

Technische Schulung Xpert[®] NPM1 Mutation

*Bestellnummer (GXNPM1-CE-10)
Nur zur Verwendung als CE-IVD*



Schulungsziele

Am Ende der Schulung haben die Anwender folgende Kenntnisse erworben:

- Fachgerechte Lagerung und Handhabung des Xpert® NPM1 Mutation Kartuschen-Kits
- Korrekte Befolgung der Vorsichtsmaßnahmen zur Sicherheit im Labor
- Entnahme und Transport geeigneter Proben
- Vorbereitung der Kartusche und Durchführung des Xpert® NPM1 Mutation Tests
- Weitergabe der verschiedenen, von der Software ausgegebenen Ergebnisse
- Verständnis der Xpert® NPM1 Mutation Kontrollstrategie

Schulungsprogramm

- 1 Überblick
- 2 Handhabung des Kits
- 3 Probenentnahme
- 4 Kartuschenvorbereitung
- 5 Qualitätskontrollen
- 6 Ergebnisinterpretation
- 7 Fehlerbehebung



Überblick



Die Lösung von Cepheid



- Quantitativer Nachweis
- Eingebaute interne Kontrollen für jede einzelne Probe
 - Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC)
 - Endogene ABL-Kontrolle
- Ergebnisse in weniger als 3 Stunden
- Etwa 30 Minuten separate Probenvorbereitung und **weniger als 2,5 Stunden Test-Laufzeit** des Assays
- System mit geschlossenen Kartuschen minimiert das Kontaminationsrisiko
- Ergebnisse jederzeit und nach Bedarf
- Wahlfreier Zugriff

Verwendungszweck

- Der Xpert[®] NPM1 Mutation Test zur Durchführung auf dem Cepheid GeneXpert[®] Dx System ist ein diagnostischer *In-vitro*-Test zur Quantifizierung von mutanten NPM1-mRNA-Transkripten (Typen A, B und D in Exon 12) in peripheren Blutproben von Patient/innen mit akuter myeloischer Leukämie (Acute Myeloid Leukemia, AML).
- Der Test verwendet eine automatisierte Echtzeit-Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) und berichtet das prozentuale Verhältnis von mutantem NPM1 zu mRNA-Transkripten der endogenen ABL1-Kontrolle.
- Der Test ist als Hilfe beim Monitoring von Patient/innen mit NPM1-mutierter AML für die Konzentration des mutanten NPM1-mRNA-Transkripts vorgesehen. Der Test sollte in Verbindung mit anderen klinisch-pathologischen Faktoren verwendet werden.
- Der Xpert[®] NPM1 Mutation Test unterscheidet nicht zwischen mutanten NPM1-Transkripten vom Typ A, B oder D und weist keine anderen seltenen Typen von mutantem NPM1 nach oder überwacht sie.
- Dieser Test ist nicht zur Diagnose einer AML bestimmt.

Vorgesehene Anwender/Umgebung

- Der Xpert[®] NPM1 Mutation Test ist zur Durchführung durch geschultes Personal im Labor vorgesehen.

Zielsequenzen

- NPM1-mRNA-Mutationstranskripte der Typen A, B und D in Exon 12
- Endogene ABL1-Kontrolle

Anforderungen für den Xpert® NPM1 Mutation Test

GeneXpert®-Systeme

- GeneXpert Dx Software **Version 6.2** oder höher

Testkits

- Bestellnummer (GXNPM1-CE-10)

Probenentnahme

- In EDTA-Röhrchen abgenommenes peripheres Blut

Sonstige Materialien

- Persönliche Schutzausrüstung (PSA)
- 1:10 Bleichmittel / Natriumhypochlorit (Endkonzentration von 0,5 % bei täglich frischer Zubereitung)
- 70%iges Ethanol oder denaturiertes Ethanol
- Vortex-Mixer
- Mikrozentrifuge (mindestens 1000 g)
- Pipetten und Aerosolfilter-Pipettenspitzen
- Konische 50-ml-Röhrchen
- Reines Ethanol in Reagenzqualität
- 1X PBS, pH 7,4

Sonstige Materialien

- Unterbrechungsfreie Stromversorgung/Überspannungsschutz
- Drucker (Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.)

Gute Laborpraxis – Überblick

Persönliche Schutzausrüstung (PSA)

- Saubere Laborkittel, Schutzbrille und Handschuhe tragen.
- Nach der Bearbeitung jeder einzelnen Probe die Handschuhe wechseln.

Labortischbereich

- Arbeitsflächen routinemäßig reinigen mit:
 - ✓ 1:10 verdünnter haushaltsüblicher Chlorbleiche*
 - ✓ 70%iger Ethanollösung
- Nach der Reinigung dafür sorgen, dass die Oberflächen trocken sind.

Lagerung von Patienten- und sonstigen Proben sowie Kits

- Patienten- und sonstige Proben getrennt vom Kit lagern, um Kontaminationen zu vermeiden.

Ausrüstung

- Pipettenspitzen mit Filter verwenden, wo diese empfohlen werden.
- Vorgaben des jeweiligen Herstellers zu Kalibrierung und Wartung der Geräte befolgen.

* Die Endkonzentration von aktivem Chlor sollte unabhängig von der im jeweiligen Land üblichen Chlorbleiche 0,5 % betragen.

Handhabung des Kits



Inhalt des Xpert® NPM1 Mutation Kits

Bestellnummer

GXNPM1-CE-10

Kartuschen* pro Kit

10

Reagenzröhrchen
(jeweils 10)

Proteinase K (PK)
Lysereagenz (LY) (Guanidiniumchlorid)
Waschreagenz

Xpert NPM1 Mutation Assay-Definitionsdatei (ADF)

Kit-CD

Xpert NPM1 Mutation Importanweisungen

Gebrauchsanweisung

Lagerung

2 °C bis 8 °C



* Die Kartuschen enthalten chemisch gefährliche Substanzen. Ausführliche Informationen sind der Gebrauchsanweisung und dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Lagerung und Handhabung des Kits

- Das Xpert® NPM1 Mutation Kit bei 2 – 8 °C aufbewahren.
- Den Deckel der Kartusche erst öffnen, wenn Sie bereit sind, die Testung durchzuführen.
- Keine auslaufenden Kartuschen verwenden.
- Das Waschreagenz ist eine klare, farblose Flüssigkeit. Wenn das Waschreagenz trübe oder verfärbt ist, darf es nicht verwendet werden.
- Zwanzig (20) Minuten vor Beginn des Verfahrens Blutprobe, Kartusche und die Reagenzien zur Probenvorbereitung aus dem Lagerort entnehmen und auf Raumtemperatur (20 °C bis 30 °C) kommen lassen.
- Kartuschen nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen



- Zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.
- Alle biologischen Proben und auch die gebrauchten Kartuschen und Reagenzien sind als potenziell infektiös zu behandeln.
- Da es oft unmöglich ist, potenziell infektiöse Proben zu erkennen, sind alle biologischen Proben gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln.
- Richtlinien für den Umgang mit Proben sind bei den U.S. Centers for Disease Control and Prevention⁶ und dem Clinical and Laboratory Standards Institute⁷ erhältlich.
- Die in der jeweiligen Einrichtung geltenden Sicherheitsvorkehrungen für den Umgang mit Chemikalien und biologischen Proben sind zu befolgen.
- Die Leistungsmerkmale dieses Tests wurden ausschließlich mit in EDTA-Röhrchen entnommenem Blut ermittelt. Die Assay-Funktion wurde nicht mit anderen Probentypen bewertet.

6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (siehe neueste Ausgabe). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (siehe aktuellste Ausgabe).

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen (Fortsetzung)



- Verlässliche Ergebnisse hängen vom sachgemäßen Vorgehen bei Entnahme, Transport, Aufbewahrung und Bearbeitung der Probe ab. Falsche Assay-Ergebnisse können bei unsachgemäßer Probenentnahme, Handhabung oder Lagerung, technischen Fehlern oder Probenverwechslung ausgegeben werden, oder weil das Zieltranskript in der Probe unter der Nachweisgrenze des Assays liegt. Die Gebrauchsanweisung und das *Benutzerhandbuch für das GeneXpert[®]-System* müssen sorgfältig eingehalten werden, um falsche Ergebnisse zu vermeiden.
- Wenn der Xpert[®] NPM1 Mutation Test mit Kits oder Proben durchgeführt wird, die außerhalb des für die Aufbewahrung der Probe empfohlenen Temperaturbereichs und Zeitraums gelagert wurden, kann er falsche oder ungültige Ergebnisse ausgeben.
- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben. Bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien sind die Umweltschutzvorschriften der jeweiligen Einrichtung einzuhalten. Diese Materialien können chemischen Sondermüll darstellen, der gemäß bestimmten nationalen oder regionalen Vorgehensweisen entsorgt werden muss. Falls die Vorschriften des jeweiligen Landes bzw. der jeweiligen Region keine klaren Anweisungen zur ordnungsgemäßen Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen der WHO (Weltgesundheitsorganisation)⁸ entsorgt werden.

⁸Health-care Waste. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>.

