

Xpert[®] NPM1 Mutation

REF GXNPM1-CE-10

Kullanma Talimatı

IVD CE

Ticari Markalar, Patentler ve Telif Hakkı Beyanları

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[®], Cepheid logosu, GeneXpert[®] ve Xpert[®] Cepheid şirketinin ticari markalarıdır, ABD ve diğer ülkelerde tescillidir. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

BU ÜRÜNÜN SATIN ALINMASI, KULLANICIYA ÜRÜNÜ BU KULLANIM TALİMATINA UYGUN OLARAK KULLANMAK İÇİN TEMLİK EDİLEMEZ HAK VERİR. BAŞKA HİÇBİR HAK, DOLAYLI OLARAK VEYA ENGELLEME YOLUYLA AÇIKÇA VERİLEMEZ. AYRICA, BU ÜRÜNÜN SATIŞIYLA, TEKRAR SATIŞ İÇİN HİÇBİR HAK VERİLMEZ.

© 2022–2023 Cepheid.

Değişikliklerin açıklaması için Bölüm 28 Revizyon Geçmiş bölümüne bakın.

Xpert® NPM1 Mutation

In Vitro Tanısal Kullanım İçindir.

1 Tescilli Ad

Xpert® NPM1 Mutation

2 Yaygın veya Olağan Adı

Xpert NPM1 Mutation

3 Kullanım Amacı

3.1 Amaçlanan Kullanım

Cepheid GeneXpert® Dx System üzerinde gerçekleştirilen Xpert NPM1 Mutation testi, Akut Miyeloid Lösemili (AML) hastalardan elde edilen periferik kan numunelerinde mutant NPM1 mRNA transkriptlerinin (ekson 12'deki A, B ve D tipleri) kantifikasyonuna yönelik bir *in vitro* tanısal testtir. Test, otomatik gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonunu (RT-PCR) kullanır ve mutant NPM1'in ABL1 endojen kontrol mRNA transkriptlerine yüzde oranını bildirir. Test, mutant NPM1 mRNA transkripti seviyesi için NPM1 mutasyonlu AML'li hastaların izlenmesine yardımcı olmak için tasarlanmıştır. Test, diğer klinikopatolojik faktörlerle birlikte kullanılmalıdır.

Xpert NPM1 Mutation testi, A, B veya D tipi mutant NPM1 transkriptleri arasında ayırım yapmaz ve diğer nadir mutant NPM1 türlerini tespit etmez veya izlemez. Bu test AML tanısı için tasarlanmamıştır.

3.2 Hedef Kullanıcı/Ortam

Xpert NPM1 Mutation testi, laboratuvar ortamında, eğitimli kullanıcılar tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

4 Özet ve Açıklama

Akut miyeloid lösemi (AML), kemik iliğinde miyeloid kan hematopoietik kök hücrelerinde bir kanserdir¹² ve çeşitli Nükleofosmin (NPM1) ekson 12 mutasyonlarını taşıdığı bilinmektedir³. Ekson 12'ye nükleotidlerin eklenmesi, çerçeve kayması mutasyonu ile sonuçlanır ve nükleer dışı aktarma sinyali (NES) oluşturur. NPM1 genindeki mutasyonlar, NPM1 ve NPM1 ile etkileşime giren proteinlerin anormal sitoplazmik lokalizasyonuna yol açar. NPM1, AML'deki en mutasyona uğramış genlerden biridir ve mutasyonlar, tüm AML vakalarının %28 ila %35'inde meydana gelir. Mutasyona uğramış NPM1'i hedef alan birkaç ilaç şu anda araştırma aşamasında olmakla birlikte, şu anda FDA onaylı hedefe yönelik tedaviler mevcut değildir.⁴

NPM1 geni, sentrozom ve ribozom biyolojisinde ve ayrıca tümör baskılayıcı yollar dahil olmak üzere diğer hücresel sistemlerin düzenlenmesinde rol oynayan nükleer mekik proteinini kodlar. NPM1, çekirdek ve sitoplazma arasında bir mekik görevi gören bir nükleolar fosfoproteindir. Çekirdek zarından ribozomal parçacıkların taşınmasını düzenler. NPM1 mutasyonları ilk olarak normal nükleer yerleşim yerine anormal sitoplazmik yerleşimin gözlemlenmesinin ardından AML bireylerinde keşfedilmiştir. Sitoplazmik NPM1 konumu ile birlikte lösemik blastların genetik değerlendirmesi, bilinen ekson 12 çerçeve kayması mutasyonlarının bilgisine yol açmıştır.³ En sık görülen NPM1 mutasyonları, tümü ekson 12'de A tipi (~%75-80), B tipi (~%10) ve D tipi (~%5) olup, dört nükleotidin eklenmesinden çerçeve kayması mutasyonu ile sonuçlanır. Mutasyon, AML hastalarında nükleolar lokalizasyon sinyalinin kaybına ve proteinin anormal sitoplazmik lokalizasyonuna neden olur.⁵

5 Prosedür Prensipleri

Xpert NPM1 Mutation testi, NPM1 mutasyon transkriptlerinin miktarını NPM1 Mutasyonu/ABL1 oranı olarak ölçmeye yönelik otomatik bir tahlildir. Test, gerçek zamanlı RT-PCR ve iç içe PCR tahlilleri kullanılarak basit veya kompleks örneklerde örnek saflaştırma, nükleik asit amplifikasyonu ve hedef sekans tespitini otomatikleştiren ve entegre eden Cepheid GeneXpert Dx System üzerinde gerçekleştirilir. Sistem, tahlilleri çalıştırmak ve sonuçları görüntülemek için bir alet, bilgisayar ve önceden yüklenmiş yazılım içerir. Sistem, RT-PCR ve iç içe PCR reaktiflerini barındıran ve RT-PCR ve iç içe PCR süreçlerinin yürütüldüğü, tek kullanımlık, atılabilir GeneXpert kartuşlarının kullanımını gerektirir. Sistemin tam açıklaması için bkz. uygun *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Xpert NPM1 Mutation testi, periferik kan örneklerinde endojen bir kontrol olarak NPM1 mutasyonunu ve ABL1 transkriptini tespit etmeye yönelik reaktifler içerir. NPM1 mutasyon transkripti miktarı, NPM1 Mutasyonu/ABL1'in yüzde oranı olarak ölçülür. Xpert NPM1 Mutation testine dahil edilen iki kontrol vardır: Endojen Kontrol (ABL1) ve bir Prob Denetim Kontrolü (PCC). ABL1 endojen kontrolü, NPM1 mutasyon hedefini normalleştirir ve tahlilde yeterli örneğin kullanılmasını sağlar. PCC, reaktif rehidrasyonunu, PCR tüp dolumunu ve problemler ve boyalar dahil olmak üzere tüm reaksiyon bileşenlerinin kartuşta mevcut ve işlevsel olduğunu doğrular.

6 Reaktifler ve Aletler

6.1 Sağlanan Materyaller

Xpert NPM1 Mutation kiti (GXNPM1-CE-10) 10 tahlil örneği veya kalite kontrol örneğini işlemek için yeterli reaktif içerir. Kit şunları içerir:

Xpert NPM1 Mutation Reaktifler

kit başına her biri 10 adet

Proteinaz K (PK)	Flakon başına 10 x 130 µL
Bileşen	Reaktif Bileşeni
Proteinaz K	<%5

Lizis Reaktifi (LY) (Guanidinyum Klorür)	Flakon başına 10 x 5,3 ml
Bileşen	Reaktif Bileşeni
Guanidinyum klorür	%25 - %50
Üre	%25 - %50
Sodyum dodesil sülfat	<%2

Yıkama Reaktifi	Ampul başına 10 x 2,9 ml
Bileşen	Reaktif Bileşeni
Etanol	<%50
Guanidinyum tiyosiyanat	<%50

Xpert NPM1 Mutation Entegre Reaksiyon Tüplü Kartuşlar		Kit başına 10
Bileşen	Reaktif Bileşeni	Miktar
Küre 1 (dondurularak kurutulmuş)	Enzim: Taq DNA polimeraz <50 U/küre	Kartuş başına 1
	dNTP'ler <%0,05	
Küre 2 (dondurularak kurutulmuş)	Primerler ve probler <%0,005	Kartuş başına 1
Küre 3 (dondurularak kurutulmuş)	Primerler ve probler <%0,005	Kartuş başına 1
Küre 4 (dondurularak kurutulmuş)	Enzim: Taq DNA polimeraz <50 U/küre	Kartuş başına 1
	dNTP'ler <%0,05	
Durulama Reaktifi	Potasyum klorür <%4	Kartuş başına 2 ml
	Sodyum azit <%0,1	
	Polietilen glikol <%40	
	Tween 20 <%0,2	
Elüsyon Reaktifi	Trizma baz <%0,3	Kartuş başına 2,5 ml
	Trizma hidroklorür <%0,1	
	Sodyum azit <%0,05	

CD**Kit başına 1**

- Tahlil Tanım Dosyası (ADF)
- ADF'yi GeneXpert yazılımına aktarma talimatı
- Kullanma Talimatı

Not

Bu ürün içindeki kürelerdeki sığır serum albumini (BSA), Amerika Birleşik Devletleri'nde özel olarak sığır plazmasından üretilip imal edilmiştir. Hayvanlar, geviş getiren hayvan proteini veya başka hayvan proteiniyle beslenmemiştir; hayvanlar antemortem ve postmortem testlerden geçirilmiştir. İşlem sırasında, materyal diğer hayvan materyalleriyle karıştırılmamıştır.

Not

Analiz Sertifikaları ve Lot Spesifikasyonları Veri Sayfalarına Cepheid Teknik Destek aracılığıyla ulaşılabilir.

7 Gerekli Olan Ama Sağlanmayan Materyaller

- GeneXpert Dx System (katalog numarası yapılandırmaya göre değişir): GeneXpert aleti, bilgisayar, barkod tarayıcı ve kullanıcı kılavuzu.
- GeneXpert Dx System için : GeneXpert Dx yazılım sürümü 6.2 veya üzeri.
- Yazıcı: Yazıcı gerektiğinde önerilen yazıcıyı satın almanızı organize etmeleri için Cepheid Teknik Destek birimiyle iletişime geçin.
- Vorteks karıştırıcı
- Mikrosantrifüj (minimum 1000 x g)
- Pipetler ve aerosol filtre pipet uçları
- 50 ml konik tüpler
- Reaktif sınıfı mutlak etanol
- 1X PBS, pH 7,4

8 Saklama ve Muamele

- Xpert NPM1 Mutation kit içeriğini etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar 2 °C ila 8 °C'de saklayın.
- Testi gerçekleştirmeye hazır olana kadar kartuş kapağını açmayın.
- Son kullanma tarihi geçmiş kartuşları kullanmayın.
- Kaçak olan kartuşları kullanmayın.
- Yıkama Reaktifi berrak, renksiz bir sıvıdır. Bulanıklaşan veya rengi bozulan Yıkama Reaktifini kullanmayın.
- Prosedüre başlamadan yirmi (20) dakika önce kan örneğini, kartuşu ve örnek hazırlama reaktiflerini oda sıcaklığına (20 °C ila 30 °C) gelmelerini sağlamak için saklama koşullarından çıkarın.

9 Uyarılar ve Önlemler

9.1 Genel

- *in vitro* tanısal kullanım içindir.
- Kullanılmış kartuşlar ve reaktifler de dahil, tüm biyolojik örnekleri sanki enfeksiyöz ajan bulaştırma potansiyeline sahipmiş gibi muamele edin. Hangisinin enfeksiyöz olabileceğini bilmek genellikle imkansız olduğundan tüm biyolojik örnekler standart önlemler doğrultusunda muamele edilmelidir.
- Örnek işleme kılavuz ilkeleri, ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nden⁶ ve Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nden⁷ edinilebilir.
- Kimyasallarla çalışma ve biyolojik örneklerin muamelesi ile ilgili kurumunuz tarafından belirlenen güvenlik işlemlerine uyun.
- Bu testin performans özellikleri yalnızca EDTA tüplerinde toplanan kanla belirlenmiştir. Tahlil işlevi, diğer örnek türleri ile değerlendirilmemiştir.
- Güvenilir sonuçlar; yeterli örnek toplama, nakletme, saklama ve işleme alma aşamalarına bağlıdır. Doğru olmayan örnek alma, işleme veya saklama, teknik hata, örneğin karıştırılması veya örnekteki hedef transkriptin tahlilin tespit sınırının altında olması nedeniyle yanlış tahlil sonuçları oluşabilir. Hatalı sonuçları önlemek için Kullanım Talimatına ve *GeneXpert Dx System Operator Manual*'na dikkatli bir şekilde uyulması gerekir.
- Xpert NPM1 Mutation testinin önerilen kit veya örnek saklama sıcaklık aralıkları ve süresi dışında yapılması hatalı veya geçersiz sonuçlara neden olabilir.
- Biyolojik örnekler, transfer cihazları ve kullanılmış kartuşlar, standart önlemleri gerektiren enfeksiyöz ajan bulaştırma potansiyeline sahip olarak düşünülmelidir. Kullanılmış kartuşların ve kullanılmamış reaktiflerin uygun şekilde atılması için kurumunuzun çevresel atık prosedürlerine uyun. Bu materyaller, spesifik ulusal veya bölgesel atma prosedürleri gerektiren, kimyasal açıdan tehlikeli atık özellikleri gösterebilir. Uygun şekilde atma ile ilgili ulusal ve bölgesel düzenlemeler açık bir talimat sağlamıyorsa, biyolojik örnekler ve kullanılmış kartuşlar DSÖ [Dünya Sağlık Örgütü, WHO] tıbbi atık muamele ve atma kılavuz ilkeleri uyarınca atılmalıdır.⁸

9.2 Numune

- Numunenin bütünlüğünü sağlamak için uygun saklama koşullarını koruyun (bkz. Bölüm 11, Numunelerin Toplanması ve Saklanması). Önerilenlerin dışındaki sevkiyat koşullarında numune stabilitesi değerlendirilmemiştir.
- EDTA periferik kan numunesini dondurmayın.
- Doğru sonuçlar için doğru numune alma, saklama ve taşıma şarttır.


9.3 Test/Reaktif

- Xpert NPM1 Mutation reaktiflerinin yerine başka reaktifler kullanmayın.
- Örnek ve Yıkama Reaktifi ekleme dışında Xpert NPM1 Mutation kartuşunun kapağını açmayın.
- Ambalajından çıkarıldıktan sonra düşürülmüş olan bir kartuşu kullanmayın.
- Kartuşu sallamayın. Kartuş kapağını açtıktan sonra kartuşu sallamak veya düşürmek geçersiz sonuçlara yol açabilir.
- Örnek ID etiketini kartuş kapağına veya kartuşun barkod etiketi üzerine yerleştirmeyin.
- Hasarlı barkod etiketi olan bir kartuşu kullanmayın.
- Reaksiyon tüpü hasarlı kartuşları kullanmayın.
- Xpert NPM1 Mutation kartuşlarının testler için kullanıldığında oda sıcaklığında (20°C ila 30°C) olması önerilir.

