

# Formación técnica Xpert® NPM1 Mutation

*Número de catálogo (GXNPM1-CE-10)  
Para uso de CE-IVD exclusivamente*



# Objetivos de la formación

*Al final de la formación, el usuario podrá realizar las siguientes acciones:*

- Conservar y manipular correctamente el kit del cartucho Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation
- Tomar las precauciones de seguridad de laboratorio adecuadas
- Recoger y transportar las muestras apropiadas
- Preparar un cartucho y ejecutar la prueba Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation
- Notificar los diversos resultados generados por el software
- Comprender la estrategia de control de Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

# Programa de la formación

- 1 Información general
- 2 Manipulación del kit
- 3 Recogida de muestras
- 4 Preparación del cartucho
- 5 Controles de calidad
- 6 Interpretación de los resultados
- 7 Resolución de problemas



# Información general

---



# La solución de Cepheid



- Detección cuantitativa
- Controles internos incorporados para cada muestra
  - Control de comprobación de la sonda (PCC)
  - Control endógeno ABL
- Resultados en menos de 3 horas
- Aproximadamente 30 minutos de preparación de la muestra y **menos de 2,5 horas** de tiempo de ejecución del ensayo
- Sistema de cartucho cerrado que reduce al mínimo el riesgo de contaminación
- Resultados a demanda
- Acceso aleatorio

# Uso previsto

- La prueba Xpert® NPM1 Mutation, realizada en el Cepheid GeneXpert® Dx System, es una prueba diagnóstica *in vitro* para la detección cuantitativa de transcritos de ARNm de NPM1 mutante (tipos A, B y D en el exón 12) en muestras de sangre periférica de pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA).
- La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real y automatizada, y notifica la proporción de transcritos del ARNm de control endógeno de NPM1 a ABL1 mutante.
- La prueba también está indicada como ayuda en el seguimiento de pacientes con LMA con mutación en NPM1 para conocer los niveles de transcritos del ARNm de NPM1 mutante. La prueba debe utilizarse junto con otros factores clinicopatológicos.
- La prueba Xpert® NPM1 Mutation no diferencia entre los transcritos de NPM1 mutante de tipo A, B y D, y no detecta ni controla otros tipos poco frecuentes de NPM1 mutante.
- Esta prueba no está indicada para el diagnóstico de LMA.

# Usuario/entorno previsto

- La prueba Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation está indicada para que la utilicen usuarios que hayan recibido formación en un entorno de laboratorio.

# Dianas

- Transcritos de ARNm de NPM1 mutante, tipos A, B y D en el exón 12
- Control endógeno ABL1

# Requisitos para Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation

## Sistemas GeneXpert<sup>®</sup>

- Software GeneXpert Dx **v6.2** o posterior

## Kits de pruebas

- Número de catálogo (GXNPM1-CE-10)

## Recogida de muestras

- Sangre periférica recogida en tubos con EDTA

## Otros materiales

- Equipo de protección individual (EPI)
- Lejía/Hipoclorito de sodio 1:10 (0,5 % de concentración final, preparada nueva cada día)
- Etanol desnaturalizado o etanol al 70 %
- Mezclador vórtex
- Microcentrífuga (1000 x g mínimo)
- Pipetas y puntas de pipeta con filtro de aerosoles
- Tubos cónicos de 50 ml
- Etanol absoluto para reactivos
- PBS 1x, pH 7,4

## Otros materiales

- Sistema de alimentación ininterrumpida/Protector contra sobretensiones
- Impresora Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.

# Revisión de las buenas prácticas de laboratorio

## Equipo de protección individual (EPI)

- Use guantes, gafas de seguridad y batas de laboratorio limpios.
- Cámbiense los guantes cada vez que procese muestras.

## Área de la mesa del laboratorio

- Limpie las superficies de trabajo de forma habitual con:
  - ✓ Dilución 1:10 de lejía de uso doméstico\*
  - ✓ Solución de etanol al 70 %
- Después de la limpieza, asegúrese de que las superficies de trabajo estén secas.

## Conservación de muestras y kits

- Conserve las muestras separadas del kit para prevenir la contaminación.

## Equipo

- Utilice puntas de pipeta con filtro cuando se recomiende.
- Siga los requisitos del fabricante para la calibración y el mantenimiento del equipo.

\* La concentración de cloro activo final deberá ser del 0,5 %, independientemente de la concentración de la lejía de uso doméstico en su país.