Einschränkungen des Xpert® NPM1 Mutation Assays

- Der Assay ist nicht zur Verwendung mit externen Kalibratoren bestimmt.
- Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Funktion des Assays beeinträchtigen.
- Dieses Produkt wurde nur für die Verwendung mit in EDTA-Röhrchen abgenommenem Blut entwickelt.
- Kein Heparin als Antikoagulans verwenden, da es die PCR-Reaktion hemmen kann.
- Die Probentypen Natriumcitrat, Buffy-Coat und Knochenmark wurden nicht validiert.
- Zu fehlerhaften Assay-Ergebnissen kann es kommen, wenn die Probe unsachgemäß entnommen, gehandhabt oder gelagert wurde oder Proben verwechselt wurden. Die Gebrauchsanweisung ist sorgfältig zu befolgen, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Sonden bindenden Regionen wirken sich eventuell auf den Nachweis von neuen oder unbekanntem Varianten aus und können falsch negative Ergebnisse verursachen.
- Zu hohe Konzentrationen weißer Blutkörperchen können zur Druckbildung in der Kartusche und zu abgebrochenen Durchläufen oder ungenauen Ergebnissen führen.
- Manche Proben mit sehr niedriger ABL-Transkript-Konzentration oder mit einer Leukozytenzahl unter 150.000 Zellen/ml können als UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1) berichtet werden. Ein unbestimmtes Ergebnis schließt nicht aus, dass in der Probe Leukämiezellen in sehr niedriger Konzentration anwesend sind.

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

Transport und Aufbewahrung von Proben

- Periphere Blutproben sollten unter Befolgung der Richtlinien Ihrer Einrichtung in EDTA-Röhrchen entnommen werden.
- Plasma und Zellen sollten nicht separiert werden.

Probentyp

Lagerung

Vollblutprobe

bis zu 3 Tage bei 2 – 8 °C

Kartuschenvorbereitung

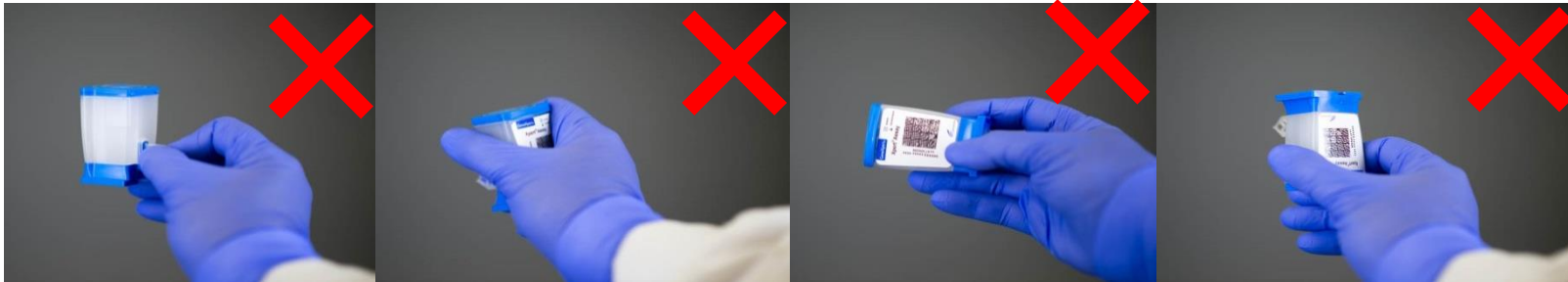
Korrekte Handhabung der Kartusche

Richtig

- Den Reaktionsbehälter nicht berühren.
- Die Kartusche aufrecht halten.
- Nach Zugabe der Probe nicht kippen.



Falsch



Vor dem Beginn des Verfahrens:

- Zwanzig (20) Minuten vor Beginn des Verfahrens die Blutprobe, Reagenzien zur Probenvorbereitung und Kartuschen aus dem Kühlschrank entnehmen und auf Raumtemperatur kommen lassen.
- Proteinase K (PK) kurz in einer Mikrozentrifuge zentrifugieren.
- Den Assay innerhalb von **1 Stunde** nach dem Hinzufügen der mit Probenreagenz behandelten Probe zur Kartusche starten.
- Die Kartusche vor Vorbereitung der Probe aus der Kartonverpackung nehmen.

Xpert® NPM1 Mutation Kartuschenvorbereitung Probe mit unbekannter Leukozytenzahl (WBC) ODER < als 30 Millionen Leukozyten/ml

Lysat- und Kartuschenvorbereitung

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NPM1 Mutation

Ausführliche Anweisungen, Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise sind der Packungsbeilage zu entnehmen.

Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblatts ist erhältlich unter www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com

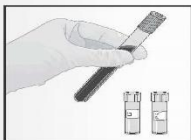
Technischer Kundendienst von Cepheid
Büro USA +1 (888) 838-3222, Option 2
techsupport@cepheid.com
Büro Europa +33 563 82 53 19

Folgende Komponenten 20 Minuten vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur (20 °C–30 °C) kommen lassen:

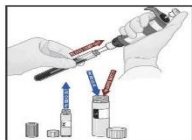
- Blutprobe
- Kartusche
- Reagenzien zur Probenvorbereitung



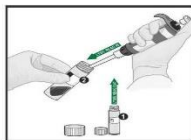
- 1 EDTA-Vollblut und Reagenzien zur Probenvorbereitung aus dem Kühlschrank nehmen. EDTA-Vollblut auf den Wippschüttler stellen oder 8 Mal umdrehen, bevor die Probe entnommen wird.



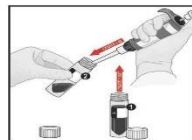
- 2 PK-Reagenz kurz zentrifugieren. 100 µl PK-Reagenz in ein konisches 50-ml-Röhrchen geben. Anschließend 4 ml gut durchmisches EDTA-Vollblut in das gleiche konische 50-ml-Röhrchen geben. 3 s im Vortexer mischen und 1 min bei RT inkubieren.



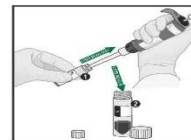
- 3 2,5 ml Lysereagenz (LY) in das gleiche Röhrchen geben, 10 s im Vortexer mischen und 5 min bei RT inkubieren. Erneut 10 s im Vortexer mischen und zum 2. Mal 5 min inkubieren. Röhrchen zum Mischen 10x leicht aufstoßen.



- 4 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen. Verbleibendes Lysat für eine eventuelle Testwiederholung aufbewahren.



- 5 1,5 ml Lysereagenz (LY) in das neue konische Röhrchen mit dem vorbereiteten Lysat geben. 10 s im Vortexer mischen und 10 min bei RT inkubieren.



- 6 2 ml absolutes EtOH von Reagenzqualität in das gleiche konische Röhrchen geben. 10 s im Vortexer mischen und beiseite stellen. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz verwerfen.



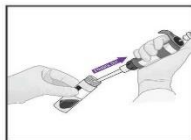
- 7 Den Deckel der Xpert Testkartusche öffnen.



- 8 Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen (mit der schmalen Öffnung).



- 9 Den gesamten Inhalt des endgültigen vorbereiteten Lysats aus dem konischen Röhrchen pipettieren.



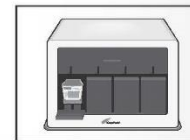
- 10 Die vorbereitete Probe (~4,5 ml) vollständig in die Probenkammer transferieren.



- 11 Den Deckel der Xpert Kartusche schließen.



- 12 Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.



Xpert® NPM1 Mutation Kartuschenvorbereitung

Probe mit Leukozytenzahl (WBC) größer oder gleich 30 Millionen Leukozyten/ml

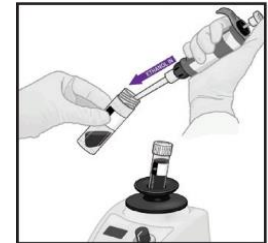
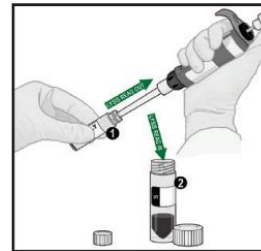
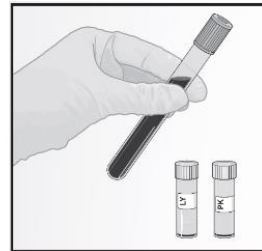
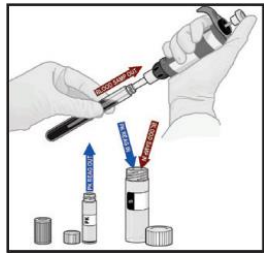
1. Auf den Boden eines neuen konischen 50-ml-Röhrchens **100 µl PK** (Proteinase K) hinzufügen.

Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem Sie das EDTA-Blutsammelröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8 Mal invertieren.

2. **250 µl** der Blutprobe und **3,75 ml 1xPBS** (pH 7,4, vom Benutzer bereitgestellt) hinzufügen. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen. 1 Minute lang bei Raumtemperatur inkubieren.

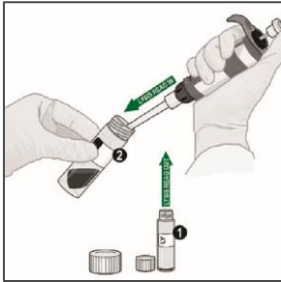
3. In dasselbe Röhrchen **2,5 ml Lysereagenz (LY)** hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Raumtemperatur 5 Minuten lang inkubieren. Die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Raumtemperatur 5 Minuten lang inkubieren. Die Probe vermischen, indem 10-mal an den Boden des Röhrchens geklopft wird. **1 ml** vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen.