- Her tek kullanımlık Xpert NPM1 Mutation kartuşu bir tahlil işlemek için kullanılır. İşlenmiş kartuşları tekrar kullanmayın.
- Bir (1) Yıkama Reaktifi (1) ampulünün içeriğinin tamamını Yıkama Reaktifi Haznesine aktarın. Yıkama Reaktifinin eksik eklenmesi yanlış bir **TESPİT EDİLMEDİ (NOT DETECTED)** sonucuna neden olabilir.
- Pipet uçlarını tekrar kullanmayın.
- Islak görünüyorsa veya kapak mührü kırılmışsa kartuşu kullanmayın.
- Yanlış açıklığa bir reaktif eklenirse Xpert NPM1 Mutation kartuşunu kullanmayın.
- Tahlil tamamlandıktan sonra Xpert NPM1 Mutation kartuşlarını açmayın.
- Bir dizi pipet ve reaktifi yalnızca örnek hazırlamaya ayırın.
- Temiz laboratuvar önlükleri ve eldivenleri giyin. Her örneğin işlenmesi arasında eldivenleri değiştirin.
- Örnek veya kontrollerin dökülmesi durumunda eldiven takın ve döküntüyü kağıt havluya emdirin. Ardından kontamine alanı 1:10 taze hazırlanmış ev tipi klorlu çamaşır suyuyla iyice temizleyin. Ülkenizdeki ev tipi çamaşır suyu konsantrasyonundan bağımsız olarak nihai etkin klor konsantrasyonu %0,5 olmalıdır. Asgari iki dakika temasa izin verin.
- Rezidüel çamaşır suyunu %70 denatüre etanolle gidermeden önce çalışma alanının kuru olduğundan emin olun. Devam etmeden önce yüzeyin tamamen kurumasını bekleyin. Alternatif olarak kurumunuzun kontaminasyon veya döküntü olaylarına ilişkin standart prosedürlerini izleyin. Ekipman için üreticinin dekontaminasyona ilişkin önerilerine uyun.

10 Kimyasal Tehlikeler

Not Aşağıdaki bilgiler Proteinaz K, Lizis, Yıkama ve Durulama Reaktiflerini içeren tüm ürün için geçerlidir.

- CLP/GHS Tehlike Piktogramı: 
- Uyarı Sözcüğü: TEHLİKE
- **UN GHS Tehlike Beyanları**

- Yüksek düzeyde alevlenebilir sıvı ve buhar H225.
- Cilt tahrişine neden olur H315.
- Ciddi göz tahrişine neden olur H319.
- Uyuşukluk veya baş dönmesine neden olabilir H336.
- Genetik kusurlara neden olduğundan şüphelenilmektedir H341.

- **UN GHS Önleyici Beyanları**

- **Önleme**

- Kullanmadan önce özel talimat için Güvenlik Veri Sayfasına bakın.
- Kullanmadan önce özel talimatı temin edin.
- Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılana kadar kullanmayın.
- Isıdan, kıvılcımlardan, açık alevlerden ve/veya sıcak yüzeylerden uzak tutun. Sigara içilmez.
- Kabı sıkıca kapalı tutun.
- Buğu/buhar/spreyi solumaktan kaçının.
- Kullanım sonrasında iyice yıkayın.
- Sadece açık havada veya iyi havalandırılan bir alanda kullanın.
- Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.
- Kişisel koruyucu ekipmanı gerektiği gibi kullanın.

- **Müdahale**

- YANGIN çıkması durumunda: Söndürme için uygun malzeme kullanın.
- SOLUNMASI HALİNDE: Soluyan kişiyi temiz havaya çıkarın ve nefes alması için rahat bir şekilde dinlenme pozisyonunda tutun.
- İyi hissetmiyorsanız bir ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru/hekimi arayın.
- CİLTTEYSE (veya saçta): Kirlenen tüm giysileri derhal çıkarın. Cildi su/duş ile yıkayın.
- Özel tedavi, bkz. ek ilk yardım bilgileri.
- Kirlenen giysileri çıkarın ve yeniden kullanmadan önce yıkayın.
- Ciltte tahriş görülürse: Tıbbi yardım/destek alın.

- GÖZLERDEYSE: Suyla birkaç dakika dikkatlice durulayın. Varsa ve çıkarması kolaysa kontak lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.
- Göz tahrişi ısrarla devam ediyorsa: Tıbbi yardım/destek alın.
- Maruz kaldıysa veya bundan endişe duyuluyorsa: Tıbbi yardım/destek alın.
- **Saklama/İmha**
 - Soğuk tutun.
 - İyi havalandırılmış bir yerde saklayın.
 - Kabı sıkıca kapalı tutun.
 - Kilitli şekilde saklayın.
 - İçeriği ve/veya kabı yerel, bölgesel, ulusal ve/veya uluslararası düzenlemeler uyarınca bertaraf edin.

11 Numunelerin Toplanması ve Saklanması

- Periferik kan numuneleri, kurumunuzun kuralları izlenerek EDTA tüplerinde alınmalıdır. Plazma, hücrelerden ayrılmamalıdır.
- Numuneler, testten önce en fazla 3 gün (72 saat) boyunca 2 °C ila 8 °C'de saklanmalıdır.
- Uygun numune alma ve saklama, tahlil işlevi için kritik öneme sahiptir. Aşağıda Bölüm 12, Prosedür kapsamında listelenenler dışındaki saklama koşullarında numune stabilitesi Xpert NPM1 Mutation testi ile değerlendirilmemiştir.

12 Prosedür

12.1 Başlamadan Önce

Prosedüre başlamadan yirmi (20) dakika önce kan örneğini, örnek hazırlama reaktiflerini ve kartuşları oda sıcaklığına gelmelerini sağlamak için soğutulmuş saklama koşullarından çıkarın. Proteinaz K'yi (PK) mikrosantrifüjde kısa bir süre için döndürün.

Önemli Örnek Reaktifi ile işlenmiş örneği kartuşa ekledikten sonraki 1 saat içinde tahlili başlatın.

Önemli Örneği hazırlamadan önce kartuşu karton ambalajından çıkarın. (Bkz. Bölüm 12.3, Kartuşu Hazırlama).

12.2 Örneği Hazırlama

12.2.1 Beyaz Kan Hücresi (WBC) Sayısı Bilinmeyen veya 30 milyon WBC/ml'den Az Olan Örnekler Hazırlama

1. 50 ml'lik etiketli yeni bir konik tüpün alt kısmına 100 µl Proteinaz K (PK) ekleyin.
2. Pipetlemeden hemen önce kan alma tüpünü 8 kez ters çevirerek kan örneğinin iyice karıştırıldığından emin olun. EDTA kan alma tüpü için üreticinin talimatına bakın.
3. Halihazırda PK içeren tüpe 4 ml kan örneği ekleyin.
4. Örneği 3 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın.
5. 1 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
6. Aynı tüpe 2,5 ml Lizis Reaktif (LY) ekleyin.

Not Kalan lizis reaktifini Adım 13'te tekrar kullanmak üzere saklayın.

7. Örneği 10 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın.
8. 5 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
9. Örneği 10 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın.
10. 5 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
11. Tüpün dibine 10 kez hafifçe vurarak örneği karıştırın.
12. Hazırlanan lizatın 1 ml'sini 50 ml'lik yeni, etiketli bir konik tüpe aktarın.

Not Kalan lizat 2 °C ila 8 °C'de 48 saate kadar veya -20 °C'de veya daha düşük sıcaklıklarda 1 aya kadar saklanabilir.

13. Lizat içeren yeni konik tüpe Adım 6'dan kalan Lizis Reaktifinden (LY) 1,5 ml ekleyin.
14. Örneği 10 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın.
15. 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
16. Aynı konik tüpe 2 ml reaktif sınıfı mutlak etanol (kullanıcı tarafından sağlanır) ekleyin.
17. Örneği 10 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın. Kenara koyun.
18. Kalan PK veya LY reaktiflerini atın.

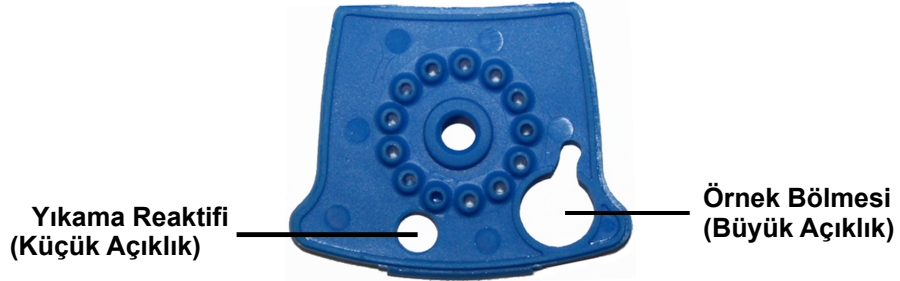
12.2.2 Beyaz Kan Hücresi (WBC) Sayısı 30 milyon WBC/ml'ye Eşit veya Daha Fazla Olan Örnekler Hazırlama

1. 50 ml'lik yeni bir konik tüpün alt kısmına 100 µl PK ekleyin.
2. Pipetlemeden hemen önce kan alma tüpünü 8 kez ters çevirerek kan örneğinin iyice karıştırıldığından emin olun. EDTA kan alma tüpü için üreticinin talimatına bakın.
3. Halihazırda PK içeren tüpe 250 µl kan örneği ve 3,75 ml 1xPBS (pH 7,4, kullanıcı tarafından sağlanır) ekleyin.
4. Örneği 3 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın.
5. 1 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
6. Nihai lizatı yapmak için Bölüm 12.2.1'deki Adım 6-17'yi izleyin.
7. Kalan PK veya LY reaktiflerini atın.

12.3 Kartuşu Hazırlama

Örneği Xpert NPM1 Mutation kartuşuna eklemek için:

1. Kartuşu karton ambalajından çıkarın.
2. Kartuşu hasar açısından inceleyin. Hasarlıysa kullanmayın.
3. Kartuş kapağını kaldırarak kartuşu açın ve bir (1) Yıkama Reaktif ampulünün içeriğinin tamamını Yıkama Reaktifi Haznesine (küçük açıklık) aktarın. Bkz. Şekil 1.
4. Hazırlanan örneğin içeriğinin tamamını (4,5 ml) Örnek Haznesine (büyük açıklık) pipetleyin. Bkz. Şekil 1.



Şekil 1. Xpert NPM1 Mutation Kartuş (Üstten Görünüm)

5. Kartuşun kapağını kapatın. Kapağın tıklayarak yerine oturduğundan emin olun. Tahlili başlatın (bkz. Bölüm 12.4, Tahlili Başlatma).

12.4 Tahlili Başlatma

Önemli Tahlili başlatmadan önce, sistemde GeneXpert Dx yazılımı sürüm 6.2 veya üst sürümünün çalıştığından ve doğru Tahlil Tanım Dosyasının yazılıma aktarılmış olduğundan emin olun. Bu bölümde, GeneXpert Dx System'ni çalıştırmak için varsayılan adımlar listelenmiştir.

Not Sistemin varsayılan iş akışı sistem yöneticisi tarafından değiştirilmişse, izleyeceğimiz adımlar farklı olabilir.

1. GeneXpert sistemini ilk olarak GeneXpert Dx aletini ve ardından bilgisayarı açarak açın. GeneXpert Dx yazılımı otomatik olarak başlatılır veya Windows® masaüstündeki GeneXpert Dx yazılımı kısayol simgesine çift tıklanması gerekebilir.
2. Kullanıcı adınızı ve parolanızı kullanarak GeneXpert yazılımına giriş yapın.

3. **GeneXpert Sistemi** penceresinde, **Test Oluştur** (Create Test) ögesine tıklayın (GeneXpert Dx). **Test Oluştur (Create Test)** penceresi açılır.
4. Hasta Kimliğini tarayın veya yazın. Hasta Kimliğini (Patient ID) yazıyorsanız, Hasta Kimliğinin (Patient ID) hatasız yazıldığından emin olun. Hasta Kimliği, test sonuçlarıyla ilişkilendirilir ve **Sonuçları Göster (View Results)** penceresinde ve tüm raporlarda gösterilir. **Örnek Kimlik Barkodunu Tara (Scan Sample ID Barcode)** iletişim kutusu görüntülenir.
5. Örnek Kimliğini (Sample ID) tarayın veya yazın. Örnek Kimliğini (Sample ID) yazıyorsanız Örnek Kimliğinin (Sample ID) hatasız yazıldığından emin olun. Örnek Kimliği, **Sonuçları Göster (View Results)** penceresinin ve tüm raporların sol tarafında gösterilir. **Kartuş Barkodunu Tara (Scan Cartridge Barcode)** iletişim kutusu görüntülenir.
6. Xpert NPM1 Mutation kartuşundaki barkodu tarayın. Yazılım, barkod bilgisini kullanarak otomatik olarak aşağıdaki alanlarla ilgili kutuları doldurur: Reaktif Lot Kimliği (Reagent Lot ID), Kartuş Seri No (Cartridge SN) ve Son Kullanma Tarihi (Expiration Date).

Not Xpert NPM1 Mutation kartuşu üzerindeki barkod taranmıyorsa, tahlili yeni bir kartuşla tekrarlayın. Yazılımda kartuş barkodunu taradıysanız ve Tahlil Tanım Dosyası kullanılmıyorsa, Tahlil Tanım Dosyasının sisteme yüklenmediğini belirten bir ekran görünecektir. Bu ekran görünürse Cepheid Teknik Destek ile iletişime geçin.

7. **Testi Başlat (Start Test)** penceresine tıklayın. Ekranda görüntülenen iletişim kutusuna parolanızı yazmanız gerekebilir.
8. Aletin yanıp sönen yeşil ışıklı modül kapağını açın ve kartuşu yükleyin.
9. Kapağı kapatın. Test başlar ve yeşil ışık yanıp sönmeyi keser. Tahlil bittiğinde ışık kapanır.
10. Modül kapağını açıp kartuşu çıkarmadan önce sistemin kapak kilidini serbest bırakmasını bekleyin.
11. Kullanılmış kartuşları, kurumunuzun standart uygulamaları doğrultusunda uygun örnek atık kabına atın.

Not Sonuç alma süresi 3 saatten azdır (yaklaşık 30 dakika cihaz dışı örnek hazırlama ve 2,5 saatten az tahlil çalışma süresi).

13 Sonuçları Görüntüleme ve Yazdırma

Bu bölümde, sonuçları görüntüleme ve yazdırma için temel adımlar listelenmiştir. Sonuçların nasıl görüntüleneceği ve yazdırılacağı hakkında daha ayrıntılı talimat için bkz. *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Sonuçları görüntülemek için **Sonuçları Göster (View Results)** simgesine tıklayın.
- Tahlili tamamladıktan sonra sonuçları görüntülemek ve/veya bir PDF rapor dosyası oluşturmak için **Sonuçları Görüntüle (View Results)** ekranında **Report (Rapor)** düğmesine tıklayın.

14 Kalite Kontrol

Her kartuşta bir ABL1 Endojen Kontrol ve Prob Denetim Kontrolü (PCC) bulunur.

ABL1 Endojen Kontrol — ABL1 Endojen Kontrol, tahlil ile yeterli örneğin kullanıldığını doğrular. Ayrıca bu kontrol, gerçek zamanlı PCR tahlilinin örnekle ilişkili inhibisyonunu tespit eder. ABL1, atanmış kabul kriterlerini karşıladığında geçer niteliktedir.

Prob Denetim Kontrolü (PCC) — PCR reaksiyonu başlamadan önce, GeneXpert sistemi, küre rehidrasyonunu, reaksiyon tüpü dolumunu ve kartuştaki tüm reaksiyon bileşenlerinin işlevsel olup olmadığını izlemek için problemlardan alınan flüoresans sinyali ölçer. PCC, atanmış kabul kriterlerini karşıladığında geçer niteliktedir.

