneos si las muestras no se recogen, manipulan y conservan correctamente, o si se confunden las muestras. Para evitar resultados erróneos es necesario seguir estrictamente las instrucciones de uso.
- Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión de sondas o cebadores pueden afectar a la detección de variantes nuevas o desconocidas, y pueden producir un resultado falso negativo.
- Un recuento de leucocitos excesivamente alto podría provocar la acumulación de presión en el cartucho y hacer que se anule el análisis o dar lugar a resultados inexactos.
- Algunas muestras con niveles muy bajos de transcritos de ABL o concentraciones de leucocitos inferiores a 150 000 células/ml pueden notificarse como **NO VÁLIDO (INVALID)** (tipo 1). Un resultado indeterminado no excluye la presencia de niveles muy bajos de células leucémicas en la muestra.

18 Guía de solución de problemas

Tabla 3. Guía de solución de problemas

Resultado del ensayo	Causas posibles	Sugerencias
NO VÁLIDO (INVALID)	Tipo 1: Fallo del control endógeno ABL: <ul style="list-style-type: none"> • Muestra de mala calidad • Inhibición de la RT-PCR • Ct de ABL > 20 o el criterio de valoración < 100 	<ul style="list-style-type: none"> • Compruebe la calidad de la muestra (p. ej., si se han excedido los requisitos de almacenamiento de la muestra, como el tiempo y la temperatura). • Repita la prueba con la muestra original (si está disponible) o con el lisado conservado y un cartucho nuevo, siguiendo el procedimiento tal como se describe en el Apartado 19.1, Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 1).
	Tipo 2: No se puede determinar la concentración de transcritos de mutación en NPM1 debido a que la muestra contiene un exceso de transcritos de mutación en NPM1 o de ABL (Ct < 6)	Repita el ensayo con la muestra original (si está disponible) o con el lisado conservado y un cartucho nuevo, siguiendo el procedimiento tal como se describe en el Apartado 19.2, Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR (código 2008) o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 2).
ERROR (código 2008)	La presión excede el límite (mensaje de error 2008)	<ul style="list-style-type: none"> • Compruebe la calidad de la muestra • Compruebe si el recuento de LEU es muy elevado • Repita el ensayo con la muestra original (si está disponible) o con el lisado conservado y un cartucho nuevo, siguiendo el procedimiento tal como se describe en el Apartado 19.2, Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR (código 2008) o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 2).
ERROR (códigos 5006, 5007, 5008 y 5009*) *Esta no es una lista completa de códigos de ERROR.	Fallo de comprobación de la sonda	Repita el ensayo con la muestra original (si está disponible) o con el lisado conservado y un cartucho nuevo, siguiendo el procedimiento tal como se describe en el Apartado 19.1, Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 1).
SIN RESULTADO (NO RESULT)	Error en la recogida de datos. Por ejemplo, el operador detuvo un ensayo en curso o se produjo un corte del suministro eléctrico.	Repita el ensayo con la muestra original (si está disponible) o con el lisado conservado y un cartucho nuevo, siguiendo el procedimiento tal como se describe en el Apartado 19.1, Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 1).

19 Repetición de pruebas

19.1 Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 1)

Vuelva a analizar las muestras con resultados **ERROR** o **NO VÁLIDO** debido a que el umbral de ciclo (Ct) de ABL supera el Ct máximo válido (Ct >20) o a que el criterio de valoración es inferior al umbral configurado (<100). Consulte también el Apartado 18, Guía de solución de problemas.