4. In dasselbe konische Röhrchen **1,5 ml Lysereagenz (LY)** hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.



Xpert® NPM1 Mutation Kartuschenvorbereitung **Probe mit Leukozytenzahl (WBC) größer oder gleich 30 Millionen Leukozyten/ml Fortsetzung**

5. In das gleiche konische Röhrchen **2 ml reines Ethanol** in Reagenzqualität (vom Benutzer bereitgestellt) geben.



6. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Raumtemperatur beiseite stellen.



7. Die Kartusche aus der Kartonverpackung nehmen.

8. Die Kartusche auf Beschädigungen überprüfen. Falls die Kartusche beschädigt ist, darf sie nicht verwendet werden.

9. Den Kartuschendeckel öffnen. Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz (1) in die Waschreagenzkammer (mit der schmalen Öffnung) überführen.

10. Den gesamten Inhalt der vorbereiteten Probe in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren.

11. Den Deckel der Xpert® Kartusche schließen.

12. Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.

Aufbewahrung von verbleibendem Lysat

- Das verbleibende Lysat kann bei 2 bis 8 °C für bis zu 48 Stunden ODER bei -20 °C oder kühler für bis zu 1 Monat aufbewahrt werden.

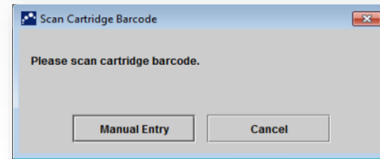
Durchführung eines Tests auf dem GeneXpert® Dx

1 Test erstellen.



Der Test muss innerhalb von **1 Stunde** nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.

2 Barcode für Patienten-ID (Patient ID) und/oder Proben-ID (Sample ID) scannen.



3 Kartusche scannen.



Durchführung eines Tests auf dem GeneXpert® Dx (Fortsetzung)

4 Erforderliche Felder ausfüllen.

5 Xpert® NPM1 Mutation Test wird automatisch ausgewählt.

6 Das Modul wird automatisch ausgewählt.

7 Auf „Test starten“ (Start Test) klicken

8 Am Modul blinkt eine grüne Leuchte.
Kartusche in das Modul laden und Klappe schließen.

Create Test

Patient ID
Sample ID
Patient ID 2
Last Name

Name

Select Assay: Xpert NPM1 Mutation

Select Module: A3

Reagent Lot ID*: 16119 Expiration Date*: 2016/1/17

Test Type: Specimen

Sample Type: Other Other S...

Notes

Start Test Scan Cartridge Barco...



Automatisiertes Xpert® NPM1 Mutation Protokoll



Qualitätskontrollen



Xpert® NPM1 Mutation Kontrollstrategie

- Xpert® NPM1 Mutation Qualitätskontrollen
 - Jede Xpert-Kartusche ist eine geschlossene Testeinheit.
 - Cepheid hat spezielle molekulare Methoden entwickelt, um interne Kontrollen in das Verfahren aufzunehmen, mit denen das System in jeder Kartusche bestimmte Fehlermodi erkennen kann:
 - **Sondenprüfungskontrollen (Probe Check Controls, PCC)**
 - **Endogene ABL1-Kontrolle**

Siehe 301-4868 GeneXpert® Qualitätskontrollfunktionen für alle Cepheid Xpert Tests.

Interne Qualitätskontrollen

- **Endogene ABL1-Kontrolle**

- Normalisiert die Zielsequenz für die NPM1 Mutation.
- Stellt sicher, dass genügend Probenmaterial im Assay eingesetzt wird.
- Erkennt eine probenbedingte Hemmung des Echtzeit-PCR-Assays.

- **Sondenprüfungskontrollen (Probe Check Controls, PCC)**

- Vor dem PCR-Schritt wird das Fluoreszenzsignal aller Sonden gemessen und mit den Standardeinstellungen verglichen, um Folgendes zu überwachen:
 - Rehydrierung der Kügelchen
 - Unversehrtheit der Sonden
 - Füllung des Reaktionsbehälters
 - Stabilität des Farbstoffs
- Prüft, ob alle Reaktionskomponenten in der Kartusche funktionsfähig sind.
- Die PCC ist erfolgreich, wenn sie die zugewiesenen Akzeptanzkriterien erfüllt.

Handelsübliche externe Kontrollen

CONTROL

- Bei Fragen zu den externen Kontrollen kontaktieren Sie den technischen Kundendienst per:

E-Mail: support@cepheideurope.com

- Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendienstes von Cepheid finden Sie auf unserer Website:

<http://www.cepheid.com/en/support/contact-us>

Ergebnisinterpretation

Mögliche Ergebnismeldungen

Ergebnis	Interpretation
NPM1-Mutation NACHGEWIESEN (DETECTED)	NPM1-Mutations-Transkript wurde nachgewiesen. <ul style="list-style-type: none">○ NPM1-MUTATION NACHGEWIESEN [#.##%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.##%])○ NPM1-MUTATION NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ])○ NPM1-MUTATION NACHGEWIESEN [Unter LoD; < #,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD, <#.###%])
NPM1-Mutation NICHT NACHGEWIESEN (NPM1 Mutation NOT DETECTED)	NPM1-Mutations-Transkript wurde nicht nachgewiesen.
UNGÜLTIG (INVALID)	Die NPM1-Mutation-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden, da die Probe ein starkes NPM1-Mutation-Transkript und/oder ein starkes oder nicht ausreichendes ABL-Transkript enthält.
FEHLER (ERROR)	Die NPM1-Mutation-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden.
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	Die NPM1-Mutation-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Assay-Ergebnis zu erzielen.

Quantitative Ergebnisse

- Quantitative Ergebnisse von Xpert® NPM1 Mutation werden als prozentuales Verhältnis von NPM1 Mutation/ABL1 angegeben. Den Kits werden chargenspezifische Werte für die Effizienz ($E_{\Delta Ct}$) und ein Skalierungsfaktor (SF) zugewiesen, die die Quantifizierung der NPM1-Mutation (A, B und D) und der ABL1-Transkripte an die Kopienzahlen der synthetischen NPM1-Mutation und der In-vitro transkribierten ABL1-RNA (IVT-RNA) als Primärstandards binden.

NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [#,#%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])

NPM1-Mutation wurde bei einer Konzentration #.# % nachgewiesen.

- Bei einem Ergebnis „**NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [#,#%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.#%])**“ ist die NPM1-Mutation ermittelbar, wenn der Ct-Wert der NPM1-Mutation größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „32“ ist und der Ct-Wert von ABL größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „20“ ist.
- Die GeneXpert Software berechnet den %-Wert anhand der folgenden Gleichung, bei der der Delta-Ct(ΔCt)-Wert durch Subtraktion von NPM1-Mutation Ct vom ABL Ct erhalten wird:

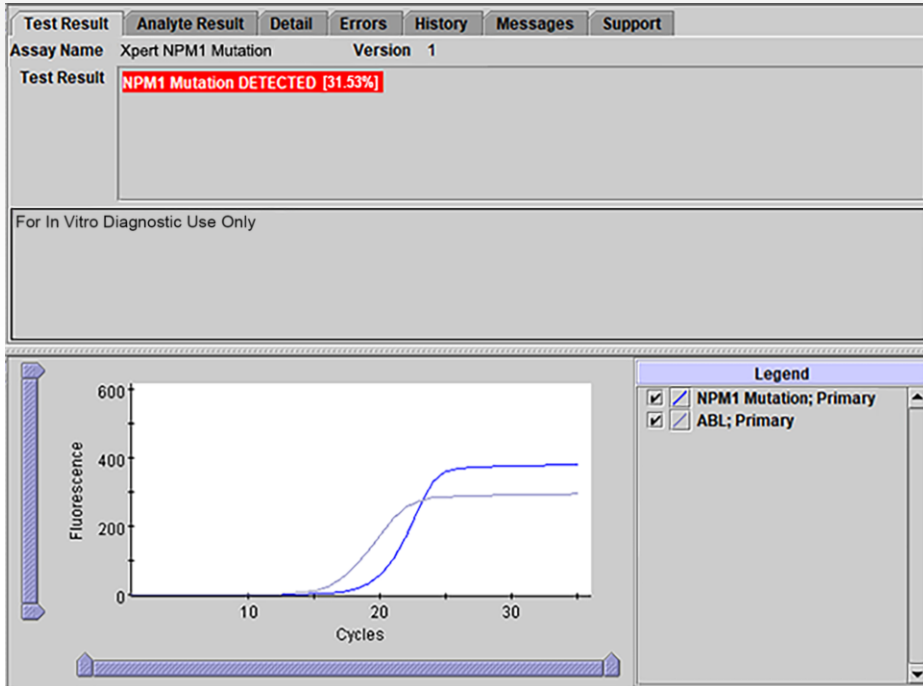
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Skalierungsfaktor}$$

Beim Skalierungsfaktor (*SF*) handelt es sich um einen chargenspezifischen Parameter, der im Barcode der Assay-Kartusche codiert ist. Der Wert dieses Faktors und die chargenspezifische Assay-Effizienz ($E_{\Delta Ct}$) werden im Rahmen von Qualitätskontrolltests für jede Assay-Charge bestimmt, wobei Primärstandards verwendet werden, die auf die Kopienzahlen der synthetischen NPM1-Mutation und der *in vitro* transkribierten ABL1-RNA (IVT-RNA) zur Quantifizierung des NPM1-Mutation-Transkripts kalibriert sind. Im folgenden Beispiel ist der $E_{\Delta Ct}$ -Wert auf 1,95 und der *SF*-Wert auf 1,79 eingestellt:

Beispiel: Chargenspezifischer $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$
Assay ABL Ct = 14,5; NPM1-Mutation Ct = 17,1; $\Delta Ct = -2,6$
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53 \%$

Ergebnis: NPM1 Mutation NACHGEWIESEN [31,53 %] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]).

NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [#,##]% (NPM1 Mutation DETECTED [#.##]%) (Fortsetzung)



- NPM1-Mutation – Nachgewiesen [#.##]%
 - Schwellenwertzyklus (Ct) liegt im gültigen Bereich: $6 \leq C t \leq 32$, und Endpunkt über Schwellenwert (Beispiel: NPM1-Mutation Ct = 17,1)
- ABL – BEST. (PASS)
 - Schwellenwertzyklus (Ct) liegt im gültigen Bereich: $6 \leq C t \leq 20$, und Endpunkt über Schwellenwert (Beispiel: ABL Ct = 14,5)
- Sondenprüfungskontrollen – BEST. (PASS)
 - Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.

NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

NPM1-Mutation wurde bei einer Konzentration > 500 % nachgewiesen.

- Bei einem Ergebnis „**NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**“ ist die NPM1-Mutation nachweisbar, wenn der Ct-Wert der NPM1-Mutation größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „32“ ist und der Ct-Wert von ABL größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „20“ ist.
- Die GeneXpert Software berechnet den %-Wert anhand der folgenden Gleichung, bei der der Delta-Ct(ΔC_t)-Wert durch Subtraktion von NPM1-Mutation Ct vom ABL Ct erhalten wird:

$$\% = E_{\Delta C_t}^{(\Delta C_t)} \times 100 \times \text{Skalierungsfaktor (SF)}$$

Beim Skalierungsfaktor (SF) handelt es sich um einen chargenspezifischen Parameter, der im Barcode der Assay-Kartusche codiert ist. Der Wert dieses Faktors und die chargenspezifische Assay-Effizienz ($E_{\Delta C_t}$) werden im Rahmen von Qualitätskontrolltests für jede Assay-Charge bestimmt, wobei Primärstandards verwendet werden, die auf die Kopienzahlen der synthetischen NPM1-Mutation und der in vitro transkribierten ABL1-RNA (IVT-RNA) zur Quantifizierung des NPM1-Mutation-Transkripts kalibriert sind. Im nächsten dargestellten Beispiel ist der $E_{\Delta C_t}$ -Wert auf 1,95 und der SF-Wert auf 1,79 eingestellt:

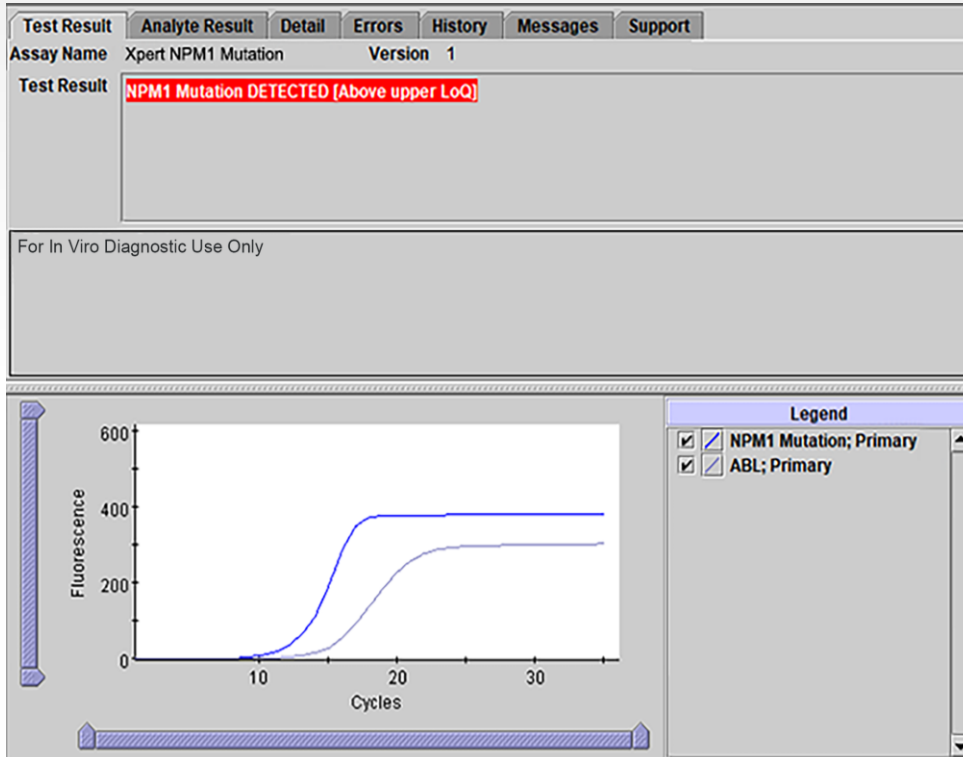
Beispiel: Chargenspezifischer $E_{\Delta C_t} = 1,95$; $SF = 1,79$

Assay ABL Ct = 13,4; NPM1-Mutation Ct = 10,2; $\Delta C_t = 3,2$

$\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1.516,92 \%$ ist größer als die definierte obere LoQ des Assays mit 500 %

Ergebnis: NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).

NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [Über oberer LoQ] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]) (Fortsetzung)



NPM1-Mutation wurde bei einer Konzentration > 500 % nachgewiesen.

- NPM1-MUTATION – Nachgewiesen [Über oberer LoQ] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ])
 - Schwellenwertzyklus (Ct) liegt im gültigen Bereich: $6 \leq Ct \leq 32$, und Endpunkt über Schwellenwert (Beispiel: NPM1-Mutation Ct = 10,2)
- ABL – BEST. (PASS)
 - Schwellenwertzyklus (Ct) liegt im gültigen Bereich: $6 \leq Ct \leq 20$, und Endpunkt über Schwellenwert (Beispiel: ABL Ct = 13,4)
- Sondenprüfungskontrollen – BEST. (PASS)
 - Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.

NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [Unter LoD, < 0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, < 0.030%])

NPM1-Mutation wurde bei einer Konzentration von < 0,030 % nachgewiesen.

- Bei einem Ergebnis „**NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [Unter LoD, < 0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, <0.030%])**“ ist die NPM1-Mutation nachweisbar, wenn der Ct-Wert der NPM1-Mutation größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „32“ ist und der Ct-Wert von ABL größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „20“ ist.
- Die GeneXpert Software berechnet den %-Wert anhand der folgenden Gleichung, bei der der Delta-Ct(ΔCt)-Wert durch Subtraktion von NPM1-Mutation Ct vom ABL Ct erhalten wird:

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

Beim Skalierungsfaktor (*SF*) handelt es sich um einen chargenspezifischen Parameter, der im Barcode der Assay-Kartusche codiert ist. Der Wert dieses Faktors und die chargenspezifische Assay-Effizienz ($E_{\Delta Ct}$) werden im Rahmen von Qualitätskontrolltests für jede Assay-Charge bestimmt, wobei Primärstandards verwendet werden, die auf die Kopienzahlen der synthetischen NPM1-Mutation und der *in vitro* transkribierten ABL1-RNA (IVT-RNA) zur Quantifizierung des NPM1-Mutation-Transkripts kalibriert sind. Im folgenden Beispiel ist der $E_{\Delta Ct}$ -Wert auf 1,95 und der *SF*-Wert auf 1,79 eingestellt:

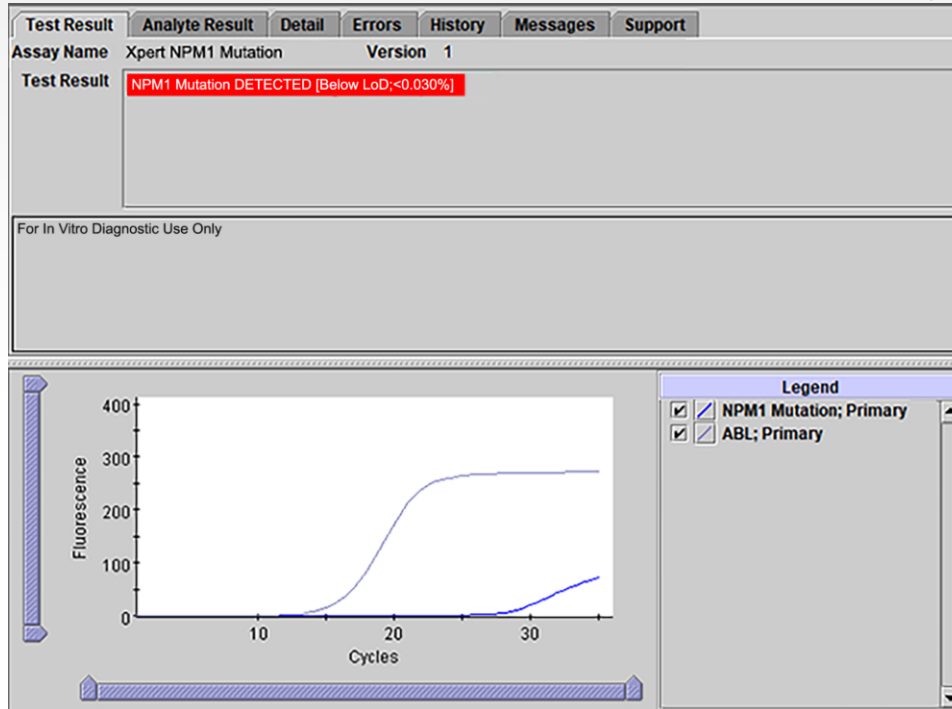
Beispiel: Chargenspezifischer $E_{\Delta Ct} = 1,95$; $SF = 1,79$