# Manipulación del kit

---



# Contenido del kit Xpert® NPM1 Mutation

Número de catálogo

GXNPM1-CE-10

Cartuchos\* por kit

10

Viales de reactivo (10 cada)

Proteínasa K (PK)  
Reactivo de lisis (LY) (cloruro de guanidinio)  
Reactivo de lavado

Archivo de definición del ensayo (ADF) de Xpert NPM1 Mutation

CD del kit

Instrucciones de importación de Xpert NPM1 Mutation

Instrucciones de uso

Conservación

2-8 °C



\* Los cartuchos contienen sustancias químicamente peligrosas; consulte las instrucciones de uso y la ficha de datos de seguridad para obtener información más detallada.

# Conservación y manipulación del kit

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

# Advertencias y precauciones



- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos y reactivos usados, como posibles agentes transmisores de infecciones.
- Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales.
- Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)<sup>6</sup> y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).<sup>7</sup>
- Siga los procedimientos de seguridad establecidos por su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- La eficacia diagnóstica de esta prueba solo se ha establecido para sangre recogida en tubos con EDTA. El funcionamiento del ensayo no se ha evaluado con otros tipos de muestras.

6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (consultar la última edición). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar la última edición).

# Advertencias y precauciones (continuación)



- La fiabilidad de los resultados depende de la realización correcta de la recogida, el transporte, la conservación y el procesamiento de las muestras. El ensayo puede arrojar resultados incorrectos si las muestras no se recogen, manipulan y conservan correctamente, si hay errores técnicos, si se confunden las muestras o si los transcritos diana en la muestra son inferiores al límite de detección del ensayo. Para evitar resultados erróneos es necesario seguir estrictamente las instrucciones de uso y el *Manual del operador del sistema GeneXpert® Dx*.
- Si la prueba Xpert® NPM1 Mutation se realiza fuera del tiempo o los intervalos de temperatura de almacenamiento de la muestra o el kit recomendados, es posible que se obtengan resultados erróneos o no válidos.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos, y requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden presentar características propias de los residuos químicos peligrosos, que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos usados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) relativas a la manipulación y eliminación de residuos médicos.<sup>8</sup>

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

# Limitaciones para Xpert® NPM1 Mutation

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

# Recogida, conservación y transporte de muestras

---

# Transporte y conservación de muestras

- Las muestras de sangre periférica deben recogerse en tubos con EDTA, siguiendo las directrices del centro.
- No debe separarse el plasma de las células.

---

Tipo de muestra

Conservación

---

Muestra de sangre total

2-8 °C durante un máximo  
de 3 días

---

# Preparación del cartucho

# Técnicas correctas de manipulación del cartucho

## Correcto

- No toque el tubo de reacción
- Mantenga el cartucho en posición vertical
- No lo incline después de añadir la muestra



## Incorrecto



# Antes de iniciar el procedimiento...

- Veinte (20) minutos antes de iniciar el procedimiento, saque la muestra de sangre, los reactivos de preparación de la muestra y los cartuchos de su lugar de almacenamiento en refrigeración y espere a que se equilibren a la temperatura ambiente.
- Centrifugue brevemente la proteinasa K (PK) en una microcentrífuga.
- Inicie la prueba en **la hora** siguiente a la adición de la muestra tratada con reactivo para muestras al cartucho.
- Saque el cartucho del envase de cartón antes de preparar la muestra.

# Preparación del cartucho de Xpert® NPM1 Mutation: muestra con recuento de LEU desconocido O BIEN <30 millones de LEU/ml

## Preparación de lisados y cartuchos

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NMP1 Mutation

Consulte el prospecto, donde encontrará instrucciones, precauciones y advertencias detalladas.

Para obtener un ejemplar de la SDS (hoja de datos de seguridad), visite [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) o [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

Servicio técnico de Cepheid  
**Oficina en EE. UU.**  
+1 (888) 838-3222, Opción 2  
[techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

**Oficina en Europa** +33 563 82 53 19

20 minutos antes de iniciar el procedimiento, deje que lo siguiente alcance la temperatura ambiente (20 °C - 30 °C)

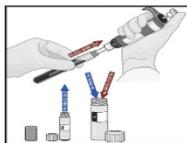
- muestra de sangre
- cartucho
- reactivos de preparación de muestras



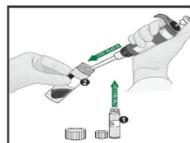
- 1 Extraiga del frigorífico la sangre total con ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) y los reactivos de preparación de la muestra. Coloque la sangre con EDTA en el agitador de balanceo o inviértala 8 veces antes de extraer la muestra.



- 2 Centrifugue brevemente el reactivo de piruvato-quinasa (PK). En un tubo cónico de 50 ml, vierta 100 µl de reactivo PK. A continuación, añada 4 ml de sangre total con EDTA bien mezclada a ese mismo tubo cónico de 50 ml. Sometalo a la agitadora vorticial durante 3 segundos e incúbelo 1 minuto a temperatura ambiente (TA).