1. Si dispone de suficiente volumen de muestra de sangre, repita la prueba desde el tubo de recogida de muestra de sangre original, siguiendo el procedimiento del Apartado 12.2.
O bien,
Si el volumen de la muestra de sangre es insuficiente, se puede repetir la prueba con el lisado conservado en el paso 12 del Apartado 12.2.1.
 - a. Si el lisado conservado en el paso 12 del Apartado 12.2.1 se ha congelado, descongélelo a la temperatura ambiente antes de utilizarlo.
 - b. Asegúrese de que el lisado esté bien mezclado, agitando la muestra en un vórtex a la velocidad máxima continuamente durante 10 segundos y dejándolo a un lado durante 3 minutos para que se asienten las burbujas.
2. Transfiera 1 ml del lisado preparado a un nuevo tubo cónico de 50 ml.
3. Siga los pasos 13-17 del Apartado 12.2.1 para realizar el lisado final.
4. Levante la tapa del cartucho para abrirlo y transfiera el contenido completo de una (1) ampolla de reactivo de lavado a la cámara del reactivo de lavado (que tiene la abertura pequeña). Consulte la Figura 1.
5. Pipetee todo el contenido de la muestra preparada en la cámara de muestras (abertura grande). Consulte la Figura 1.
6. Cierre la tapa del cartucho. Inicie el ensayo (consulte el Apartado 12.4, Iniciar el ensayo).

19.2 Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR (código 2008) o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 2)

Vuelva a analizar las muestras con concentraciones de transcritos de mutación en NPM1 o ABL por debajo del Ct mínimo válido (Ct > 0 y Ct < 6) o cuando se exceda el límite de presión. Consulte también el Apartado 18, Guía de solución de problemas.

1. Añada 100 µl de proteinasa K (PK) al fondo de un tubo cónico nuevo de 50 ml.
2. Asegúrese de que la muestra de sangre o el lisado sobrante del Apartado 12.2, paso 12, estén bien mezclados invirtiendo el tubo 8 veces inmediatamente antes de pipetear.
3. Añada 250 µl de la muestra de sangre al tubo que ya contiene proteinasa K y 3,75 ml de PBS (pH 7,4, suministrado por el usuario), si está disponible, o 60 µl de lisado retenido del Apartado 12.2.1, paso 12.
 - a. Si el lisado conservado en el paso 12 del Apartado 12.2.1 se ha congelado, descongélelo a la temperatura ambiente antes de utilizarlo.
 - b. Asegúrese de que el lisado esté bien mezclado, agitando la muestra en un vórtex a la velocidad máxima continuamente durante 10 segundos y dejándolo a un lado durante 3 minutos para que se asienten las burbujas.
4. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 3 segundos.
5. Incube a temperatura ambiente durante 1 minuto.
6. Para la muestra de sangre que se vuelve a analizar con PBS, siga los pasos 6 a 17 en el Apartado 12.2.1 para hacer el lisado final. Para la muestra de lisado retenido que se vuelve a analizar, siga los pasos a-g a continuación para hacer el lisado final.
 - a. Añada 2,5 ml de LY al tubo con la muestra de lisado retenido que se vuelve a analizar.
 - b. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos.
 - c. Incube a temperatura ambiente durante 5 minutos.
 - d. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos.
 - e. Incube a temperatura ambiente durante 5 minutos.
 - f. Añada al mismo tubo 2 ml de etanol absoluto para reactivos (suministrado por el usuario)
 - g. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Déjelo a un lado.

7. Levante la tapa del cartucho para abrirlo y transfiera el contenido completo de una (1) ampolla de reactivo de lavado a la cámara del reactivo de lavado (que tiene la abertura pequeña). Consulte la Figura 1.
8. Pipetee todo el contenido de la muestra preparada en la cámara de muestras (abertura grande). Consulte la Figura 1.
9. Cierre la tapa del cartucho. Inicie el ensayo (consulte el Apartado 12.4, Iniciar el ensayo).

20 Valores esperados

El intervalo de Xpert NPM1 Mutation cubre puntos clave de decisión clínica para el seguimiento de la LMA. Los valores esperados se expresan como proporción porcentual entre el ARNm de la mutación en NPM1 y el ARNm de ABL, que oscilan entre 0,030 % y 500 %. Las mediciones por debajo de este intervalo se notifican como no detectadas o por debajo del límite de detección (LD). Las mediciones por encima de este intervalo se notifican como por encima del límite de cuantificación (LC). Consulte el Apartado 15 para obtener detalles.