Assay ABL Ct = 14,3; NPM1-Mutation Ct = 28,8; $\Delta Ct = -14,5$

$\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011 \%$ ist kleiner als die definierte LoD des Assays mit 0,030 %

Ergebnis: NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [Unter LoD; < 0,030 %] NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])

NPM1-Mutation NACHGEWIESEN [Unter LoD, < 0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, <0.030%]) (Fortsetzung)



NPM1-Mutation wurde bei einer Konzentration von < 0,030 % nachgewiesen.

- NPM1-Mutation – Nachgewiesen [Über oberer LoQ] (NPM1 Mutation detected [Above upper LoQ])
 - Schwellenwertzyklus (Ct) liegt im gültigen Bereich: $6 \leq Ct \leq 32$, und Endpunkt über Schwellenwert (Beispiel: NPM1-Mutation Ct = 28,8)
- ABL – BEST. (PASS)
 - Schwellenwertzyklus (Ct) liegt im gültigen Bereich: $6 \leq Ct \leq 20$, und Endpunkt über Schwellenwert (Beispiel: ABL Ct = 14,3)
- Sondenprüfungskontrollen – BEST. (PASS)
 - Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.

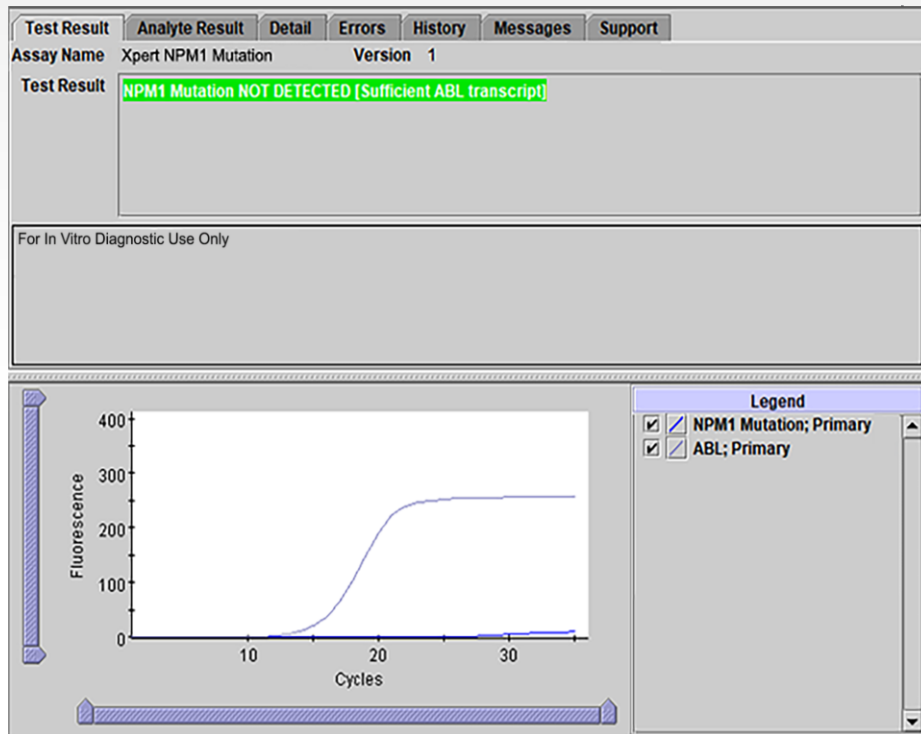
NPM1-Mutation NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

- NPM1-Mutation wurde nicht nachgewiesen; NPM1 Ct war gleich „0“ oder größer als „32“ und ABL Ct war größer „6“ und kleiner oder gleich „20“.
- Die GeneXpert Software erfordert einen ABL Ct größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „20“ für den Xpert NPM1 Mutation Test, um ein „Ausreichendes ABL-Transkript“ zu gewährleisten.

Beispiel: Assay NPM1-Mutation Ct = 0; ABL Ct = 14,0 ist zwischen „6“ und „20“.

Ergebnis: NPM1-Mutation NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).

NPM1-Mutation NICHT NACHGEWIESEN [ABL-Transkript ausreichend] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) Fortsetzung



- NPM1-Mutation – Nicht nachgewiesen (NPM1 Mutation NOT DETECTED)
 - Kein Schwellenwertzyklus (Ct) oder Ct = 0; oder Endpunkt unter dem eingestellten Schwellenwert (Beispiel: NPM1-Mutation Ct = 0)
- ABL – BEST. (PASS)
 - Schwellenwertzyklus (Ct) liegt im gültigen Bereich: $6 \leq Ct \leq 20$, und Endpunkt über Schwellenwert (Beispiel: ABL Ct = 14,0)
- Sondenprüfungskontrollen – BEST. (PASS)
 - Alle Ergebnisse mit Sondenprüfung waren erfolgreich.

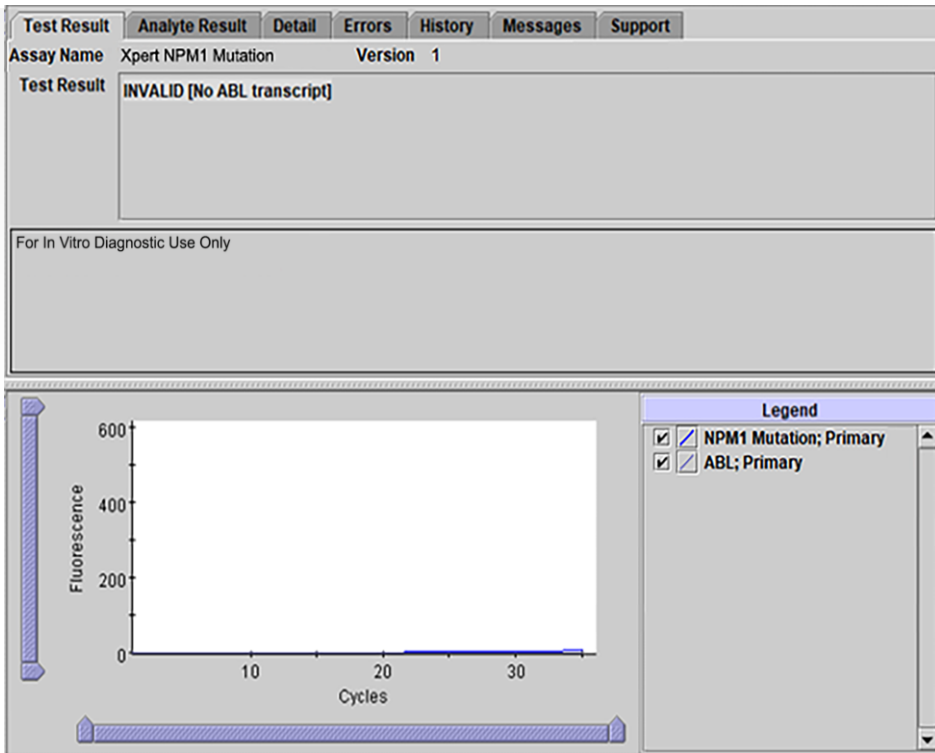
Fehlerbehebung



Faktoren mit negativem Einfluss auf die Ergebnisse

- Unsachgemäße Probenentnahme
 - Die Leistung dieses Assays bei Verwendung anderer Probentypen oder Proben wurde nicht untersucht.
- Unsachgemäßer Transport oder unsachgemäße Lagerung der entnommenen Probe
 - Die Lagerungs- und Transportbedingungen sind probenspezifisch.
 - Anweisungen zur sachgemäßen Handhabung sind der Gebrauchsanweisung zu entnehmen.
- Unsachgemäßes Testverfahren.
 - Änderungen an den Testverfahren können die Leistung des Tests beeinträchtigen.
 - Die Gebrauchsanweisung ist sorgfältig zu befolgen, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden.

UNGÜLTIG [Kein ABL-Transkript] (INVALID [No ABL transcript])



NPM1-Mutation wurde nachgewiesen oder nicht nachgewiesen und ABL Ct war gleich „0“.