15 Sonuçları Yorumlama

Sonuçlar, GeneXpert sistemi tarafından, ölçülen floresan sinyaller ve entegre hesaplama algoritmaları kullanılarak otomatik olarak yorumlanır ve Sonuçları Görüntüle (View Results) penceresinde gösterilir. Olası sonuçlar ve yorumlamalar Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Xpert NPM1 Mutation Test Sonuçları ve Yorumlama

Sonuç	Yorumlama
<p>NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ (NPM1 Mutation DETECTED)</p> <p>Bkz Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4</p>	<p>NPM1 mutasyon transkripti tespit edilmiştir.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ (NPM1 Mutation DETECTED) – NPM1 mutasyon transkripti tespit edilmiştir ve geçerli aralık dahilinde bir döngü eşiğine (Ct) ve eşik ayarının üzerinde sonlanım noktasına sahiptir. Tespit edilen olası sonuçlar: <ul style="list-style-type: none"> NPM1 MUTASYONU TESPİT EDİLDİ [%#,###] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.##%]); Şekil 2. NPM1 MUTASYONU TESPİT EDİLDİ [Üst LoQ'nun üzerinde] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]); Şekil 3. NPM1 MUTASYONU TESPİT EDİLDİ [LoD altında; <%#,###] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; #.###%]); Şekil 4. ABL – BAŞARILI (PASS); ABL transkripti tespit edilmiştir ve geçerli aralık dahilinde bir döngü eşiğine (Ct) ve eşik ayarının üzerinde sonlanım noktasına sahiptir. Prob Kontrolü BAŞARILI (PASS) – tüm prob kontrol sonuçları başarılıdır.
<p>NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLMEDİ (NPM1 Mutation NOT DETECTED)</p> <p>Bkz. Şekil 5</p>	<p>NPM1 mutasyon transkripti tespit edilmemiştir.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLMEDİ [Yeterli ABL transkripti] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) – NPM1 mutasyon transkripti tespit edilmemiştir ve sıfır veya geçerli aralığın üst sınırının üzerinde bir döngü eşiğine (Ct) ve/veya eşik ayarının altında sonlanım noktasına sahiptir. ABL – BAŞARILI (PASS); ABL transkripti tespit edilmiştir ve geçerli aralık dahilinde bir döngü eşiğine (Ct) ve eşik ayarının üzerinde sonlanım noktasına sahiptir. Prob Kontrolü BAŞARILI (PASS) – tüm prob kontrol sonuçları başarılıdır.
<p>GEÇERSİZ (INVALID)</p> <p>Bkz Şekil 6, Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9, Şekil 10</p>	<p>NPM1 Mutasyon transkripti seviyesi, örneğin fazla NPM1 mutasyon transkripti ve/veya fazla veya yetersiz ABL transkripti içermesi nedeniyle belirlenememektedir. Örneği tekrar test etmeye ilişkin ek talimat için bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutasyonu GEÇERSİZ (NPM1 Mutation INVALID) – NPM1 döngü eşiği (Ct) sıfırın üzerindedir ve geçerli aralığın alt ucunun altındadır (Şekil 8, Şekil 9) ABL BAŞARISIZ (FAIL) – ABL döngü eşiği (Ct) geçerli aralık dahilinde değildir veya sonlanım noktası eşik ayarının altındadır (Şekil 6, Şekil 7, Şekil 8, Şekil 10) Prob Kontrolü – BAŞARILI (PASS); tüm prob kontrol sonuçları başarılıdır.
<p>HATA (ERROR)</p> <p>Bkz. Şekil 11</p>	<p>NPM1 Mutasyon transkript seviyesi belirlenememektedir. Örneği tekrar test etmeye ilişkin ek talimat için bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutasyonu SONUÇ YOK (NO RESULT) ABL SONUÇ YOK (NO RESULT) Prob Kontrolü – BAŞARISIZ (FAIL) – prob kontrol sonuçlarının tümü veya biri başarısızdır. Prob Kontrolü – BAŞARILI (PASS) veya NA (geçerli değil) ve Basınç İptali*. <p>*Prob kontrolü başarılı olursa, kabul edilebilir aralığı aşan maksimum basınç limiti veya bir sistem bileşeni arızası hataya neden olmuştur.</p>
<p>SONUÇ YOK (NO RESULT)</p>	<p>NPM1 Mutasyon transkript seviyesi belirlenememektedir. Toplanan veriler tahlil sonucu oluşturmak için yeterli değildir. Örneğin kullanıcı, ilerlemekte olan bir tahlili durdurduysa bu meydana gelebilir. Örnekleri tekrar test etmeye ilişkin ek talimat için bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.</p> <ul style="list-style-type: none"> NPM1 Mutasyonu SONUÇ YOK (NO RESULT) ABL SONUÇ YOK (NO RESULT) Prob Kontrolü NA (geçerli değil)

16 Kantitatif Sonuçlar

Xpert NPM1 Mutation kantitatif çıktılar, NPM1 Mutasyonu/ABL1'in yüzde oranı olarak sağlanır. Kitlere, sentetik NPM1 mutasyonu ve ABL1 *in vitro* transkripsiyonlu RNA (IVT-RNA) birincil standartlarının sayılarını kopyalamak için NPM1 Mutasyonu (A, B ve D) ve ABL1 transkriptlerinin miktar tayinini bağlayan lota özgü Etkililik ($E_{\Delta Ct}$) ve Ölçeklendirme Faktörü (SF) değerleri atanır.

Tablo 2. Xpert NPM1 Mutation Testi Sonuçlarının Örnekleri

Tahlil	NPM1 Mutantı		ABL		Xpert NPM1 Mutation Test Sonuçları	Notlar
	Ct	Sonuç ^a	Ct	Sonuç ^a		
1	5,2	GEÇERSİZ (INVALID)	5,8	BAŞARISIZ (FAIL)	GEÇERSİZ [Çok yüksek NPM1 Mutasyonu ve ABL transkriptleri] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])	Geçerli Değil
2	9	GEÇERSİZ (INVALID)	5,5	BAŞARISIZ (FAIL)	GEÇERSİZ [Çok yüksek ABL transkriptleri] (INVALID [Too high ABL transcripts])	Geçerli Değil
3	5,5	GEÇERSİZ (INVALID)	8,5	BAŞARILI (PASS)	GEÇERSİZ [Çok yüksek NPM1 Mutasyonu transkriptleri] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])	Geçerli Değil
4	25,0	GEÇERSİZ (INVALID)	21,8	BAŞARISIZ (FAIL)	GEÇERSİZ [Yetersiz ABL transkripti] (INVALID [Insufficient ABL transcript])	Geçerli Değil
5	0	GEÇERSİZ (INVALID)	0	BAŞARISIZ (FAIL)	GEÇERSİZ [ABL transkripti yok] (INVALID [No ABL transcript])	Geçerli Değil
6	8,5	POZ	13,6	BAŞARILI (PASS)	NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [Üst LoQ'nun üzerinde] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])	Geçerli Değil
7	22,5	POZ	14,8	BAŞARILI (PASS)	NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [%1,05] (NPM1 Mutation DETECTED [1.05%])	Raporlanan değer: %1,05
8	27,9	POZ	14,0	BAŞARILI (PASS)	NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [LoD altında; <%0,030] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])	Geçerli Değil
9	0	NEG	14,6	BAŞARILI (PASS)	NEGATİF [Yeterli ABL transkripti] (NEGATIVE [Sufficient ABL transcript])	Geçerli Değil
10	0	SONUÇ YOK (NO RESULT)	0	SONUÇ YOK (NO RESULT)	HATA (ERROR)	Örneğin, Hata 5017 [ABL] prob kontrolü başarısız oldu (Error 5017 [ABL] probe check failed)

^a Ayrıntılar için GeneXpert Dx Sistem Yazılımındaki Analit Sonuçları (Analyte Results) sekmesine bakın

16.1 NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [%#,##] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])

NPM1 mutasyonu %#,## seviyesinde tespit edilmiştir.

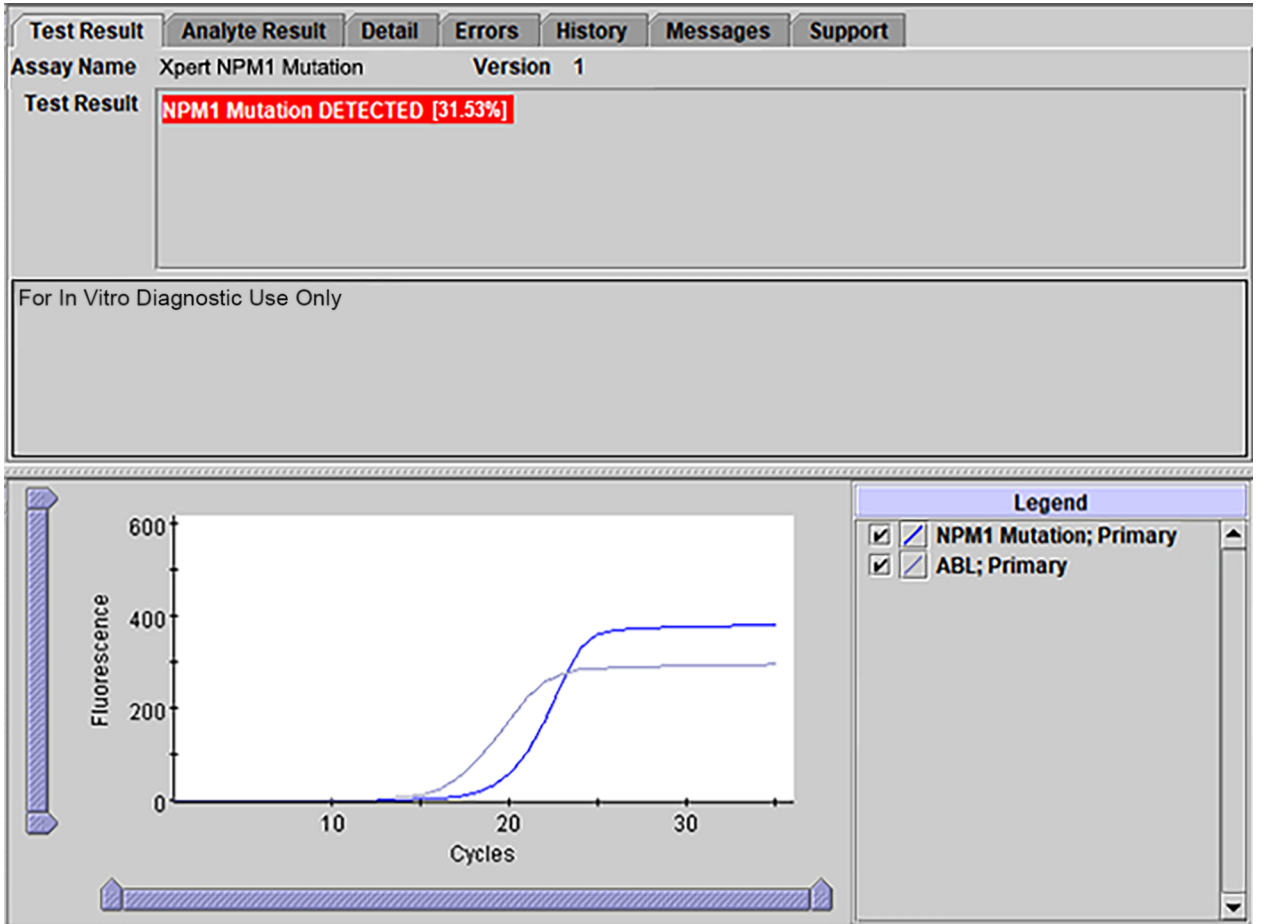
Bir "NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [%#,##] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])" sonucu için NPM1 mutasyonu, "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "32"ye eşit veya bundan daha küçük NPM1 Mutasyon Ct değeri ve "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük ABL Ct değeri ile tespit edilebilir. GeneXpert yazılımı, Delta Ct (ΔCt) değerinin ABL Ct eksi NPM1 Mutasyon Ct'den elde edildiği aşağıdaki denklemi kullanarak %'yi hesaplar:

$$\% = E_{\Delta Ct}(\Delta Ct) \times 100 \times \text{Ölçeklendirme Faktörü}$$

Not Ölçeklendirme Faktörü (*SF*), tahlil kartuşu barkodunun içine yerleştirilmiş, lota özgü bir parametredir. Bu faktörün değeri ve lota özgü tahlil Etkililiği ($E_{\Delta Ct}$), NPM1 mutasyon transkriptinin miktar tayini için sentetik NPM1 mutasyonu ve ABL1 *in vitro* transkripsiyonlu RNA (IVT-RNA) kalibratörlerinin kopya numaralarına kalibre edilmiş birincil standartlar kullanılarak her bir tahlil lotunun kalite kontrol testinde belirlenir. Burada gösterilen örnekte kullanım için $E_{\Delta Ct}$ 1,95'e ve *SF* değeri 1,79'a ayarlanmıştır.

Örnek: Lota özgü $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
Tahlil ABL Ct = 14,5; NPM1 Mutasyonu Ct = 17,1; $\Delta Ct = -2,6$
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = \%31,53$

Sonuç: NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [%31,53] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]) Bkz. Şekil 2.



Şekil 2. GeneXpert Dx Sonuçları Görüntüle (View Results) Penceresi: NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [%31,53] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%])

16.2 NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [Üst LoQ'nun üzerinde] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

NPM1 mutasyonu >%500 seviyesinde tespit edilmiştir.

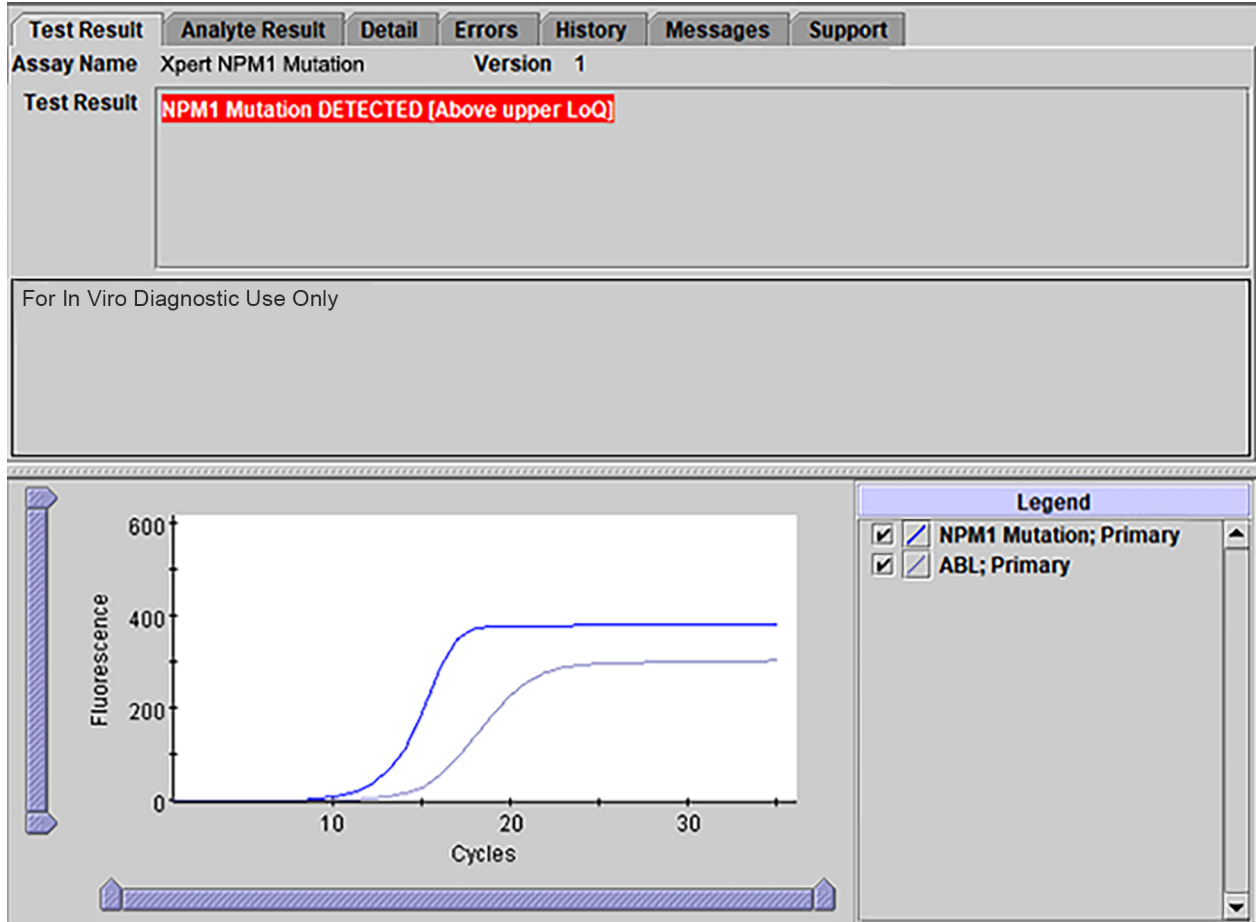
Bir "NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [Üst LoQ'nun üzerinde] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])" sonucu için NPM1 mutasyonu, "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "32"ye eşit veya bundan daha küçük NPM1 Mutasyon Ct değeri ve "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük ABL Ct değeri ile tespit edilebilir. GeneXpert yazılımı, Delta Ct (ΔCt) değerinin ABL Ct eksi NPM1 Mutasyon Ct'den elde edildiği aşağıdaki denklemi kullanarak %'yi hesaplar:

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

Not Ölçeklendirme Faktörü (SF), tahlil kartuşu barkodunun içine yerleştirilmiş, lota özgü bir parametredir. Bu faktörün değeri ve lota özgü tahlil Etkinliği ($E_{\Delta Ct}$), NPM1 mutasyon transkriptinin miktar tayini için sentetik NPM1 mutasyonu ve ABL1 *in vitro* transkripsiyonlu RNA (IVT-RNA) kalibratörlerinin kopya numaralarına kalibre edilmiş birincil standartlar kullanılarak her bir tahlil lotunun kalite kontrol testinde belirlenir. Burada gösterilen örnekte kullanım için $E_{\Delta Ct}$ 1,95'e ve SF değeri 1,79'a ayarlanmıştır.