21 Eficacia clínica

Se realizó un estudio multicéntrico observacional de comparación de métodos en tres centros en los Estados Unidos y en un centro fuera de los Estados Unidos. Se incluyeron en el estudio muestras de 40 pacientes distintos con LMA con mutación en NPM1 en un momento temporal y en todo el intervalo dinámico de la prueba Xpert NPM1 Mutation. Se registraron la edad y el sexo de los pacientes de los que se obtuvieron las muestras. La distribución por sexo fue de 11 hombres (27,5 %) y 29 mujeres (72,5 %). Todas las muestras eran de pacientes con una edad entre 16 y 81 años, con una media de 59,7 años.

Las 40 muestras arrojaron resultados de prueba válidos. Treinta y seis de las 40 muestras arrojaron resultados dentro de los intervalos cuantitativos de ambas pruebas. Se excluyeron cuatro muestras de la regresión de Deming, ya que estas dieron negativo en la prueba Xpert NPM1 Mutation o en la prueba comparativa. Se excluyó una muestra adicional porque era un valor atípico. En total se incluyeron 35 muestras en el análisis de regresión de Deming.

La eficacia de la prueba Xpert NPM1 Mutation frente a la prueba comparativa se evaluó utilizando una regresión de Deming para determinar la pendiente y la ordenada al origen. La Figura 12 muestra los resultados del análisis de regresión de Deming, incluidas la pendiente, la ordenada al origen y la línea de identidad de las 35 muestras. Los límites de confianza del 95 % se calcularon utilizando el método jackknife, y se muestra el coeficiente de correlación de Pearson.

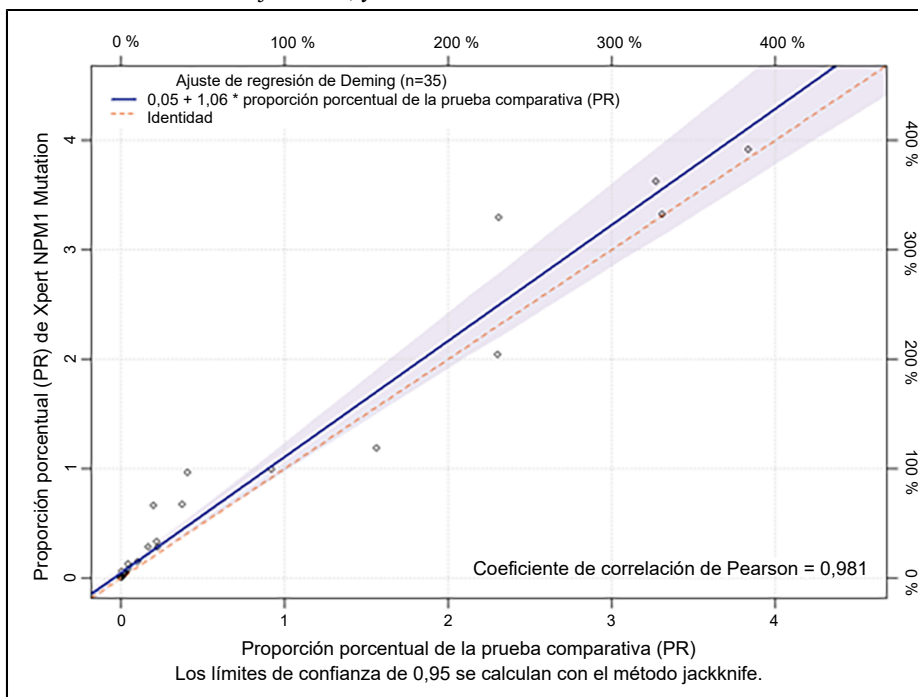


Figura 12. Regresión de Deming para la proporción porcentual

La pendiente y la ordenada al origen de la proporción porcentual del análisis de regresión de Deming fueron de 1,06 y 0,05, respectivamente, y la correlación de Pearson fue de 0,981 entre las mediciones de la prueba Xpert NPM1 Mutation y la prueba comparativa.