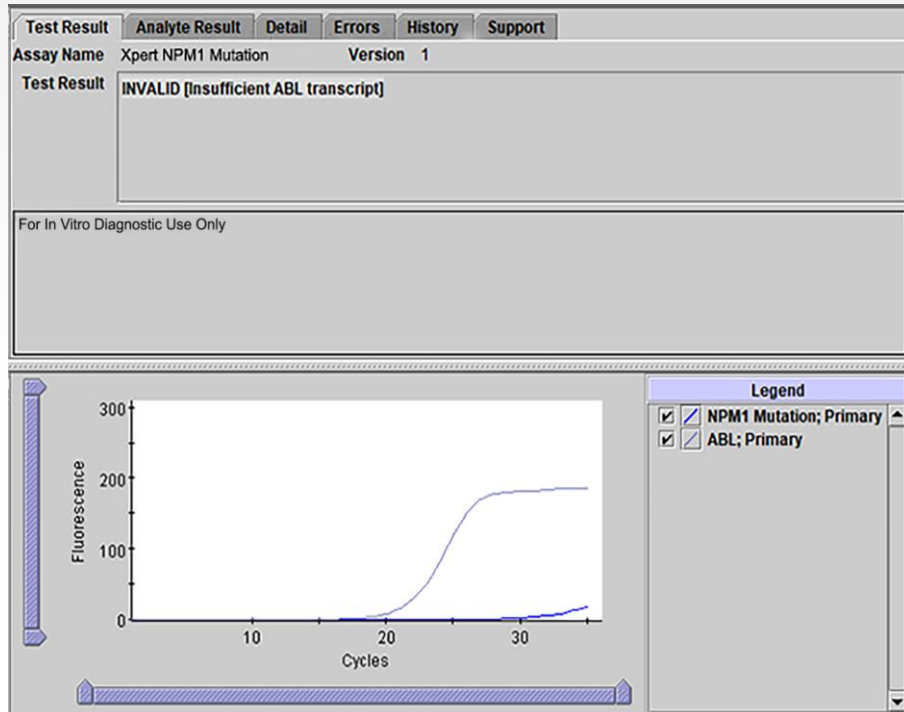
- The GeneXpert Software erfordert einen ABL Ct größer ODER gleich „6“ UND kleiner oder gleich „20“.

Beispiel: Assay NPM1-Mutation Ct = 0

ABL Ct = 0

**Ergebnis: UNGÜLTIG [Kein ABL-Transkript]
(INVALID [No ABL transcript])**

UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript])



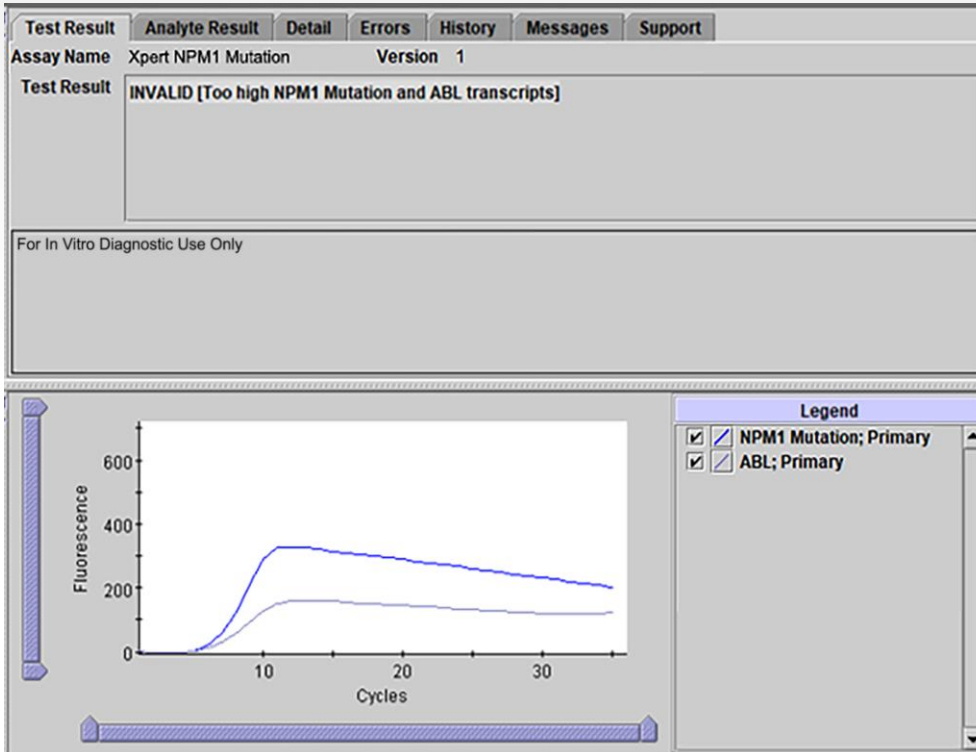
NPM1-Mutation wurde nachgewiesen oder nicht nachgewiesen und der ABL-Ct war größer als „20“.

- Die GeneXpert Software erfordert einen ABL Ct größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „20“ für den Xpert NPM1 Mutation Test, um ein „Ausreichendes ABL-Transkript“ zu gewährleisten.

Beispiel: Assay NPM1-Mutation Ct = 33,3;
ABL Ct = 20,2 ist größer als „20“.

Ergebnis: UNGÜLTIG [ABL-Transkript nicht ausreichend] (INVALID [Insufficient ABL transcript]).

UNGÜLTIG [Zu hohe NPM1-Mutation und ABL-Transkripte] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])



NPM1-Mutation wurde sowohl bei einer NPM1-Mutation als auch bei ABL Cts größer als „0“ und kleiner als „6“ nachgewiesen.

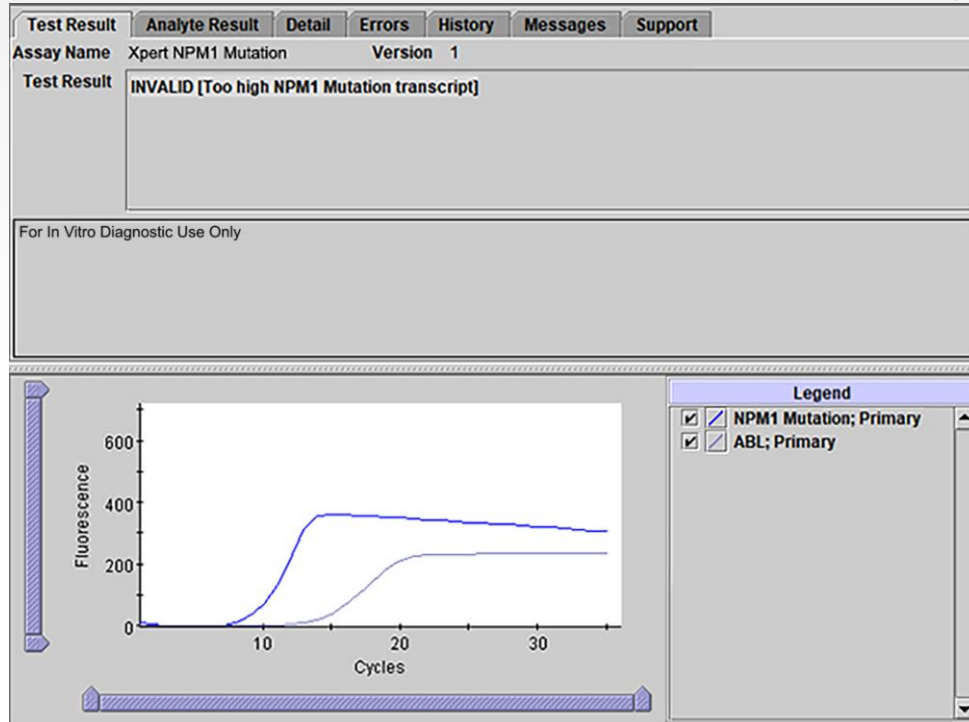
Die GeneXpert Software erfordert einen ABL Ct größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „20“ für den Xpert NPM1 Mutation Test, um ein „Ausreichendes ABL-Transkript“ zu gewährleisten.

Beispiel: Assay NPM1-Mutation Ct = 5,4 ist größer als „0“ und kleiner als „6“;

ABL Ct = 5,9 ist kleiner als „6“.

Ergebnis: UNGÜLTIG [Zu hohes NPM1-Mutation-Transkript] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]).

UNGÜLTIG [Zu hohe NPM1-Mutation-Transkripte] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])



NPM1-Mutation wurde nachgewiesen mit NPM1-Mutation Ct größer als „0“ und kleiner oder gleich „6“ und ABL Ct größer als „6“ und kleiner oder gleich „20“.