Örnek: Lota özgü $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
Tahlil ABL Ct = 13,4; NPM1 Mutasyonu Ct = 10,2; $\Delta Ct = 3,2$
 $\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = \%1516,92$, %500'de tanımlanan tahlilin üst LoQ değerinden daha büyük

Sonuç: NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [Üst LoQ'nun üzerinde] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]). Bkz. Şekil 3.



Şekil 3. GeneXpert Dx Sonuçları Görüntüle (View Results) Penceresi: NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [Üst LoQ'nun üzerinde] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

16.3 NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [LoD altında; <0,030] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])

NPM1 mutasyonu <0,030 seviyesinde tespit edilmiştir.

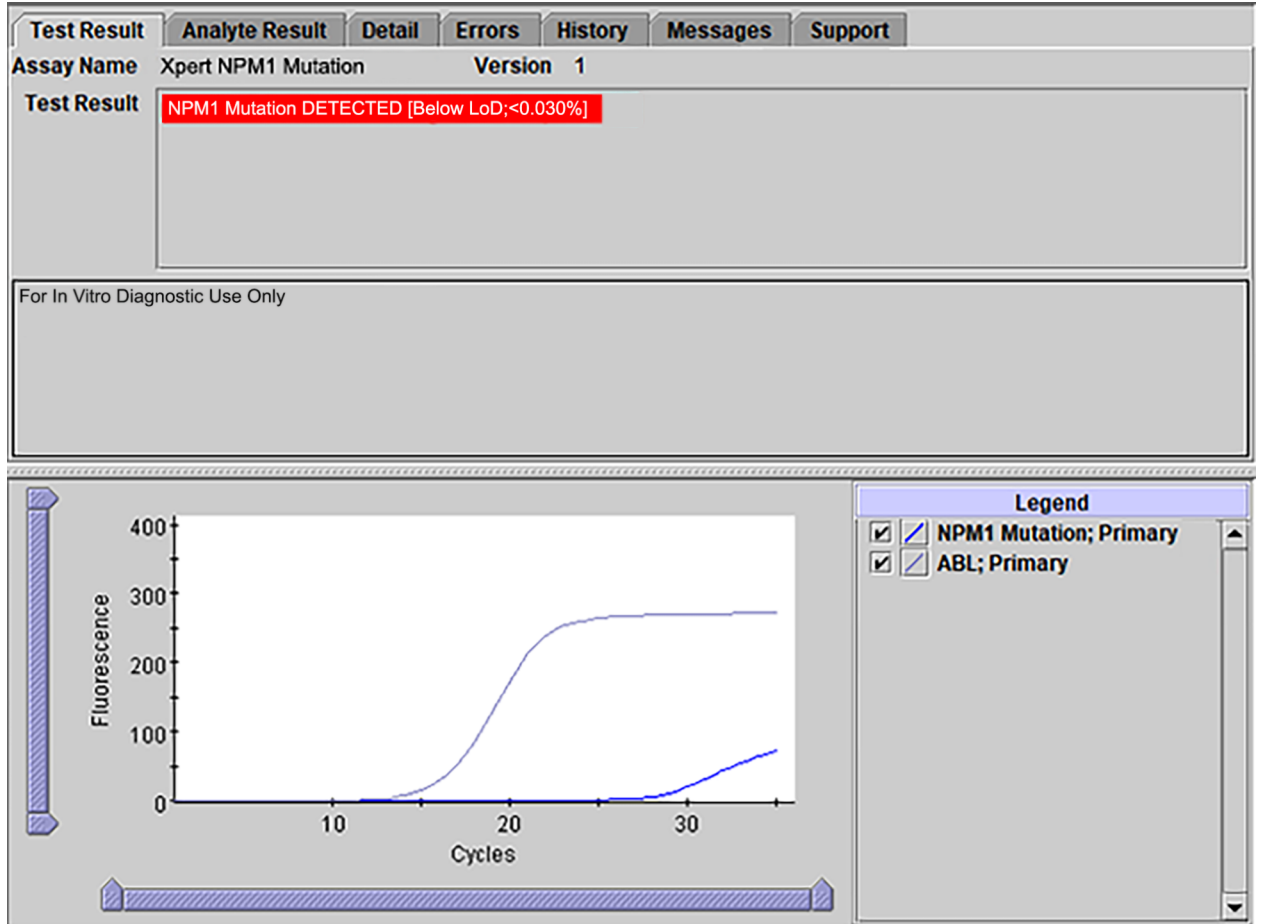
Bir "NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [LoD'nin altında; <0,030] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])" sonucu için NPM1 mutasyonu, "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "32"ye eşit veya bundan daha küçük NPM1 Mutasyon Ct değeri ve "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük ABL Ct değeri ile tespit edilebilir. GeneXpert yazılımı, Delta Ct (ΔCt) değerinin ABL Ct eksi NPM1 Mutasyon Ct'den elde edildiği aşağıdaki denklemi kullanarak %'yi hesaplar:

$$\% = E_{\Delta Ct}(\Delta Ct) \times 100 \times \text{Ölçeklendirme Faktörü (SF)}$$

Not Ölçeklendirme Faktörü (SF), tahlil kartuşu barkodunun içine yerleştirilmiş, lota özgü bir parametredir. Bu faktörün değeri ve lota özgü tahlil Etkinliği ($E_{\Delta Ct}$), NPM1 mutasyon transkriptinin miktar tayini için sentetik NPM1 mutasyonu ve ABL1 *in vitro* transkripsiyonlu RNA (IVT-RNA) kalibratörlerinin kopya numaralarına kalibre edilmiş birincil standartlar kullanılarak her bir tahlil lotunun kalite kontrol testinde belirlenir. Burada gösterilen örnekte kullanım için $E_{\Delta Ct}$ 1,95'e ve SF değeri 1,79'a ayarlanmıştır.

Örnek: Lota özgü $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
Tahlil ABL Ct = 14,3; NPM1 Mutasyonu Ct = 28,8; $\Delta Ct = -14,5$
 $\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = \%0,011$, %0,030'da tanımlanan tahlilin LoD değerinden daha küçük

Sonuç: NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [LoD altında; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%]). Bkz. Şekil 4.



Şekil 4. GeneXpert Sonuçları Görüntüleme Penceresi: NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [LoD altında; <0,030] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; 0.030%])

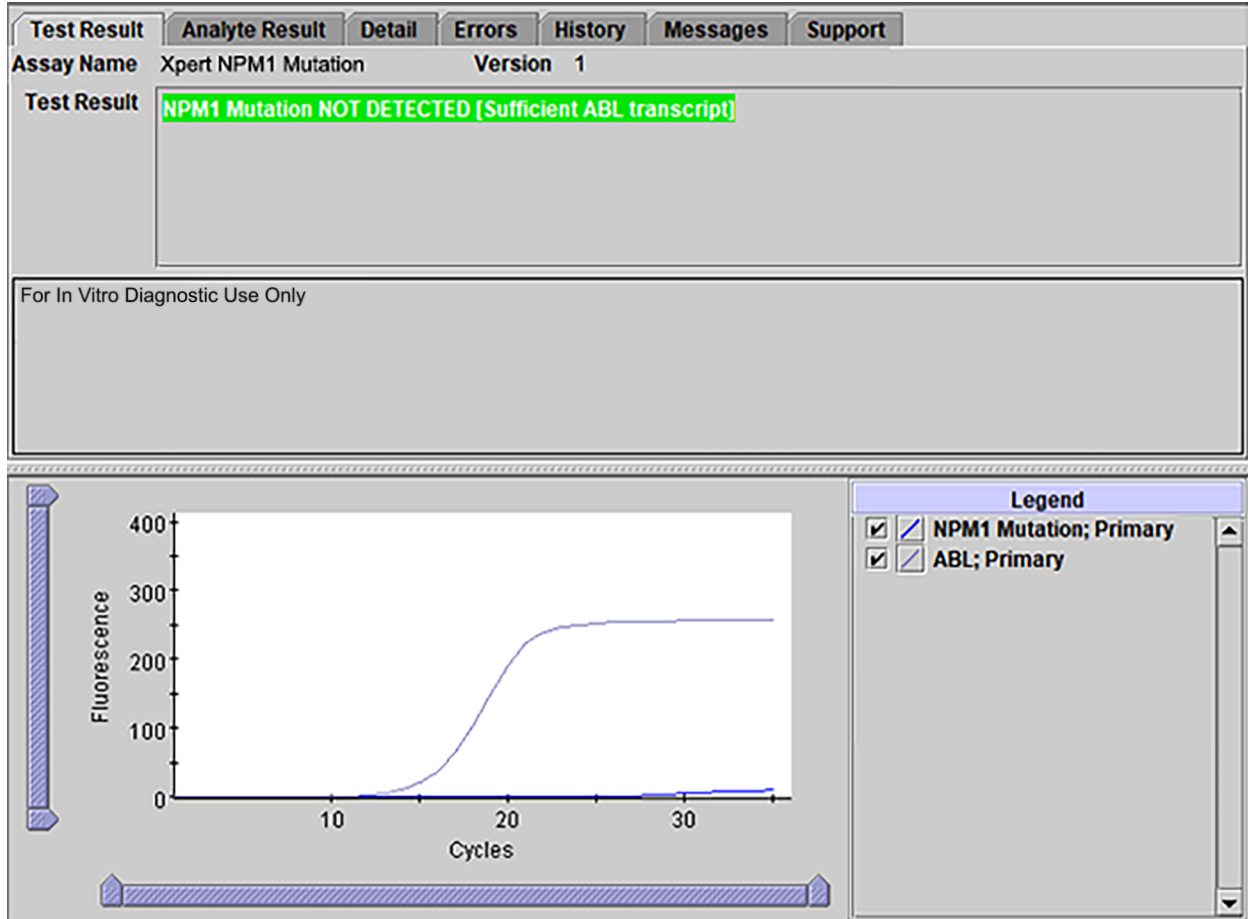
16.4 NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLMEDİ [Yeterli ABL transkripti] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

NPM1 Ct "0"a eşit veya "32"den büyük ve ABL Ct "6"dan büyük ve "20"den küçük veya buna eşit olduğunda NPM1 mutasyonu tespit edilmemiştir.

GeneXpert yazılımı, "Yeterli ABL transkripti (Sufficient ABL transcript)" olmasını sağlamak için Xpert NPM1 Mutation testi için ABL Ct'nin "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük olmasını gerektirir. Bkz. Bölüm 15, Sonuçları Yorumlama, Tablo 1.

Örnek: Tahliilin NPM1 Mutasyonu Ct = 0; ABL Ct = 14,0, "6" ile "20" arasında.

Sonuç: **NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLMEDİ [Yeterli ABL transkripti] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).** Bkz. Şekil 5.



Şekil 5. GeneXpert Sonuçları Görüntüleme Penceresi: NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLMEDİ [Yeterli ABL transkripti] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

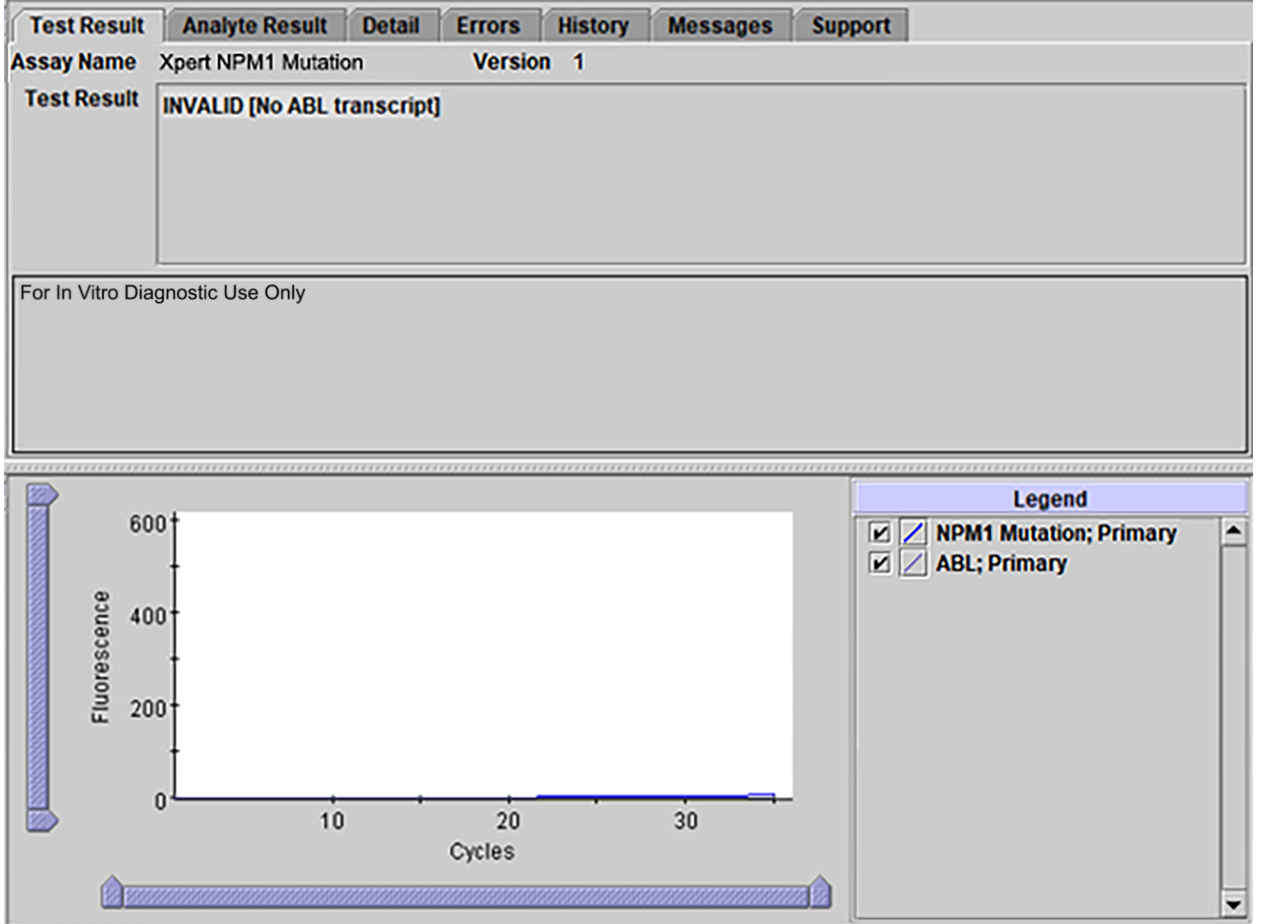
16.5 GEÇERSİZ [ABL transkripti yok] (INVALID [No ABL transcript])

ABL Ct "0" a eşit olduğunda NPM1 mutasyonu tespit edilmiş veya tespit edilmemiştir.