Se evaluó un análisis de Bland-Altman de diferencias en la proporción porcentual para las 35 muestras con resultados cuantitativos que estuvieron dentro del intervalo lineal de la prueba Xpert NPM1 Mutation y la prueba comparativa. La Figura 13 muestra el gráfico de Bland-Altman con la diferencia en la proporción porcentual entre las dos pruebas frente a los resultados de la proporción porcentual media para cada muestra. El gráfico también muestra las dos desviaciones estándar superior e inferior (2 DE) de la diferencia media que se observó en el estudio.

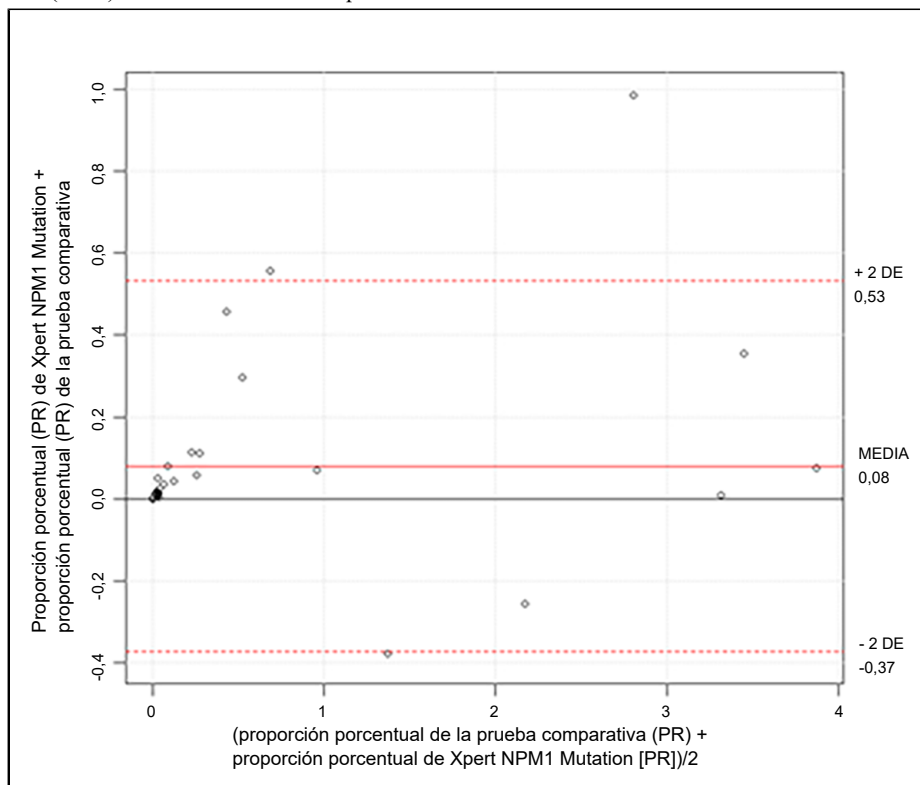


Figura 13. Gráfico de Bland-Altman para la proporción porcentual de Xpert NPM1 Mutation y la prueba comparativa

La diferencia media fue de 0,08 en la proporción porcentual entre el resultado de la prueba Xpert NPM1 Mutation y la prueba comparativa. La mayoría (91,4 %, 32/35) de los resultados estuvieron dentro de las 2 DE de la diferencia media.