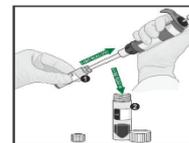
- 3 Añada 2,5 ml de reactivo de lisis (LY) al mismo tubo, sométalo a la agitadora vorticial durante 10 segundos e incúbelo 5 minutos a TA. Sometalo de nuevo a la agitadora vorticial durante 10 segundos e incúbelo una segunda vez 5 minutos. Mézclelo dando golpes suaves en el tubo 10 veces.



- 4 Transfiera 1 ml del lisado preparado a un nuevo tubo cónico de 50 ml. Conserve el lisado restante por si hay que repetir la prueba.



- 5 Añada 1,5 ml de reactivo de lisis (LY) al nuevo tubo cónico donde se encuentre el lisado preparado previamente. Sometalo a la agitadora vorticial durante 10 segundos e incúbelo 10 minutos a TA.



- 6 Añada al mismo tubo cónico 2 ml de etanol puro de calidad analítica. Agítelo en una mezcladora vorticial durante 10 s y déjelo aparte. Deseche los reactivos PK o LY sobrantes.



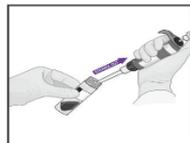
- 7 Abra la tapa del cartucho de prueba Xpert.



- 8 Transfiera todo el contenido de la ampolla de reactivo de lavado a la cámara 1 (que tiene la abertura pequeña).



- 9 Pipetee todo el contenido del lisado preparado final para extraerlo del tubo cónico.



- 10 Transfiera todo el contenido (~4,5 ml) de la muestra preparada a la cámara de muestras.



- 11 Cierre la tapa del cartucho Xpert.



- 12 Inicie la prueba dentro del período especificado en el prospecto.



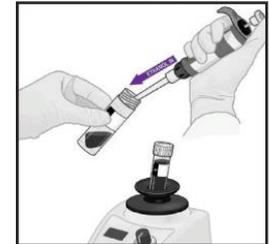
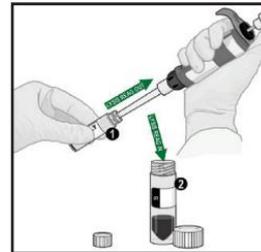
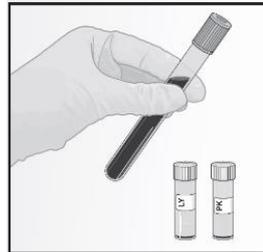
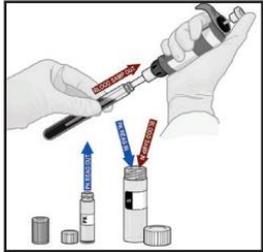
# Preparación del cartucho de Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation: muestra con recuento de LEU igual o superior a 30 millones de LEU/ml

1. Añada **100 µl** de PK (proteínasa K) al fondo de un tubo cónico nuevo de 50 ml. Asegúrese de que la muestra de sangre esté bien mezclada, invirtiendo el tubo de recogida de sangre con EDTA 8 veces inmediatamente antes de pipetear.

2. Añada **250 µl** de muestra de sangre y **3,75 ml** de PBS 1x (pH 7,4, suministrado por el usuario). Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 3 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 1 min.

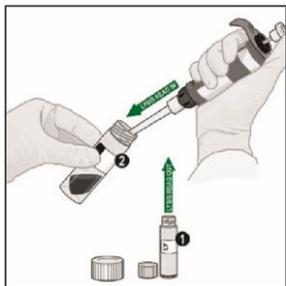
3. Añada al mismo tubo **2,5 ml** de reactivo de lisis (LY). Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 5 min. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 5 min. Mezcle la muestra, golpeando el fondo del tubo 10 veces. Transfiera **1 ml** de lisado preparado a un tubo cónico nuevo de 50 ml

4. Añada al mismo tubo cónico **1,5 ml** de reactivo de lisis conservado (LS). Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 10 min.



# Preparación del cartucho de Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation: muestra con recuento de LEU igual o superior a 30 millones de LEU/ml (continuación)

5. Añada al mismo tubo cónico 2 ml de etanol absoluto para reactivos (suministrado por el usuario).



6. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Déjela a un lado a temperatura ambiente.



7. Saque el cartucho del envase de cartón.

8. Inspeccione el cartucho para comprobar que no esté dañado. Si está dañado, no lo utilice.

9. Abra la tapa del cartucho. Transfiera todo el contenido de la ampolla de reactivo de lavado (1) a la cámara de reactivo de lavado (con la abertura pequeña).