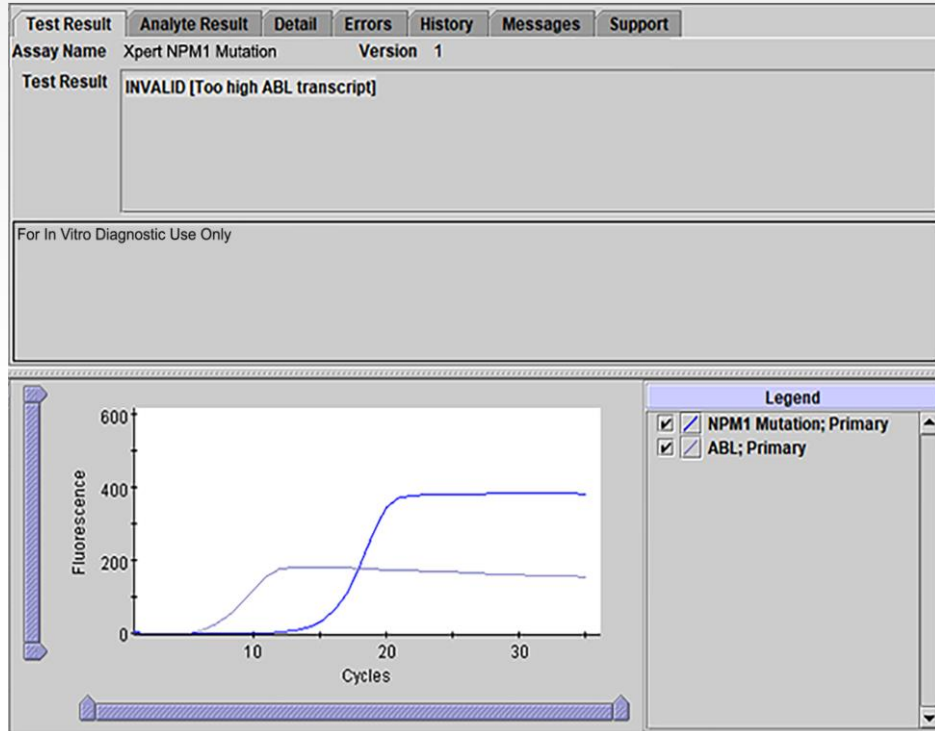
- Die GeneXpert Software erfordert einen ABL Ct größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „20“ für den Xpert NPM1 Mutation Test, um ein „Ausreichendes ABL-Transkript“ zu gewährleisten.

Beispiel: Assay NPM1-Mutation Ct = 5,8 ist größer als „0“ und kleiner als „6“;

ABL Ct = 13 ist zwischen „6“ und „20“.

Ergebnis: UNGÜLTIG [Zu hohes NPM1-Mutation-Transkripte] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts]).

UNGÜLTIG [Zu hohe ABL-Mutation-Transkripte] (INVALID [Too high ABL Mutation transcripts])



NPM1-Mutation wurde nachgewiesen mit NPM1-Mutation Ct größer als „6“ und kleiner oder gleich „32“ und ABL Ct nicht gleich „0“ und kleiner als „6“.

- Die GeneXpert Software erfordert einen ABL Ct größer oder gleich „6“ und kleiner oder gleich „20“ für den Xpert NPM1 Mutation Test, um ein „Ausreichendes ABL-Transkript“ zu gewährleisten.

Beispiel: Assay NPM1-Mutation Ct = 13,2;
ABL Ct = 5,8 ist kleiner als „6“.

Ergebnis: UNGÜLTIG [ABL-Transkript zu hoch] (INVALID [Too high ABL transcript]).

FEHLER (ERROR) – Code 2008, 5006, 5007, 5008, 5009 usw.

ERROR

The screenshot shows a software interface with a top navigation bar containing tabs: Test Result, Analyte Result, Detail, Errors, History, and Support. Below the navigation bar, the 'Assay Name' is 'Xpert NPM1 Mutation' and the 'Version' is '1'. The 'Test Result' field displays the word 'ERROR' in a yellow box. Below this, there is a section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only' which is currently empty. At the bottom of the main content area, the text '<No Data Available>' is centered.

Die BCR-ABL-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden.

Mögliche Ursachen

- Sondenprüfung fehlgeschlagen
- Der Druck übersteigt den zulässigen Wert (Fehlermeldung 2008)

Lösung

- Überprüfen Sie die Qualität der Probe
- Prüfen Sie, ob die Leukozytenzahl deutlich erhöht ist
- Den Assay mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückgehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen.
- Testwiederholung gemäß Verfahren für Fehler (Error) 2008/Ungültig (Invalid) → **Typ 2** ODER Fehler (Error) 5006,5007,5008,5009,/Ungültig (Invalid) → **Typ 1**

KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)

NO RESULT

Die NPM1-Mutation-Transkript-Konzentration kann nicht bestimmt werden. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Assay-Ergebnis zu erzielen. Dies könnte beispielsweise auftreten, falls der Benutzer einen laufenden Assay abgebrochen hat.

- NPM1-Mutation KEIN ERGEBNIS (NPM1 Mutation NO RESULT)
- ABL KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)
- Sondenprüfung KA (NA) (keine Angabe)

Lösung

- Den Assay mit der Originalprobe (sofern vorhanden) oder zurückgehaltenem Lysat und einer neuen Kartusche wiederholen.
- Testwiederholung gemäß Verfahren für Fehler (Error) oder Ungültig (Invalid) **(Typ 1)**

Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1)

- Proben bei den Ergebnissen FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) erneut testen, wenn als Ursache der ABL-Zyklusschwellwert (Ct) den maximalen gültigen Ct-Grenzwert ($Ct > 20$) überschreitet oder der Endpunkt unterhalb des eingestellten Schwellenwerts (< 100) liegt.

Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1) Ausreichendes Probenmaterial

Lysat- und Kartuschenvorbereitung

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NPM1 Mutation

Ausführliche Anweisungen, Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise sind der Packungsbeilage zu entnehmen.

Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblatts ist erhältlich unter www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com


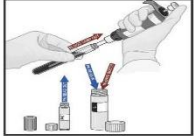

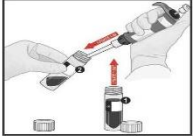




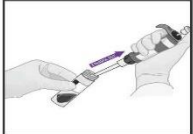



Technischer Kundendienst von Cepheid
Büro USA +1 (888) 838-3222, Option 2
techsupport@cepheid.com
Büro Europa +33 563 82 53 19

Folgende Komponenten 20 Minuten vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur (20 °C–30 °C) kommen lassen:

- Blutprobe
- Kartusche
- Reagenzien zur Probenvorbereitung



Hier starten

- 1 EDTA-Vollblut und Reagenzien zur Probenvorbereitung zu dem Kühlschrank nehmen. EDTA-Vollblut auf den Wippschüttler stellen oder 8 Mal umdrehen, bevor die Probe entnommen wird.
- 2 PK-Reagenz kurz zentrifugieren. 100 µl PK-Reagenz in ein konisches 50-ml-Röhrchen geben. Anschließend 4 ml gut durchmisches EDTA-Vollblut in das gleiche konische 50-ml-Röhrchen geben. 3 s im Vortexer mischen und 1 min bei RT inkubieren.
- 3 2,5 ml Lysereagenz (LY) in das gleiche Röhrchen geben, 10 s im Vortexer mischen und 5 min bei RT inkubieren. Erneut 10 s im Vortexer mischen und zum 2. Mal 5 min inkubieren. Röhrchen zum Mischen 10x leicht aufstoßen.
- 4 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen. Verbleibendes Lysat für eine eventuelle Testwiederholung aufbewahren.
- 5 1,5 ml Lysereagenz (LY) in das neue konische Röhrchen mit dem vorbereiteten Lysat geben. 10 s im Vortexer mischen und 10 min bei RT inkubieren.
- 6 2 ml absolutes EtOH von Reagenzqualität in das gleiche konische Röhrchen geben. 10 s im Vortexer mischen und beiseite stellen. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz verworfen.
- 7 Den Deckel der Xpert Testkartusche öffnen.
- 8 Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen (mit der schmalen Öffnung).
- 9 Den gesamten Inhalt des endgültigen vorbereiteten Lysats aus dem konischen Röhrchen pipettieren.
- 10 Die vorbereitete Probe (~4,5 ml) vollständig in die Probenkammer transferieren.
- 11 Den Deckel der Xpert Kartusche schließen.
- 12 Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.

© 2015–2023 Cepheid. Alle Rechte vorbehalten.

CE IVD In-vitro-Diagnostikum In-vitro-Diagnostikum. Möglicherweise nicht in allen Ländern erhältlich. Nicht in den USA erhältlich.

301-4954-DE, Rev. E Feb. 2023

Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 1) Kein ausreichendes Probenmaterial

- Wird das zurückbehaltene Lysat eingefroren aufbewahrt, muss es vor Gebrauch auf Raumtemperatur aufgetaut werden.
- Sicherstellen, dass das Lysat gut vermischt ist, indem die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischt wird. Dann das Lysat 3 Minuten lang beiseite stellen, damit sich die Blasen absetzen können. 1 ml des verbliebenen Lysats in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen. Dann **hier starten**

Lysat- und Kartuschenvorbereitung

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NPM1 Mutation

Ausführliche Anweisungen, Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise sind der Packungsbeilage zu entnehmen.

Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblatts ist erhältlich unter www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com

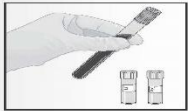
Technischer Kundendienst von Cepheid
Büro USA +1 (888) 838-3222; Option 2
techsupport@cepheid.com
Büro Europa +33 563 82 53 19

Folgende Komponenten 20 Minuten vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur (20 °C–30 °C) kommen lassen:

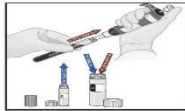
- Blutprobe
- Kartusche
- Reagenzien zur Probenvorbereitung



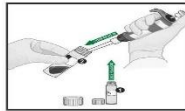
1 EDTA Vollblut und Reagenzien zur Probenvorbereitung aus dem Kühlschrank nehmen. EDTA-Vollblut auf den Wippschüttler stellen oder 8 Mal umdrehen, bevor die Probe entnommen wird.