22 Datos analíticos

22.1 Linealidad e intervalo dinámico

La linealidad se determinó para cada uno de los tres subtipos de mutaciones en NPM1, mutA, mutB y mutD, usando lisados celulares que contienen altos niveles de transcrito de cada subtipo. Estos lisados se diluyeron en un lisado de fondo preparado a partir de donantes presuntamente negativos para la mutación en NPM1 en intervalos de dilución de ~0,01–2500 % de mutación en NPM1/ABL. Todos los niveles se analizaron en un lote de reactivos por cuadruplicado. Las pruebas y los análisis estadísticos se realizaron de acuerdo con la pauta CLSI EP06-A⁹. Los análisis de regresión lineal para cada subtipo se muestra en la Figura 14, Figura 15 y Figura 16. El intervalo lineal de cada subtipo y sus coeficientes de modelo lineal se resumen en la Tabla 4.

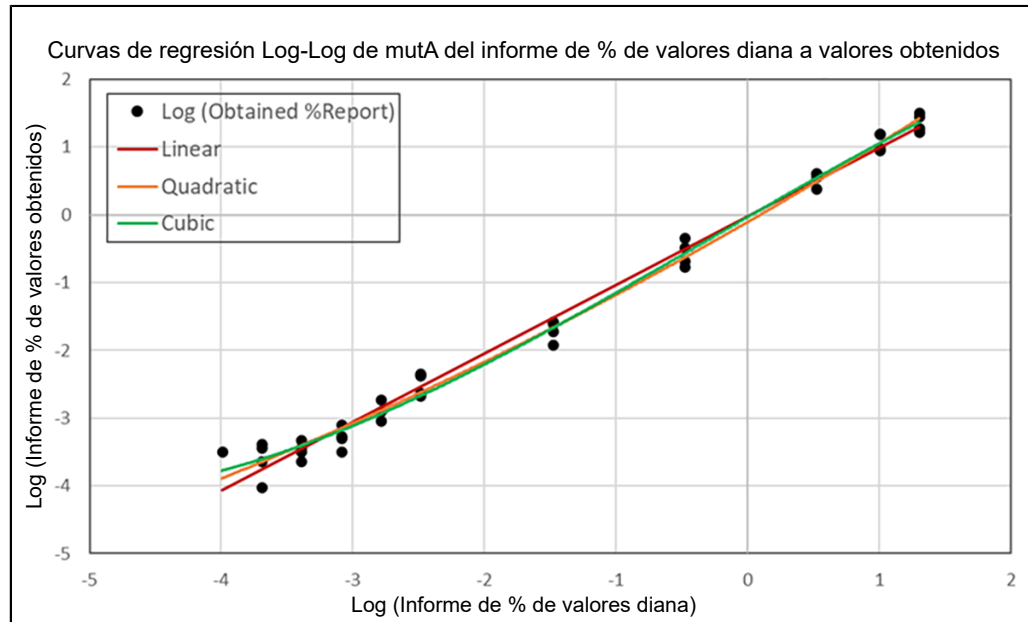


Figura 14. Curvas de regresión para mutA

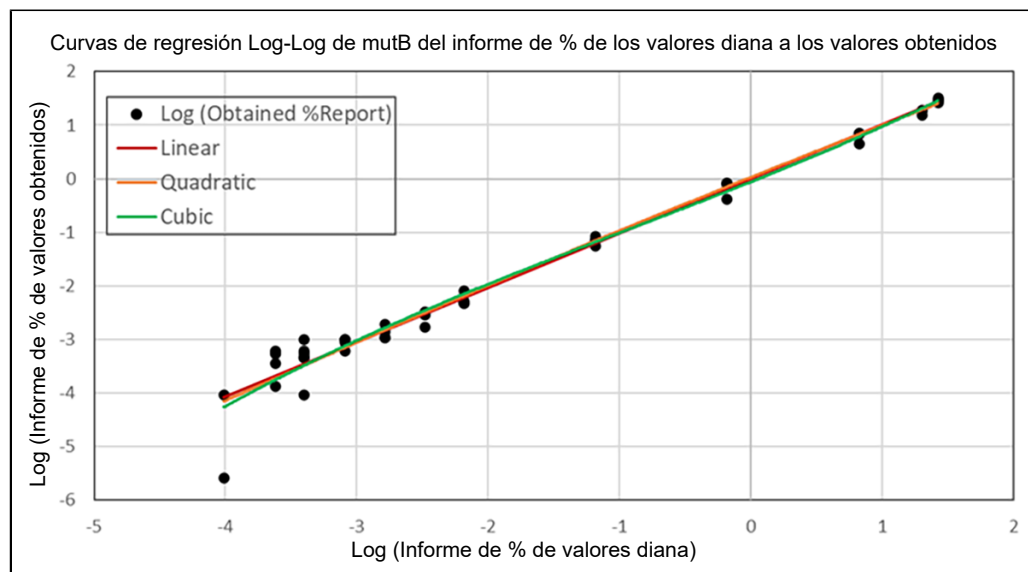


Figura 15. Curvas de regresión para mutB



Figura 16. Curvas de regresión para mutD

Tabla 4. Resumen de intervalos lineales y coeficientes del modelo lineal

Subtipo	Intervalo lineal	Ordenada al origen	Pendiente	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

En conjunto, la prueba Xpert NPM1 Mutation demostró linealidad dentro del intervalo 0,014–2020 % de mutación en NPM1/ABL. Limitado por el LC y el límite superior del software, el intervalo dinámico notificable es de 0,030 a 500 %.

22.2 Sensibilidad analítica (límite de detección, límite de cuantificación, límite de blanco)

El límite de detección (LD) es el nivel más bajo de mutación NPM1/ABL en el que el 95 % de las muestras se notifican sistemáticamente como «**Mutación en NPM1 DETECTADA [##,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%])**». El LD se determinó individualmente para los subtipos mutA, mutB y