GeneXpert yazılımı, "Yeterli ABL transkripti (Sufficient ABL transcript)" olmasını sağlamak için Xpert NPM1 Mutation testi için ABL Ct'nin "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük olmasını gerektirir. Bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.

Örnek: Tahliin NPM1 Mutasyonu Ct = 0; ABL Ct = 0.

Sonuç: **GEÇERSİZ [ABL transkripti yok] (INVALID [No ABL transcript])**. Bkz. Şekil 6.



Şekil 6. GeneXpert Sonuçları Görüntüleme Penceresi:
GEÇERSİZ [ABL transkripti yok] (INVALID [No ABL transcript])

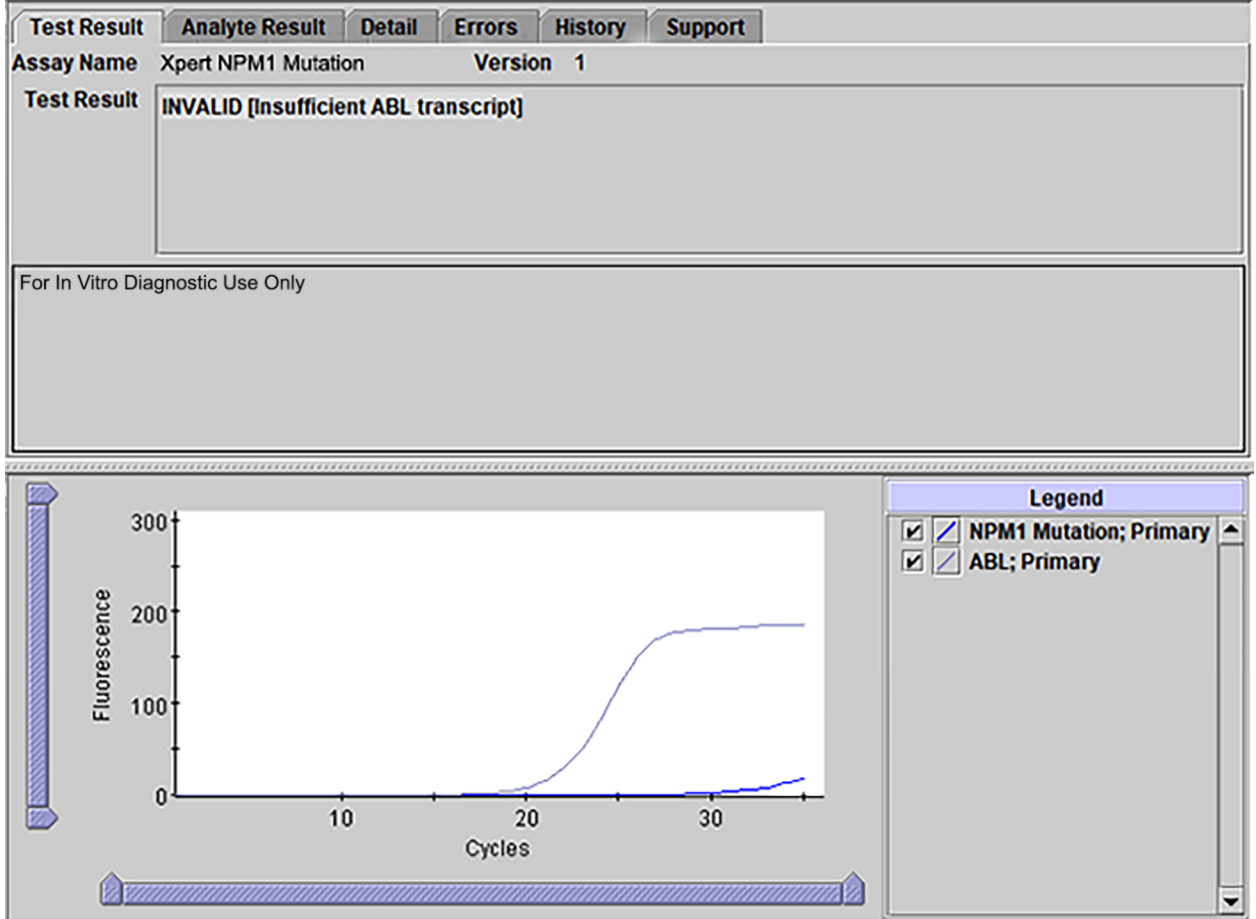
16.6 GEÇERSİZ [Yetersiz ABL transkripti] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

ABL Ct "20"den büyük olduğunda NPM1 mutasyonu tespit edilmiş veya tespit edilmemiştir.

GeneXpert yazılımı, "Yeterli ABL transkripti (Sufficient ABL transcript)" olmasını sağlamak için Xpert NPM1 Mutation testi için ABL Ct'nin "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük olmasını gerektirir. Bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.

Örnek: Tahlilin NPM1 Mutasyonu Ct = 33,3; ABL Ct = 20,2, "20"den büyüktür.

Sonuç: **GEÇERSİZ [Yetersiz ABL transkripti] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**. Bkz. Şekil 7.



Şekil 7. GeneXpert Sonuçları Görüntüleme Penceresi: GEÇERSİZ [Yetersiz ABL transkripti] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

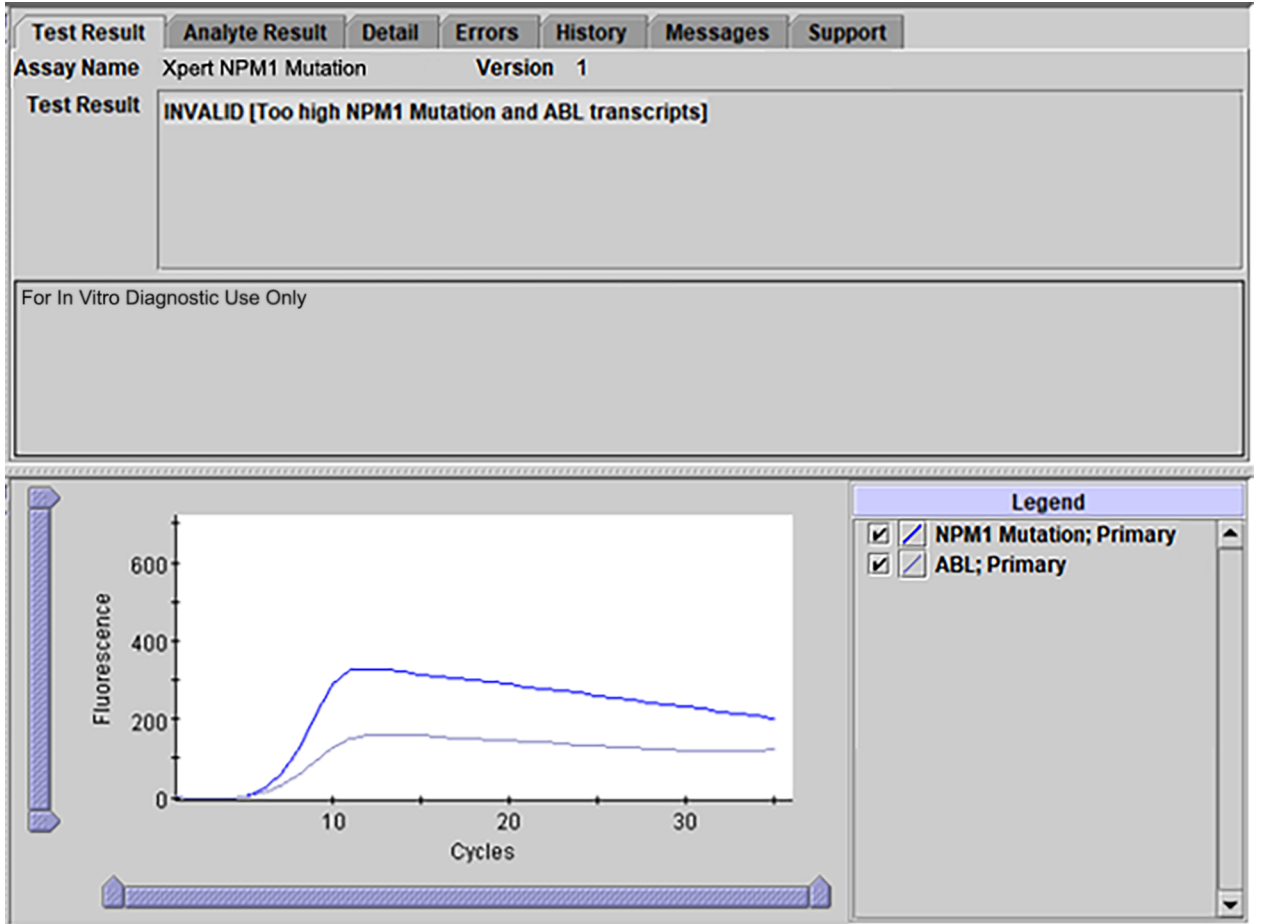
16.7 GEÇERSİZ [Çok yüksek NPM1 Mutasyonu ve ABL transkripti] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

Hem NPM1 Mutasyonu hem de ABL Ct'leri "0"dan büyük ve "6"dan küçük olduğunda NPM1 mutasyonu tespit edilmiştir.

GeneXpert yazılımı, "Yeterli ABL transkripti (Sufficient ABL transcript)" olmasını sağlamak için Xpert NPM1 Mutation testi için ABL Ct'nin "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük olmasını gerektirir. Bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.

Örnek: Tahlilin NPM1 Mutasyonu Ct = 5,4, "0"dan büyük ve "6"dan küçük; ABL Ct = 5,9 olarak "6"dan küçük.

Sonuç: **GEÇERSİZ [Çok yüksek NPM1 Mutasyonu ve ABL transkripti] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript]).** Bkz. Şekil 8.



Şekil 8. GeneXpert Dx Sonuçları Görüntüle (View Results) Penceresi: GEÇERSİZ [Çok yüksek NPM1 Mutasyonu ve ABL transkripti] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcript])

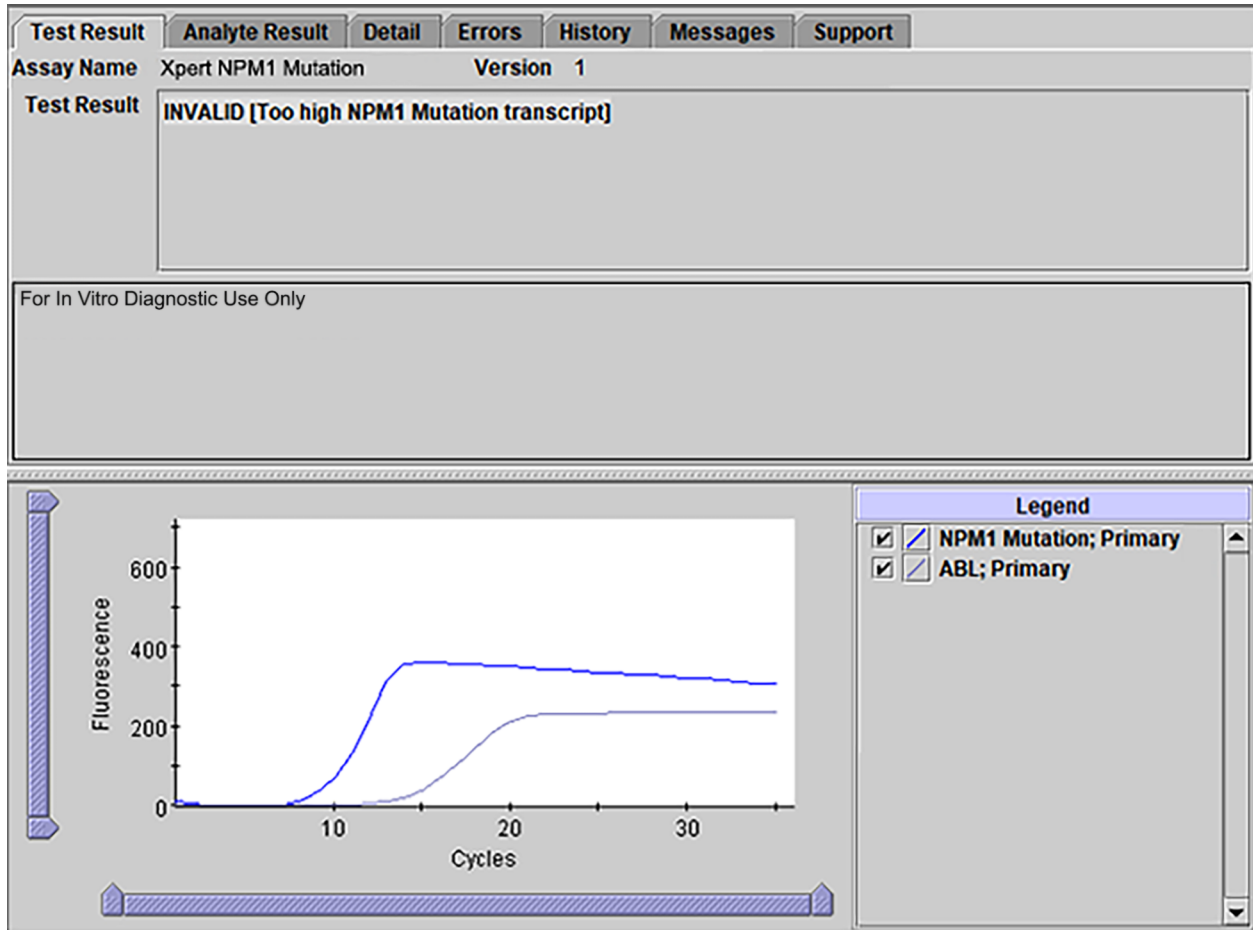
16.8 GEÇERSİZ [Çok yüksek NPM1 Mutasyonu transkripti] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

NPM1 Mutasyonu Ct "0"dan büyük ve "6"dan küçük ve ABL Ct "6"dan büyük ve "20"den küçük veya buna eşit olduğunda NPM1 mutasyonu tespit edilmiştir.

GeneXpert yazılımı, "Yeterli ABL transkripti (Sufficient ABL transcript)" olmasını sağlamak için Xpert NPM1 Mutation testi için ABL Ct'nin "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük olmasını gerektirir. Bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.

Örnek: Tahliin NPM1 Mutasyonu Ct = 5,8, "0"dan büyük ve "6"dan küçük; ABL Ct = 13, "6" ile "20" arasında.

Sonuç: **GEÇERSİZ [Çok yüksek NPM1 Mutasyonu transkripti] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]).** Bkz. Şekil 9.