2 PK-Reagenz kurz zentrifugieren. 100 µl PK-Reagenz in ein konisches 50-ml-Röhrchen geben. Anschließend 4 ml gut durchmisches EDTA-Vollblut in das gleiche konische 50-ml-Röhrchen geben. 3 s im Vortexer mischen und 1 min bei RT inkubieren.



3 2,5 ml Lysereagenz (LY) in das gleiche Röhrchen geben, 10 s im Vortexer mischen und 5 min bei RT inkubieren. Erneut 10 s im Vortexer mischen und zum 2. Mal 5 min inkubieren. Röhrchen zum Mischen 10x leicht aufstoßen.



4 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen. Verbleibendes Lysat für eine eventuelle Testwiederholung aufbewahren.



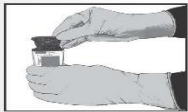
5 1,5 ml Lysereagenz (LY) in das neue konische Röhrchen mit dem vorbereiteten Lysat geben. 10 s im Vortexer mischen und 10 min bei RT inkubieren.



6 2 ml absolutes EtOH von Reagenzqualität in das gleiche konische Röhrchen geben. 10 s im Vortexer mischen und beiseite stellen. Restmengen von PK- bzw. LY-Reagenz verwerfen.



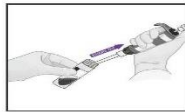
7 Den Deckel der Xpert Testkartusche öffnen.



8 Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz in Kammer 1 überführen (mit der schmalen Öffnung).



9 Den gesamten Inhalt des endgültigen vorbereiteten Lysats aus dem konischen Röhrchen pipettieren.



10 Die vorbereitete Probe (~4,5 ml) vollständig in die Probenkammer transferieren.



11 Den Deckel der Xpert Kartusche schließen.



12 Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.



Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2)

- Proben mit einer NPM1-Mutation und/oder ABL-Transkript-Konzentration unter dem gültigen Ct-Minimum ($Ct > 0$ und $Ct < 6$) oder bei Überschreitung des Druckgrenzwerts erneut testen.

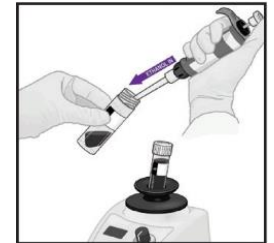
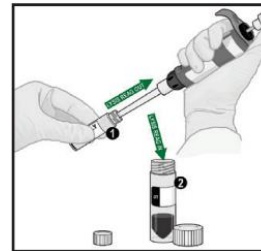
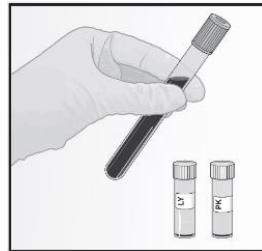
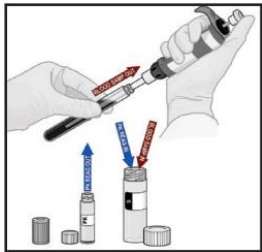
Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2) – Ausreichend Blut verfügbar

1. Auf den Boden eines neuen konischen 50-ml-Röhrchens 100 μl PK (Proteinase K) hinzufügen. Sicherstellen, dass die Blutprobe gut vermischt ist, indem Sie das EDTA-Blutsammelröhrchen unmittelbar vor dem Pipettieren 8 Mal invertieren.

2. 250 μl der Blutprobe und 3,75 ml PBS (pH 7,4, vom Benutzer bereitgestellt) hinzufügen. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen. 1 Minute lang bei Raumtemperatur inkubieren.

3. In dasselbe Röhrchen 2,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Raumtemperatur 5 Minuten lang inkubieren. Die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Raumtemperatur 5 Minuten lang inkubieren. Die Probe vermischen, indem 10-mal an den Boden des Röhrchens geklopft wird. 1 ml vorbereitetes Lysat in ein neues konisches 50-ml-Röhrchen überführen.

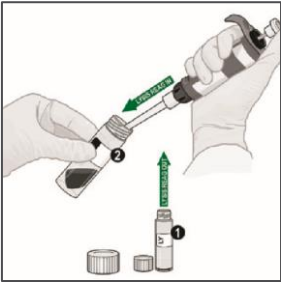
4. In dasselbe konische Röhrchen 1,5 ml Lysereagenz (LY) hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.



Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2) – Ausreichend Blut verfügbar

Fortsetzung

5. In das gleiche konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität (vom Benutzer bereitgestellt) geben.



6. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Beiseite stellen.



7. Die Kartusche aus der Kartonverpackung nehmen.

8. Die Kartusche auf Beschädigungen überprüfen. Falls die Kartusche beschädigt ist, darf sie nicht verwendet werden.

9. Den Kartuschendeckel öffnen. Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz (1) in die Waschreagenzkammer (mit der schmalen Öffnung) überführen.

10. Den gesamten Inhalt der vorbereiteten Probe in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren.

11. Den Deckel der Xpert® Kartusche schließen.

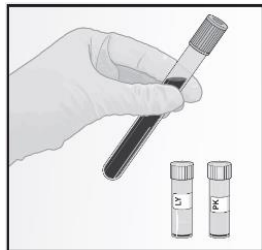
12. Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.

Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2) – Lysat

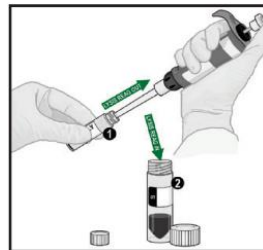
- Wird das zurückbehaltene Lysat eingefroren aufbewahrt, muss es vor Gebrauch auf Raumtemperatur aufgetaut werden.
- Wird das zurückbehaltene Lysat gekühlt aufbewahrt, muss es vor Gebrauch auf Zimmertemperatur gebracht werden.

Sicherstellen, dass das Lysat gut vermischt ist, indem die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischt wird. Dann das Lysat 3 Minuten lang beiseite stellen, damit sich die Blasen absetzen können.

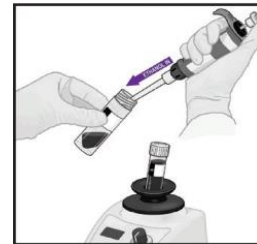
1. Auf den Boden eines neuen konischen 50-ml-Röhrchens 100 μ l PK (Proteinase K) hinzufügen.



2. Zum Röhrchen, das bereits Proteinase K enthält, 60 μ l des verbleibenden Lysats hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 3 Sekunden lang vermischen. 1 Minute lang bei Raumtemperatur inkubieren.

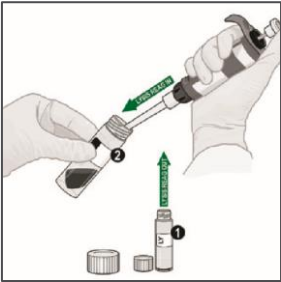


3. Dem neuen konischen Röhrchen mit Lysat 2,5 ml Lyserreagenz (LY) hinzugeben. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Bei Raumtemperatur 5 Minuten lang inkubieren. Die Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.



Testwiederholung bei FEHLER (ERROR) (Code 2008) oder UNGÜLTIG (INVALID) (Typ 2) – Lysat Fortsetzung

4. In das gleiche konische Röhrchen 2 ml reines Ethanol in Reagenzqualität (vom Benutzer bereitgestellt) geben.



5. Probe mit einem Vortex-Mixer auf der Maximaleinstellung kontinuierlich 10 Sekunden lang vermischen. Beiseite stellen.



6. Den Kartuschendeckel öffnen. Den gesamten Inhalt der Ampulle mit Waschreagenz (1) in die Waschreagenzkammer (mit der schmalen Öffnung) überführen.

7. Den gesamten Inhalt der vorbereiteten Probe in die Probenkammer (große Öffnung) pipettieren.

8. Den Deckel der Xpert® Kartusche schließen.

9. Den Test innerhalb des in der Packungsbeilage angegebenen Zeitrahmens beginnen.

Testwiederholung

1



Die gebrauchte Kartusche entsorgen. Zur Entsorgung der Kartuschen die Sicherheitsvorschriften der jeweiligen Einrichtung befolgen.

2



Anweisungen zur Testwiederholung für die Verfahren vom Typ 1 und Typ 2 sind der Gebrauchsanweisung zu entnehmen.

Für die Testwiederholung können übrig gebliebene Blutproben oder zurückbehaltenes Lysat verwendet werden.

3



Eine neue Kartusche beschaffen.

Die Probe gemäß der Gebrauchsanweisung bearbeiten.

4



Den Test auf dem System durchführen.

Technische Unterstützung

- Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:
 - Produktname
 - Chargenbezeichnung
 - Seriennummer des Systems
 - Fehlermeldungen (sofern zutreffend)
 - Softwareversion
- Beschwerden können auch online unter dem folgenden Link vorgebracht werden: <http://www.cepheid.com/en/support>: *Supportfall erstellen*



Vielen Dank

www.Cepheid.com