mutD analizando diluciones seriadas de lisados celulares positivos para la mutación en NPM1 y lisados clínicos que albergan cada subtipo de mutación. Los LD correspondientes se calcularon y verificaron de acuerdo con la pauta CLSI EP17-A2¹⁰. Los análisis resultantes arrojaron un LD de 0,025 % para mutA, 0,023 % para mutB y 0,030 % para mutD (Tabla 5). El LD más alto de entre los tres subtipos al 0,030 % se toma como el LD general de la prueba Xpert NPM1 Mutation.

El límite de cuantificación (LC) es el nivel más bajo de mutación en NPM1/ABL por encima del cual las muestras se pueden cuantificar con una desviación estándar $\leq 0,36$ de reducción logarítmica (LR) para LR medios superiores a 3,5. De acuerdo con la pauta CLSI EP17-A2¹⁰, los LC se calcularon y verificaron a un valor de 0,025 % para el subtipo mutA, 0,023 % para el subtipo mutB y 0,030 % para el subtipo mutD (Tabla 5). El LD más alto de entre los tres subtipos al 0,030 % se toma como el LD global de la prueba Xpert NPM1 Mutation.

El límite de blanco (LB) es el resultado de mutación en NPM1/ABL más alto esperado entre el 95 % de las muestras en blanco de donantes presuntamente negativos para la mutación en NPM1. De acuerdo con la pauta CLSI EP17-A2¹⁰, el LB de la prueba Xpert NPM1 Mutation se calculó y verificó a un valor de 0,0085 % (Tabla 5).

Tabla 5. Límite de detección, límite de cuantificación y límite del blanco de la prueba Xpert NPM1 Mutation [% de mutación en NPM1/ABL]

Subtipo	LD [% de mutación en NPM1/ABL]	LC [% de mutación en NPM1/ABL]	LB [% de mutación en NPM1/ABL]
mutA	0,025 %	0,025 %	0,0085 %
mutB	0,023 %	0,023 %	
mutD	0,030 %	0,030 %	

22.3 Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba Xpert NPM1 Mutation se determinó analizando muestras de sangre periférica tratada con EDTA extraídas de veinticinco donantes sanos.