Şekil 9. GeneXpert Sonuçları Görüntüleme Penceresi: GEÇERSİZ [Çok yüksek NPM1 Mutasyonu transkripti] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript])

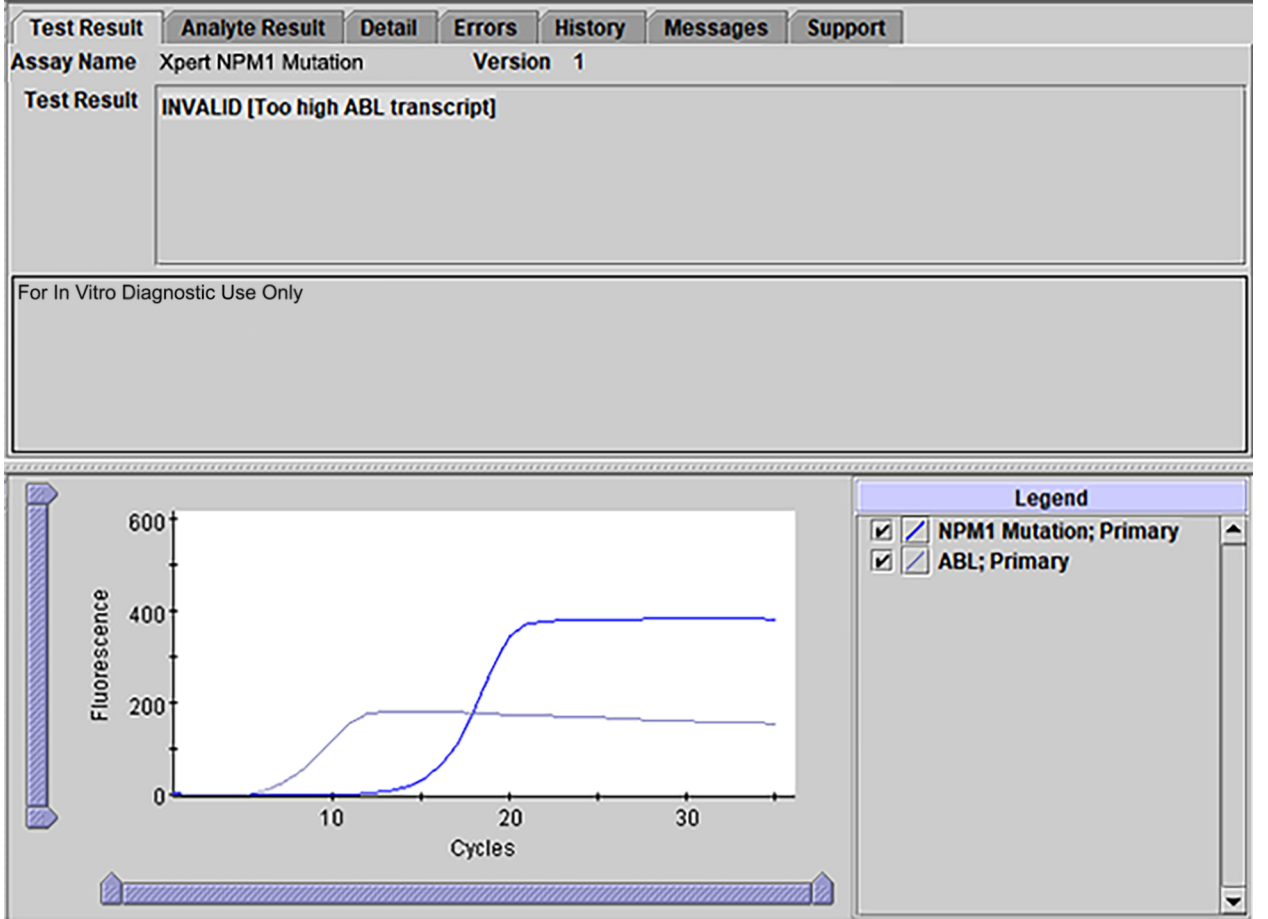
16.9 GEÇERSİZ [Çok yüksek ABL Mutasyonu transkripti] (INVALID [Too high ABL Mutation transcript])

NPM1 Mutasyonu Ct "6"dan büyük ve "32"ye eşit veya bundan daha küçük ve ABL Ct "0"a eşit değil ve "6"dan küçük olduğunda NPM1 mutasyonu tespit edilmiştir.

GeneXpert yazılımı, "Yeterli ABL transkripti (Sufficient ABL transcript)" olmasını sağlamak için Xpert NPM1 Mutation testi için ABL Ct'nin "6"ya eşit veya bundan daha büyük ve "20"ye eşit veya bundan daha küçük olmasını gerektirir. Bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.

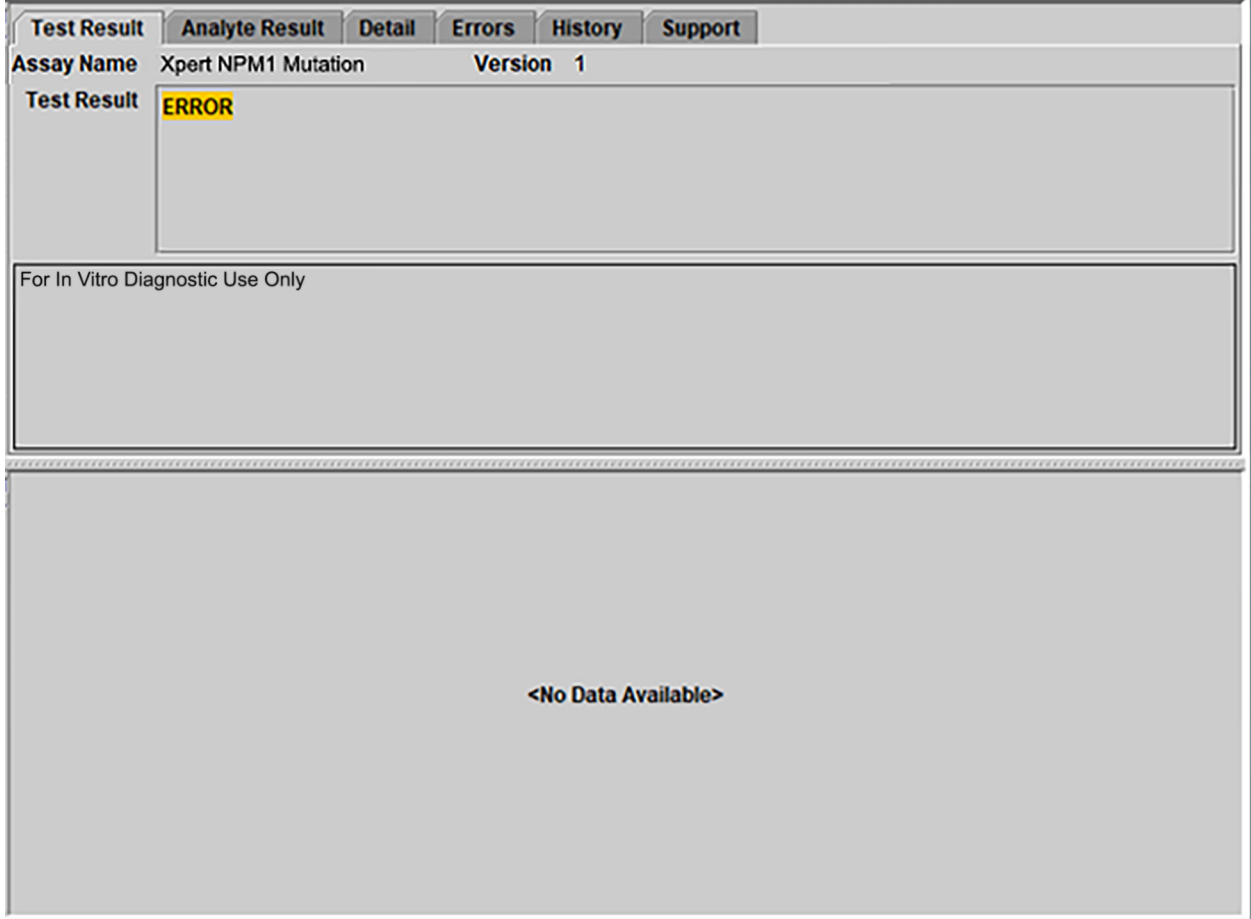
Örnek: Tahlilin NPM1 Mutasyonu Ct = 13,2; ABL Ct = 5,8, "6"dan küçük.

Sonuç: **GEÇERSİZ [Çok yüksek ABL transkripti] (INVALID [Too high ABL transcript]).** Bkz. Şekil 10.



Şekil 10. GeneXpert Sonuçları Görüntüleme Penceresi: GEÇERSİZ [Çok yüksek ABL transkripti] (INVALID [Too high ABL transcript])

16.10 HATA (ERROR)



Şekil 11. GeneXpert Sonuçları Görüntüleme Penceresi: HATA (ERROR)

17 Tahlilin Sınırlamaları

- Tahlilin harici kalibratörlerle kullanılması amaçlanmamıştır.
- Bu prosedürlerde yapılacak değişiklikler tahlilin işlevini değiştirebilir.
- Bu ürün yalnızca EDTA tüplerinde toplanan kanla kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- PCR reaksiyonunu inhibe edebileceğinden antikoagülan olarak heparin kullanmayın.
- Sodyum sitrat, buffy coat ve kemik iliği örnek türleri doğrulanmamıştır.
- Örneklerin uygunsuz alınması, işlenmesi veya saklanması veya örneklerin karıştırılması, hatalı tahlil sonuçlarına neden olabilir. Hatalı sonuçları önlemek için kullanma talimatına dikkatli bir şekilde uyulması gerekir.
- Primer veya prob bağlanma bölgelerindeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen değişkenlerin saptanmasını etkileyebilir ve yanlış negatif sonuçlara neden olabilir.
- Aşırı yüksek beyaz kan hücresi sayısı, kartuşta basınç birikmesine ve çalışmaların iptal edilmesine veya hatalı sonuçlara neden olabilir.
- ABL transkript seviyesi çok düşük olan veya beyaz kan hücresi sayısı 150.000 hücre/ml'den düşük olan bazı örnekler **GEÇERSİZ (INVALID)** (Tip 1) olarak raporlanabilir. Belirlenmeyen bir sonuç, örnekte çok düşük seviyelerde lösemik hücrelerin var olmadığı anlamına gelmez.

18 Sorun Giderme Kılavuzu

Tablo 3. Sorun Giderme Kılavuzu

Tahlil Sonucu	Olası Nedenler	Öneriler
GEÇERSİZ (INVALID)	<p>Tip 1: Endojen kontrol ABL hatası:</p> <ul style="list-style-type: none"> Kötü örnek kalitesi RT-PCR inhibisyonu ABL Ct >20 ve/veya sonlanım noktası <100 	<ul style="list-style-type: none"> Örnek kalitesini kontrol edin (örneğin, zaman ve sıcaklık dahil olmak üzere aşılımış örnek saklama gerekliliği). Bölüm 19.1, HATA (ERROR) veya GEÇERSİZ (INVALID) (Tip 1) için Tekrar Test Prosedüründe açıklanan prosedürü uygulayarak tahlili orijinal örnekle (varsa) veya artakalan lizat ve yeni bir kartuşla tekrarlayın.
	<p>Tip 2: NPM1 Mutasyon transkripti seviyesi, örneğin fazla NPM1 Mutasyonu ve/veya ABL transkriptleri (Ct <6) içermesi nedeniyle belirlenmemektedir.</p>	<p>Bölüm 19.2, HATA (ERROR) (Kod 2008) veya GEÇERSİZ (INVALID) (Tip 2) için Tekrar Test Prosedüründe açıklanan prosedürü uygulayarak tahlili orijinal örneğiyle (varsa) veya arta kalan lizat ve yeni bir kartuşla tekrarlayın.</p>
HATA (Kod 2008)	Basınç aşıldı sınırı (hata mesajı 2008)	<ul style="list-style-type: none"> Örnek kalitesini kontrol edin Aşırı derecede yüksek WBC sayımını kontrol edin Bölüm 19.2, HATA (ERROR) (Kod 2008) veya GEÇERSİZ (INVALID) (Tip 2) için Tekrar Test Prosedüründe açıklanan prosedürü uygulayarak tahlili orijinal örneğiyle (varsa) veya arta kalan lizat ve yeni bir kartuşla tekrarlayın.
<p>HATA (ERROR) (Kod 5006, 5007, 5008 ve 5009*)</p> <p>*Bu, HATA (ERROR) kodlarının kapsamlı bir listesi değildir.</p>	Prob denetimi hatası	<p>Bölüm 19.1, HATA (ERROR) veya GEÇERSİZ (INVALID) (Tip 1) için Tekrar Test Prosedüründe açıklanan prosedürü uygulayarak tahlili orijinal örnekle (varsa) veya arta kalan lizat ve yeni bir kartuşla tekrarlayın.</p>
SONUÇ YOK (NO RESULT)	Veri toplama hatası. Örneğin, kullanıcı, ilerlemekte olan tahlili durdurmuştur veya güç arızası ortaya çıkmıştır.	<p>Bölüm 19.1, HATA (ERROR) veya GEÇERSİZ (INVALID) (Tip 1) için Tekrar Test Prosedüründe açıklanan prosedürü uygulayarak tahlili orijinal örnekle (varsa) veya arta kalan lizat ve yeni bir kartuşla tekrarlayın.</p>

19 Tekrar Testler

19.1 HATA (ERROR) veya GEÇERSİZ (INVALID) (Tip 1) için Tekrar Test Etme Prosedürü

ABL döngü eşliğinin (Ct) maksimum geçerli Ct kesme değerini (Ct >20) aşması veya sonlanım noktasının eşik ayarının (<100) altında olması nedeniyle **HATA (ERROR)** veya **GEÇERSİZ (INVALID)** sonuçları olan örnekleri yeniden test edin. Ayrıca bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.

1. Yeterli kan örneği hacmi mevcutsa, Bölüm 12.2 içindeki prosedürü uygulayarak orijinal kan örneği toplama tüpünden tekrar test edin.

-VEYA-

Kan örneği hacmi yetersizse, Bölüm 12.2.1, Adım 12'den kalan lizat ile tekrar test yapılabilir.

- a. Bölüm 12.2.1, Adım 12'den kalan lizat donmuş olarak saklanırsa, kullanmadan önce oda sıcaklığında çözündürün.
 - b. Örneği 10 saniye boyunca sürekli olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırarak lizatın iyice karıştırıldığından emin olun ve kabarcıkların oturması için 3 dakika bir kenara koyun.
2. Hazırlanan lizatın 1 ml'sini 50 ml'lik yeni bir konik tüpe aktarın.
 3. Nihai lizatı yapmak için Bölüm 12.2.1'deki Adım 13-17'yi izleyin.
 4. Kartuş kapağını kaldırarak kartuşu açın ve bir (1) Yıkama Reaktif ampulünün içeriğinin tamamını Yıkama Reaktif haznesine (küçük açıklık) aktarın. Bkz. Şekil 1.
 5. Hazırlanan örneğin içeriğinin tamamını Örnek Haznesine (büyük açıklık) pipetleyin. Bkz. Şekil 1.
 6. Kartuşun kapağını kapatın. Tahlili başlatın (bkz. Bölüm 12.4, Tahlili Başlatma).

19.2 HATA (ERROR) (Kod 2008) veya GEÇERSİZ (INVALID) (Tip 2) için Tekrar Test Etme Prosedürü (Retest Procedure for ERROR (Code 2008) or INVALID (Type 2))

Geçerli minimum Ct (Ct >0 ve Ct <6) değerinin altında NPM1 mutasyonu ve/veya ABL transkript seviyeleri olan örnekleri ve/veya basınç limiti aşıldığında örnekleri tekrar test edin. Ayrıca bkz. Bölüm 18, Sorun Giderme Kılavuzu.

1. 50 ml'lik yeni bir konik tüpün alt kısmına 100 µl PK (Proteinaz K) ekleyin.
2. Bölüm 12.2, Adım 12'deki kan örneğinin veya arta kalan lizatın, pipetlemeden hemen önce tüpü 8 kez ters çevirerek iyice karıştırıldığından emin olun.
3. Halihazırda Proteinaz K içeren tüpe 250 µl kan örneği ve varsa 3,75 ml PBS (pH 7,4, kullanıcı tarafından sağlanır) veya Bölüm 12.2.1, Adım 12'den kalan lizattan 60 µl ekleyin.
 - a. Bölüm 12.2.1, Adım 12'den kalan lizat donmuş olarak saklanırsa, kullanmadan önce oda sıcaklığında çözündürün.
 - b. Örneği 10 saniye boyunca sürekli olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırarak lizatın iyice karıştırıldığından emin olun ve kabarcıkların oturması için 3 dakika bir kenara koyun.
4. Örneği 3 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın.
5. 1 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
6. PBS ile kan örneğinin tekrar test edilmesi için son lizatı yapmak üzere Bölüm 12.2.1'deki Adım 6-17'yi izleyin. Kalan lizatın tekrar test örneği için son lizatı yapmak üzere aşağıdaki a-g Adımlarını izleyin.
 - a. Kalan lizat örneğinin tekrar test edildiği tüpe 2,5 ml LY ekleyin.
 - b. Örneği 10 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın.
 - c. 5 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
 - d. Örneği 10 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın.
 - e. 5 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
 - f. Aynı tüpe 2 ml reaktif sınıfı mutlak etanol (kullanıcı tarafından sağlanır) ekleyin.
 - g. Örneği 10 saniye boyunca aralıksız olarak maksimum ayarda bir vorteks karıştırıcı ile karıştırın. Kenara koyun.
7. Kartuş kapağını kaldırarak kartuşu açın ve bir (1) Yıkama Reaktif ampulünün içeriğinin tamamını Yıkama Reaktif haznesine (küçük açıklık) aktarın. Bkz. Şekil 1.
8. Hazırlanan örneğin içeriğinin tamamını Örnek Haznesine (büyük açıklık) pipetleyin. Bkz. Şekil 1.
9. Kartuşun kapağını kapatın. Tahlili başlatın (bkz. Bölüm 12.4, Tahlili Başlatma).

20 Beklenen Değerler

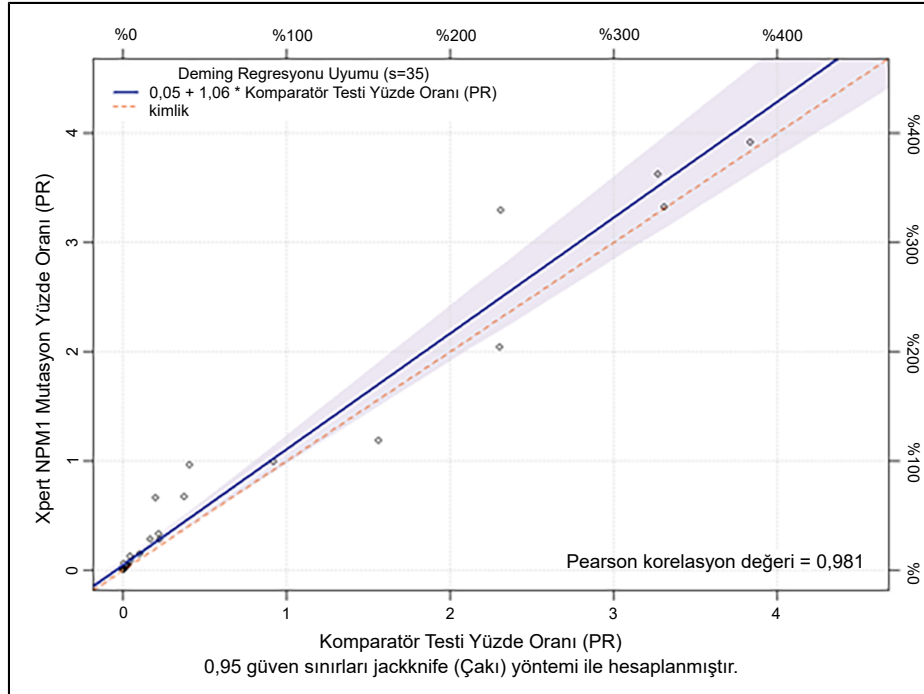
Xpert NPM1 Mutation aralığı, AML'nin izlenmesine ilişkin önemli klinik karar noktalarını kapsar. Beklenen değerler, NPM1 Mutasyon mRNA'sının ABL mRNA'sına yüzde oranı olarak ifade edilir ve %0,030 ile %500 arasında değişir. Bu aralığın altındaki ölçümler, tespit edilmemiş veya tespit sınırının (LoD) altında olarak rapor edilir. Bu aralığın üzerindeki ölçümler, miktar tayini sınırının (LoQ) üzerinde olarak rapor edilir. Ayrıntılar için bkz. Bölüm 15.

21 Klinik Performans

Amerika Birleşik Devletleri'ndeki üç merkezde ve Amerika Birleşik Devletleri dışındaki bir merkezde çok merkezli, gözlemsel bir yöntem karşılaştırma çalışması yapılmıştır. Bir zaman noktasından ve Xpert NPM1 Mutation testinin dinamik aralığından NPM1 mutasyonu olan 40 münferit AML hastasından elde edilen numuneler çalışmaya kaydedilmiştir. Örneklerin alındığı hastalardan yaş ve cinsiyet bilgileri alınmıştır. Cinsiyet dağılımı 11 erkek (%27,5) ve 29 kadın (%72,5) şeklinde olmuştur. Tüm örnekler, 59,7 yaş ortalaması ile 16 ila 81 yaşındaki hastalardan elde edilmiştir.

40 örneğin tamamı geçerli test sonuçları vermiştir. 40 örneğin otuz altısı, her iki testin de kantitatif aralıkları dahilinde sonuçlar vermiştir. Örnekler Xpert NPM1 Mutation ve/veya komparatör testinde negatif olduğu için dört örnek Deming regresyonuna dahil edilmemiştir. Aykırı değer olduğu için ek bir örnek hariç tutulmuştur. Deming regresyon analizine toplam 35 örnek dahil edilmiştir.

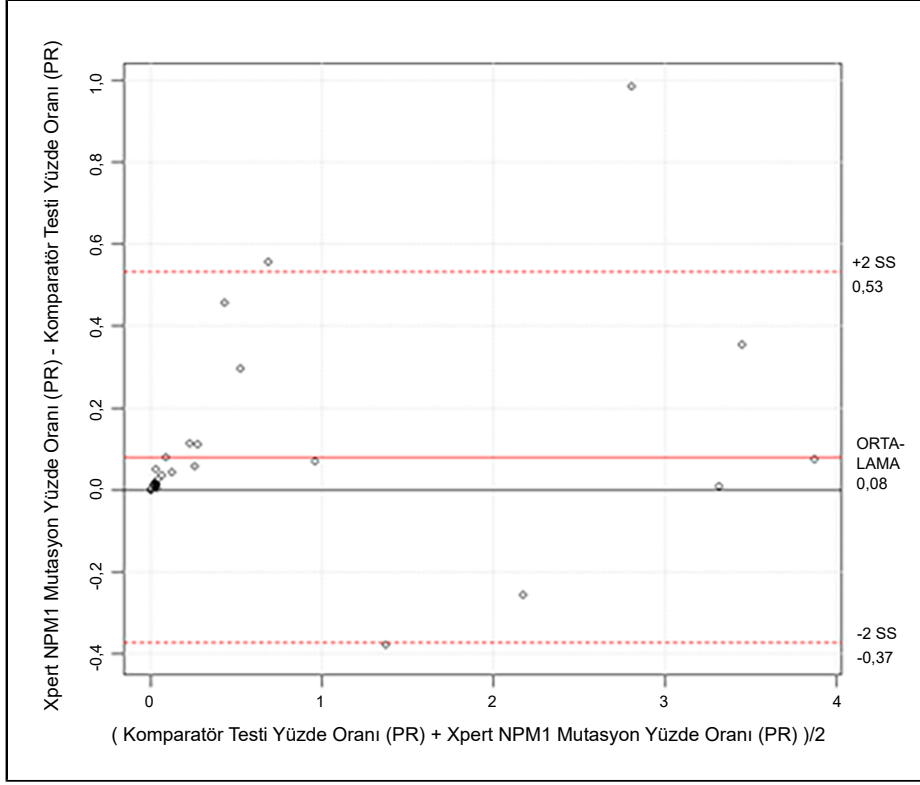
Komparatör tahliline kıyasla Xpert NPM1 Mutation testinin performansı, eğimi ve kesişimi belirlemek üzere bir Deming Regresyonu kullanılarak değerlendirilmiştir. Şekil 12, 35 örnek üzerinde eğim, kesişim ve tam eşitlik çizgisi dahil olmak üzere Deming Regresyon analizinin sonuçlarını sunmaktadır. %95 güven sınırları, Jackknife (Çakı) yöntemi kullanılarak hesaplanmış ve Pearson korelasyon katsayısı gösterilmiştir.



Şekil 12. Yüzde Oranı için Deming Regresyonu

Deming Regresyon analizinden yüzde oranı için eğim ve kesişim sırasıyla 1,06 ve 0,05 olmuş ve Xpert NPM1 Mutation testi ve komparatör testi ölçümleri arasında Pearson korelasyonu 0,981 olmuştur.

Yüzde oranındaki fark için Bland-Altman analizi, Xpert NPM1 Mutation ve komparatör testinin lineer aralığı dahilinde olan kantitatif sonuçlara sahip 35 örnek için değerlendirilmiştir. Şekil 13, her örnek için ortalama yüzde oran sonuçlarına kıyasla iki test arasındaki yüzde oranındaki farkla Bland-Altman grafiğini göstermektedir. Grafik ayrıca çalışmada gözlemlenen ortalama farkın üst ve alt iki standart sapmasını (2 SS) göstermektedir.



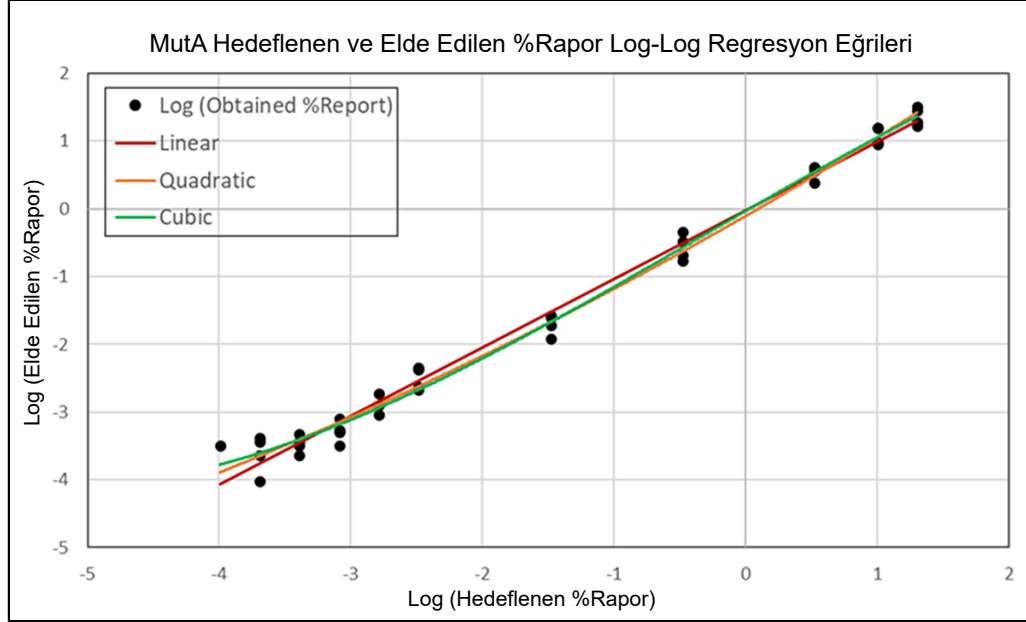
Şekil 13. Xpert NPM1 Mutasyonu ve Komparatör Testi Yüzde Oranı için Bland-Altman Grafiği

Ortalama fark, Xpert NPM1 Mutation ve komparatör testi sonucu arasında yüzde oranında 0,08 olmuştur. Sonuçların çoğunluğu (%91,4, 32/35) ortalama farkın 2 SS'si dahilinde olmuştur.

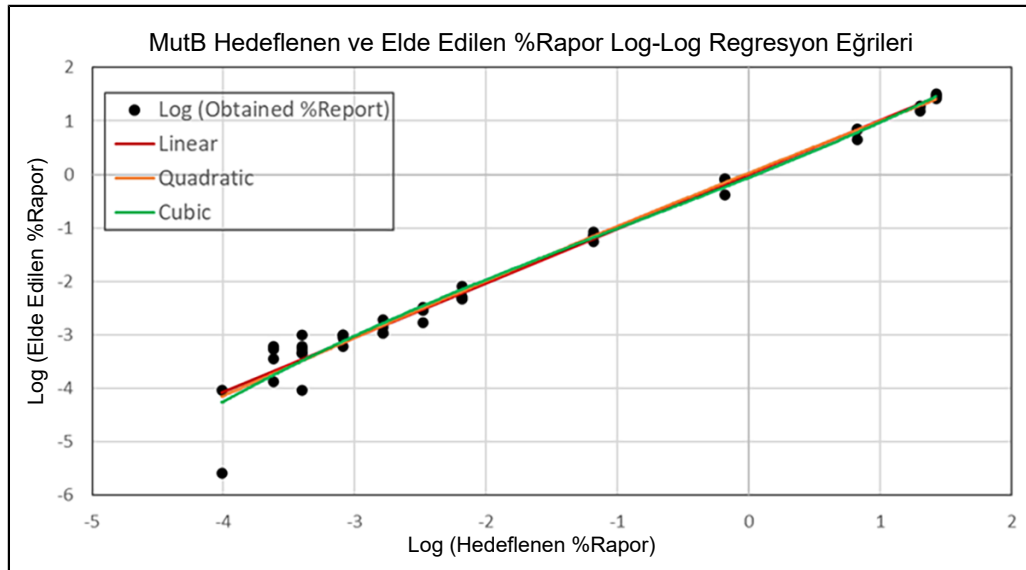
22 Analitik Veriler

22.1 Doğrusallık/Dinamik Aralık

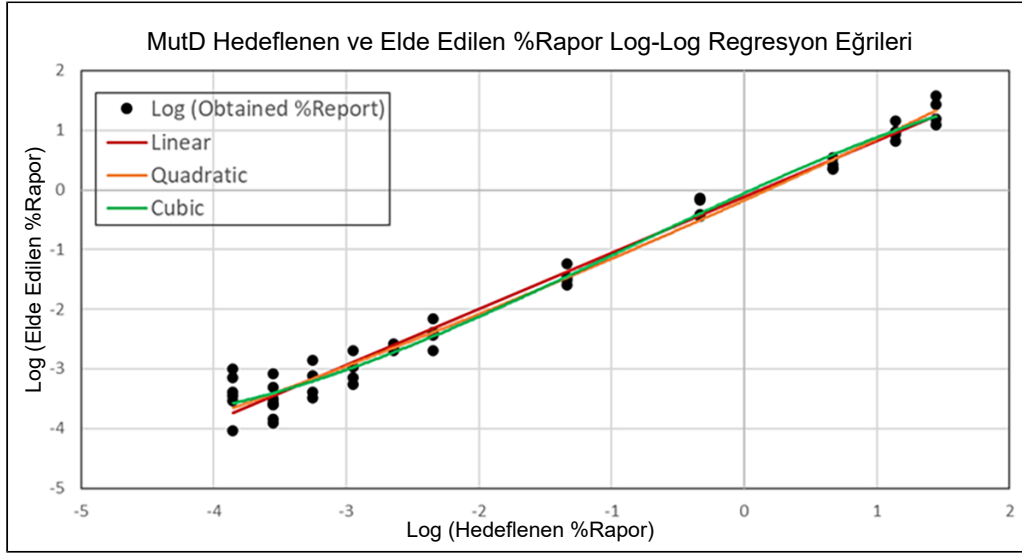
Doğrusallık, üç NPM1 mutant alt türünün her biri, yani mutA, mutB ve mutD için, her bir alt tür transkriptinin yüksek seviyelerini içeren hücre lizatları kullanılarak belirlenmiştir. Bu tür lizatlar, büyük olasılıkla NPM1 mutasyonu negatif donörlerden hazırlanan bir arka plan lizatı içinde, hedeflenen ~%0,01-2500 NPM1 Mutasyonu/ABL aralıklarına seyreltilmiştir. Tüm seviyeler, dört kopya halinde bir reaktif lotunda test edilmiştir. Testler ve istatistiksel analizler CLSI EP06-A⁹'ya uygun olarak yapılmıştır. Her alt tür için regresyon eğrileri Şekil 14, Şekil 15 ve Şekil 16'da gösterilmiştir. Her bir alt türün doğrusal aralığı ve doğrusal model katsayıları Tablo 4'te özetlenmiştir.