No se obtuvo ningún resultado **DETECTADO (DETECTED)** de la mutación en NPM1 de ninguna de las muestras presuntamente negativas para la mutación en NPM1 evaluadas en este estudio. Por lo tanto, la prueba Xpert NPM1 Mutation es específica para los transcritos de ARNm de NPM1 mutante (tipos A, B y D en el exón 12) asociados con LMA, y tiene una especificidad analítica del 100 % para muestras de sangre periférica con EDTA.

22.4 Evaluación de la contaminación por arrastre

Se realizó un estudio para demostrar que los cartuchos de GeneXpert autónomos de un solo uso previenen la contaminación por arrastre de los cartuchos analizados secuencialmente en el mismo módulo del instrumento. Se analizó una muestra presuntamente negativa para la mutación en NPM1 después de una muestra positiva para la mutación en NPM1 alta en el mismo módulo del GeneXpert. El plan de pruebas se repitió 10 veces en dos módulos del GeneXpert (22 muestras negativas y 20 positivas en total). Todos los análisis de la muestra positiva arrojaron el resultado esperado de «**Mutación en NPM1 DETECTADA [### %] (NPM1 Mutation DETECTED [###%])**», y todos los análisis de las muestras negativas arrojaron el resultado esperado de «**Mutación en NPM1 NO DETECTADA [Transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**».

22.5 Sustancias potencialmente interferentes

En este estudio se evaluaron cinco sustancias que podrían estar presentes en las muestras de sangre periférica con EDTA y podrían interferir con la eficacia de la prueba. Los compuestos y las concentraciones analizados (consulte la Tabla 6) se basaron en la guía del documento del CLSI EP07-ED3¹¹. Las sustancias interferentes se analizaron en muestras de sangre periférica con EDTA obtenidas con lisados de células cultivadas positivas para la mutación en NPM1, que representan tres niveles: > 1 %, 0,1–0,5 % y negativo. Los controles de prueba consistieron en las mismas muestras sin las sustancias potencialmente interferentes. Cada nivel se analizó en ausencia y presencia de las cinco sustancias interferentes individuales, en 4 réplicas por condición. Se consideró que una sustancia no era interferente si en su presencia la proporción porcentual media observada estaba dentro de una diferencia de 3 veces, en comparación con el control.

No se observaron efectos inhibidores clínicamente significativos en la prueba Xpert NPM1 Mutation con ninguna de las sustancias interferentes evaluadas en este estudio. No se observaron diferencias estadísticamente significativas (valor de $p < 0,05$) en ninguna de las condiciones de prueba, y las proporciones porcentuales notificadas entre las condiciones de prueba y control estuvieron dentro del intervalo aceptable de 3 veces.

Tabla 6. Sustancias potencialmente interferentes analizadas con Xpert NPM1 Mutation

Sustancias interferentes	Concentración analizada
Bilirrubina no conjugada	20 mg/dl
Colesterol, total	500 mg/dl
Triglicéridos, total (lípidos)	3000 mg/dl
Heparina	3500 U/l
EDTA (extracción corta)	930 mg/dl

23 Reproducibilidad y precisión

El estudio fue diseñado de acuerdo con los principios generales establecidos en la pauta CLSI EP05-A3 para estudios multifactoriales. El estudio se realizó en tres centros. El diseño del estudio incluyó miembros del grupo de muestras que incluían las mutaciones A, B y D a dos concentraciones. Se analizaron siete miembros del grupo por duplicado, dos análisis por día, para un total de 6 días, analizados por cada uno de los dos operadores en tres centros diferentes (3 centros × 2 operadores × 3 lotes × 2 días × 2 análisis × 2 réplicas = 144 resultados de prueba/miembro del grupo). Los paneles de reproducibilidad y precisión fueron preparados por Cepheid y constan de siete miembros del grupo, como se muestra en la Tabla 7. Los grupos eran grupos artificiales en una matriz simulada de sangre periférica (PB, por sus siglas en inglés) con EDTA.