Şekil 14. mutA için Regresyon Eğrileri



Şekil 15. mutB için Regresyon Eğrileri



Şekil 16. mutD için Regresyon Eğrileri

Tablo 4. Doğrusal Aralıkların ve Doğrusal Model Katsayılarının Özeti

Alt Tür	Doğrusal Aralık	Kesişim	Eğim	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

Toplu olarak, Xpert NPM1 Mutation testi %0,014–2020 NPM1 Mutasyonu/ABL dahilinde doğrusallık göstermiştir. LoQ ve yazılım üst sınırı ile sınırlanan raporlanabilir dinamik aralık %0,030–500'dür.

22.2 Analitik Hassasiyet (Tespit Sınırı, Miktar Tayini Sınırı, Kör Numune Sınırı)

Tespit sınırı (LoD), örneklerin %95'inin tutarlı bir şekilde "**NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [###,##] (NPM1 Mutation DETECTED [##.##%])**" olarak bildirildiği en düşük NPM1 Mutasyonu/ABL seviyesidir. LoD, mutA, mutB ve mutD alt türleri için ayrı ayrı NPM1 mutasyonu pozitif hücre lizatlarının ve her bir mutasyon alt türünü barındıran klinik lizatların seri seyreltmeleri test edilerek belirlenmiştir. Karşılık gelen LoD'ler, CLSI EP17-A2 uyarınca tahmin edilmiş ve doğrulanmıştır¹⁰. Elde edilen analizler, mutA için %0,025, mutB için %0,023 ve mutD için %0,030'luk bir LoD vermiştir (Tablo 5). Üç alt tür arasında %0,030'da en yüksek LoD, Xpert NPM1 Mutation testinin genel LoD'si olarak alınır.

Miktar tayini sınırı (LoQ), bu seviyenin üzerinde, 3,5'in üzerindeki ortalama LR'ler için örneklerin standart sapma $\leq 0,36$ log azalma (LR) ile belirlenebildiği en düşük NPM1 Mutasyonu/ABL seviyesidir. CLSI EP17-A2¹⁰ uyarınca, LoQ'lar mutA alt türü için %0,025, mutB alt türü için %0,023 ve mutD alt türü için %0,030 olarak tahmin edilmiş ve doğrulanmıştır (Tablo 5). Üç alt tür arasında %0,030'da en yüksek LoQ, Xpert NPM1 Mutasyon testinin genel LoQ'su olarak alınır.

Kör numune sınırı (LoB), büyük olasılıkla NPM1 mutasyonu negatif donörlerden alınan boş örneklerin %95'inde beklenen en yüksek NPM1 Mutasyonu/ABL sonucudur. CLSI EP17-A2¹⁰ uyarınca, Xpert NPM1 Mutasyon testinin LoB'si %0,0085 olarak tahmin edilmiş ve doğrulanmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Xpert NPM1 Mutation testinin Tespit Sınırı, Miktar Tayini Sınırı ve Kör Numune Boş Sınırı [%NPM1 Mutasyonu/ABL]

Alt Tür	LoD [%NPM1 Mutasyonu/ABL]	LoQ [%NPM1 Mutasyonu/ABL]	LoB [%NPM1 Mutasyonu/ABL]
mutA	%0,025	%0,025	%0,0085
mutB	%0,023	%0,023	
mutD	%0,030	%0,030	

22.3 Analitik Özgüllük

Xpert NPM1 Mutation testinin analitik özgüllüğü, yirmi beş sağlıklı donörden alınan EDTA ile işlenmiş periferik kan numunelerinin test edilmesiyle belirlenmiştir.

Bu çalışmada değerlendirilen büyük olasılıkla NPM1 mutasyonu negatif numunelerden NPM1 Mutasyonu **TESPİT EDİLDİ** (NPM1 Mutation DETECTED) sonucu elde edilmemiştir. Bu nedenle Xpert NPM1 Mutation testi, AML ile ilişkili mutant NPM1 mRNA transkriptlerine (ekson 12'deki A, B ve D türleri) özgüdür ve EDTA periferik kan numuneleri için %100 analitik özgüllüğe sahiptir.

22.4 Taşınan Kontaminasyon Değerlendirmesi

Tek kullanımlık, GeneXpert bağımsız kartuşlarının aynı alet modülünde sırayla çalışılan kartuşlardan taşınan kontaminasyonu önlediğini göstermek üzere bir çalışma yapılmıştır. Aynı GeneXpert modülünde yüksek NPM1 mutasyonu pozitif bir örneğin ardından büyük olasılıkla NPM1 mutasyonu negatif bir örnek test edilmiştir. Test şeması, iki GeneXpert modülünde (toplamda 22 negatif ve 20 pozitif) 10 kez tekrarlanmıştır. Pozitif örneklerin tüm çalışmaları, beklenen "**NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLDİ [%#,##] (NPM1 Mutation DETECTED [#.##%])**" ve negatif örneklerin tüm çalışmaları, beklenen "**NPM1 Mutasyonu TESPİT EDİLMEDİ [Yeterli ABL transkripti] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])**" sonucunu vermiştir.

22.5 Etkileşme Potansiyeli Olan Maddeler

Bu çalışmada, EDTA periferik kan numunelerinde bulunabilecek ve test performansını etkileme potansiyeli olan beş madde değerlendirilmiştir. Test edilen bileşikler ve seviyeler (bkz. Tablo 6), CLSI EP07-ED3¹¹'deki rehberliğe dayanmaktadır. Etkileşime giren maddeler, kültürlenmiş NPM1 mutasyonu pozitif hücrelerin lizatları ile oluşturulmuş EDTA periferik kan numunelerinde test edilmiş ve üç seviye temsil edilmiştir: >%1, %0,1-0,5 ve negatif. Test kontrolleri, potansiyel olarak etkileşime giren maddeler olmadan aynı örneklerden oluşmuştur. Her seviye, durum başına 4 kopya halinde beş etkileşime giren her maddenin yokluğunda ve varlığında test edilmiştir. Bir madde, mevcut olduğunda, gözlenen ortalama yüzde oranı kontrole kıyasla 3 kat fark dahilindeyse etkileşmeyen madde olarak kabul edilmiştir.

Bu çalışmada değerlendirilen etkileşen maddelerin hiçbiri nedeniyle Xpert NPM1 Mutation testi üzerinde klinik olarak anlamlı hiçbir inhibe edici etki gözlenmemiştir. Herhangi bir test koşulunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar (p değeri <0,05) gözlenmemiş ve test ve kontrol koşulları için rapor edilen yüzde oranları, kabul edilebilir 3 kat aralığı dahilinde olmuştur.

Tablo 6. Xpert NPM1 Mutation Kullanılarak Test Edilen Etkileşme Potansiyeli Olan Maddeler

Etkileşen Maddeler	Test Edilen Konsantrasyon
Konjuge olmayan bilirubin	20 mg/dl
Kolesterol, Toplam	500 mg/dl
Trigliseritler, Toplam (Lipidler)	3000 mg/dl
Heparin	3500 U/L
EDTA (kısa çekim)	930 mg/dl

23 Tekrarlanabilirlik ve Hassasiyet

Çalışma, Çok Faktörlü Çalışmalar için CLSI EP05-A3 standardında benimsenen genel ilkelere uygun olarak tasarlanmıştır. Üç merkezde yürütülmüştür. Çalışma tasarımı, iki konsantrasyonda A, B ve D mutasyonlarını içeren örnek panel üyelerini içermiştir. Yedi panel üyesi, iki kullanıcının her biri tarafından üç farklı merkezde toplam 6 gün boyunca günde iki kez olmak üzere iki kere test edilmiştir (3 Merkez × 2 Kullanıcı × 3 Lot × 2 gün × 2 Çalışma × 2 Tekrar = 144 test sonucu/panel üyesi). Tekrarlanabilirlik ve hassasiyet panelleri Cepheid tarafından hazırlanmıştır ve Tablo 7'de gösterildiği gibi yedi panel üyesinden oluşmaktadır. Paneller, simüle edilmiş bir EDTA periferik kan (PB) matrisinde oluşturulmuştur.

Tablo 7. Tekrarlanabilirlik ve Hassasiyet Panelleri

Panel Üyesi	Hedef	Seviye Yüzde Oranı (PR)
1	Negatif	Geçerli Değil
2	NPM1 Mutasyon A	Orta Pozitif (~%5)
3	NPM1 Mutasyon A	Düşük Pozitif (~%0,2)
4	NPM1 Mutasyonu B	Orta Pozitif (~%5)
5	NPM1 Mutasyonu B	Düşük Pozitif (~%0,2)
6	NPM1 Mutasyonu D	Orta Pozitif (~%5)
7	NPM1 Mutasyonu D	Düşük Pozitif (~%0,2)

Üç merkezde iki kullanıcının her biri tarafından analiz edilen her bir panel üyesi için geçerli sonuçları olan örneklerin sayısı Tablo 8'de gösterilmektedir.

Tablo 8. Tekrarlanabilirlik ve Hassasiyet: Geçerli Sonucu Olan Örnek Sayısı

Panel Üyesi		Çalışma Merkezi 1			Çalışma Merkezi 2			Çalışma Merkezi 3			Toplam Örnekler
		Kul. 1	Kul. 2	Çalışma Merkezi	Kul. 1	Kul. 2	Çalışma Merkezi	Kul. 1	Kul. 2	Çalışma Merkezi	
1	Negatif	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 (~%5 oran)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
3	LR2.7: mut A (~%0,2 oran)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
4	LR1.3: mut B (~%5 oran)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
5	LR2.7: mut B (~%0,2 oran)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
6	LR1.3: mut D (~%5 oran)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)
7	LR2.7: mut D (~%0,2 oran)	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(24/24) ^c	(24/24)	(48/48) ^c	(24/24)	(24/24)	(48/48)	(144/144)

^a İki negatif numunenin geçerli ancak tespit edilmiş sonuçları olmuştur (FP)

^b Bir negatif numunenin geçerli ancak tespit edilmiş sonucu olmuştur (FP)

^c Bir LR2.7: mut D (~%0,2 oran) numunesinin geçerli ancak tespit edilmemiş bir sonucu (FN) olmuştur

Kantitatif sonuçlar, rastgele etkiler ve varyasyon katsayısı (VK) ile iç içe varyans analizi (ANOVA) ile analiz edilmiştir. Her pozitif örnek için standart sapma ve varyans için ANOVA hesaplamalarından elde edilen sonuçlar Tablo 9'da verilmiştir. Her bileşenin (Merkez/Alet, Kullanıcı, Lot, Gün, Çalışma) katkıda bulunduğu toplam varyansın varyansı ve yüzdesi, SS ve her bileşenin yüzde katkısı olarak belirtilir.

Tablo 9. Varyasyon Katsayısı (VK) Sonuçları: Yüzde Oranı (PR)

Panel Üyesi	S	Orta-lama	Çalışma Merkezi		Op		Lot		Gün		Çalışma		Tahsil İçi		Toplam	
			SS	VK (%)	SS	VK (%)	SS	VK (%)	SS	VK (%)	SS	VK (%)	SS	VK (%)	SS	VK (%)
LR1.3: mut A (~%5 oran)	144	%4,3	0,00	6,14	0,00	0,00	0,00	4,29	0,00	8,91	0,00	4,36	0,01	17,83	0,01	21,74
LR2.7: mut A (~%0.2 oran)	144	%0,2	0,00	0,00	0,00	12,43	0,00	0,00	0,00	23,71	0,00	0,00	0,00	74,56	0,00	79,22
LR1.3: mut B (~%5 oran)	144	%5	0,00	8,24	0,00	0,00	0,01	11,50	0,00	7,19	0,00	0,00	0,01	20,88	0,01	26,23
LR2.7: mut B (~%0.2 oran)	144	%0,2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,28	0,00	20,68
LR1.3: mut D (~%5 oran)	144	%4,2	0,00	5,15	0,00	0,00	0,01	12,91	0,00	8,78	0,00	0,00	0,01	18,30	0,01	24,60
LR2.7: mut D (~%0.2 oran)	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 Bir örnek Xpert NPM1 tarafından tespit edilmemiş ve kantitatif ölçüm olmadığı için analizden çıkarılmıştır.

Yüzde değer raporlama kantitatif değerlerinin toplam varyasyon katsayısı (VK) yüzdesi orta pozitif örnekler LR1.3: mut A, mut B ve mut D (~%5 oran) için 21,74 ile 26,23 arasında ve düşük pozitif örnekler LR2.7: mut A, mut B ve mut D (~%0,2 oran) için 20,68 ile 79,22 arasında olmuştur.

24 Referanslar

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>. Erişim Tarihi: 16 Eylül 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 (en son baskıya başvurun). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Belge M29 (en son baskıya başvurun).
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, Birinci Baskı
10. CLSI EP17-A2:2012 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – İkinci Baskı
11. CLSI EP07-ED3:2018 Interference Testing in Clinical Chemistry, Üçüncü Baskı
12. CLSI EP05-A3:2014 Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Üçüncü Baskı

25 Cepheid Genel Merkez Konumları

Şirket Genel Merkezi

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Avrupa Genel Merkezleri

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Teknik Destek

Cepheid Teknik Destek birimiyle iletişime geçmeden önce şu bilgileri toplayın:

- Ürün adı
- Lot numarası
- Aletin seri numarası
- Hata mesajları (varsa)
- Yazılım sürümü ve geçerli olduğunda Bilgisayar Servis Etiketisi numarası

ABD





















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

Fransa

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

Tüm Cepheid Teknik Destek ofisleri için irtibat bilgileri web sitemizde mevcuttur: www.cepheid.com/en_US/support/contact-us.

27 Sembol Tablosu

Sembol	Anlamı
	Katalog numarası
	CE işareti - Avrupa Uygunluğu
	<i>In vitro</i> tanısal tıbbi cihaz
	Parti kodu
	Tekrar kullanmayın
	Kullanma talimatına başvurun
	Üretici
	Üretildiği ülke
	<i>n</i> test için yeterince içerir
	Kontrol
	Son kullanma tarihi
	Sıcaklık sınırı
	Biyolojik riskler
	Dikkat
	Alevlenebilir sıvılar
	Üreme organları ve organ toksisitesi
	Uyarı
	Avrupa Topluluğu'nda yetkili temsilci
	İsviçre'de yetkili temsilci
	İthalatçı



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



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



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



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

28 Revizyon Geçmişi

Bölüm	Değişikliğin Açıklaması
23	“Tekrarlanabilirlik ve Hassasiyet” bölümündeki hata düzeltildi.