Tabla 7. Grupos de precisión y reproducibilidad

Miembro del grupo	Diana	Proporción porcentual (PR) del nivel
1	Negativo	NA
2	Mutación A en NPM1	Positivo moderado (~5 %)
3	Mutación A en NPM1	Positivo bajo (~0,2 %)
4	Mutación B en NPM1	Positivo moderado (~5 %)
5	Mutación B en NPM1	Positivo bajo (~0,2 %)
6	Mutación D en NPM1	Positivo moderado (~5 %)
7	Mutación D en NPM1	Positivo bajo (~0,2 %)

En la Tabla 8 se muestra el número de muestras con resultados válidos para cada miembro del grupo analizado por cada uno de los dos operadores en los tres centros.

Tabla 8. Reproducibilidad y precisión: Número de muestras con resultados válidos

Miembro del grupo	Centro 1			Centro 2			Centro 3			Muestras totales
	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	
1 Negativo	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 (proporción ~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 (proporción ~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 (proporción ~5 %)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

Miembro del grupo		Centro 1			Centro 2			Centro 3			Muestras totales
		Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	
5	LR2,7: mut B (proporción ~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 (proporción ~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 (proporción ~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 Dos muestras negativas tuvieron resultados válidos pero detectados (FP)
b Una muestra negativa tuvo un resultado válido pero detectado (FP)
c Una muestra LR 2,7: mut D (proporción ~0,2 %) tuvo un resultado válido pero no detectado (FN)

Los resultados cuantitativos se analizaron mediante análisis de varianza anidado (ANOVA) con efectos aleatorios y el coeficiente de variación (CV). En la Tabla 9 se muestran los resultados de los cálculos de ANOVA sobre desviación estándar y varianza de cada muestra positiva. La varianza y el porcentaje de la varianza total aportada por cada componente (Centro/ Instrumento, Operador, Lote, Día, Análisis) se indica como DE y porcentaje de contribución de cada componente.

Tabla 9. Resultados del coeficiente de variación (CV): Proporción porcentual (PR)

Miembro del grupo	N	Media	Centro		Op		Lote		Día		Ciclo		Intraensayo		Total	
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
LR1,3: mut A (proporción ~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 (proporción ~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 (proporción ~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 (proporción ~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 (proporción ~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 (proporción ~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 Xpert NPM1 no detectó una muestra y se excluyó del análisis porque no hubo una medición cuantitativa.

El porcentaje total del coeficiente de variación (CV) de la proporción porcentual que notifica valores cuantitativos para las muestras positivas moderadas LR1,3: mut A, mut B y mut D (proporción de ~5 %) osciló entre 21,74 y 26,23; para las muestras positivas bajas LR2,7: mut A, mut B y mut D (proporción de ~0,2 %), los valores oscilaron entre 20,68 y 79,22.

24 Bibliografía

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>. Acceso el 16 de septiembre de 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 (consultar la última edición). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar la última edición).
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 Oficinas centrales de Cepheid

Sede central corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Teléfono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede central europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Teléfono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

26 Asistencia técnica

Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:

- Nombre del producto
- Número de lote
- Número de serie del instrumento
- Mensajes de error (si los hubiera)
- Versión de software y, si corresponde, «Número de servicio técnico» (Service Tag) del ordenador

Estados Unidos





















Teléfono: + 1 888 838 3222
Correo electrónico: techsupport@cepheid.com

Francia

Teléfono: + 33 563 825 319
Correo electrónico: support@cepheideurope.com

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web:
www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

27 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Marca CE: conformidad europea
	<i>Producto sanitario para diagnóstico in vitro</i>
	Código de lote
	No reutilizar
	Consultar las instrucciones de uso
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene cantidad suficiente para n pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Precaución
	Líquidos inflamables
	Toxicidad para la reproducción y los órganos
	Atención
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Representante autorizado en Suiza
	Importador



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
EE. UU.
Teléfono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francia
Teléfono: + 33 563 825 300
Fax: + 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 Historial de revisiones

Apartado	Descripción del cambio
23	Se ha corregido un error en el apartado «Reproducibilidad y precisión».