10. Pipetee todo el contenido de la muestra preparada en la cámara de muestras (abertura grande).

11. Cierre la tapa del cartucho Xpert<sup>®</sup>.

12. Comience el ensayo en el plazo especificado en las instrucciones de uso.

# Conservación del lisado sobrante

- Conserve el **lisado sobrante** a una temperatura de **2-8 °C durante 48 horas como máximo**, O consérvelo a **-20 °C o menos durante 1 mes como máximo**

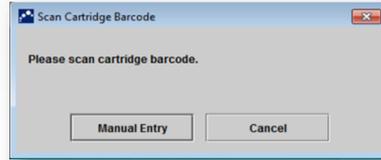
# Ejecución de una prueba en el GeneXpert® Dx

- 1 Cree una prueba.



Comience la prueba en **la hora** siguiente a la adición de la muestra al cartucho.

- 2 Escanee el código de barras del ID de paciente o ID de muestra.



- 3 Escanee el cartucho.



Para obtener información completa y detallada sobre cómo ejecutar una prueba, consulte las instrucciones de uso y el manual del operador de GeneXpert Dx.

© 2024 Cepheid. Reservados todos los derechos. CE-IVD. Producto sanitario para diagnóstico in vitro. Es posible que no esté disponible en todos los países.

# Ejecución de una prueba en el GeneXpert® Dx (continuación)

4 Complete los campos según sea necesario.

5 La prueba Xpert® NPM1 Mutation se selecciona automáticamente.

6 El módulo se selecciona automáticamente.

7 Haga clic en Iniciar prueba (Start Test).

8 Parpadeará una luz verde en el módulo. Cargue el cartucho en el módulo y cierre la puerta.

The screenshot shows the 'Create Test' window with the following fields and selections:

- Patient ID: [Empty]
- Sample ID: [Empty]
- Patient ID 2: [Empty]
- Last Name: [Empty]
- Name: [Empty]
- Select Assay: **Xpert NPM1 Mutation**
- Select Module: **A3**
- Reagent Lot ID\*: 16119
- Expiration Date\*: 2016/11/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]
- Buttons: **Start Test** and Scan Cartridge Barcode



# Protocolo automatizado de Xpert<sup>®</sup> NPM1 Mutation



# Controles de calidad

---



# Estrategia de control de Xpert® NPM1 Mutation

- Controles de calidad de Xpert® NPM1 Mutation
  - Cada cartucho de Xpert es un dispositivo analítico autónomo
  - Cepheid ha diseñado métodos moleculares específicos para incluir controles internos que permiten al sistema detectar modos de fallo específicos dentro de cada cartucho:
    - **Controles de comprobación de la sonda (PCC)**
    - **Control endógeno ABL1**

Consulte el documento 301-4868 GeneXpert® Quality Control Features for All Cepheid Xpert Assays.

# Controles de calidad internos

- **Control endógeno ABL1**

- Normaliza la diana de NPM1 Mutation
- Asegura que se use suficiente muestra en el ensayo
- Detecta la inhibición asociada a la muestra del ensayo de PCR en tiempo real

- **Controles de comprobación de la sonda (PCC)**

- Antes de la etapa de la PCR, se mide la señal de fluorescencia en todas las sondas y se compara con los ajustes predeterminados para comprobar lo siguiente:
  - rehidratación de las microesferas
  - integridad de las sondas
  - llenado del tubo de reacción
  - estabilidad del colorante
- Comprueba si todos los componentes de reacción del cartucho son funcionales
- El PCC se considera superado si cumple los criterios de aceptación asignados

# Controles externos disponibles en el mercado

## CONTROL

- Póngase en contacto con el servicio técnico si tiene alguna duda sobre los controles externos en:

Correo electrónico: [support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)

- La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web:

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

# Interpretación de los resultados

# Resultados posibles

Resultado	Interpretación
Mutación en NPM1 DETECTADA (NPM1 Mutation DETECTED)	Se ha detectado transcrito de mutación en NPM1. <ul style="list-style-type: none"><li>○ MUTACIÓN EN NPM1 DETECTADA [#,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [#.###%])</li><li>○ MUTACIÓN EN NPM1 DETECTADA [por encima del LC superior] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ])</li><li>○ MUTACIÓN EN NPM1 DETECTADA [por debajo del LD; &lt;#,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; &lt;#.###%])</li></ul>
Mutación en NPM1 NO DETECTADA (NPM1 Mutation NOT DETECTED)	No se ha detectado transcrito de mutación en NPM1.
NO VÁLIDO (INVALID)	No se puede determinar el nivel de transcrito de mutación en NPM1 debido a que la muestra contiene un exceso de transcrito de mutación en NPM1 o un exceso o insuficiencia de transcrito de ABL.
ERROR	No se puede determinar el nivel de transcrito de la mutación en NPM1.
SIN RESULTADO (NO RESULT)	No se puede determinar el nivel de transcrito de la mutación en NPM1. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado del ensayo.

# Resultados cuantitativos

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

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

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

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

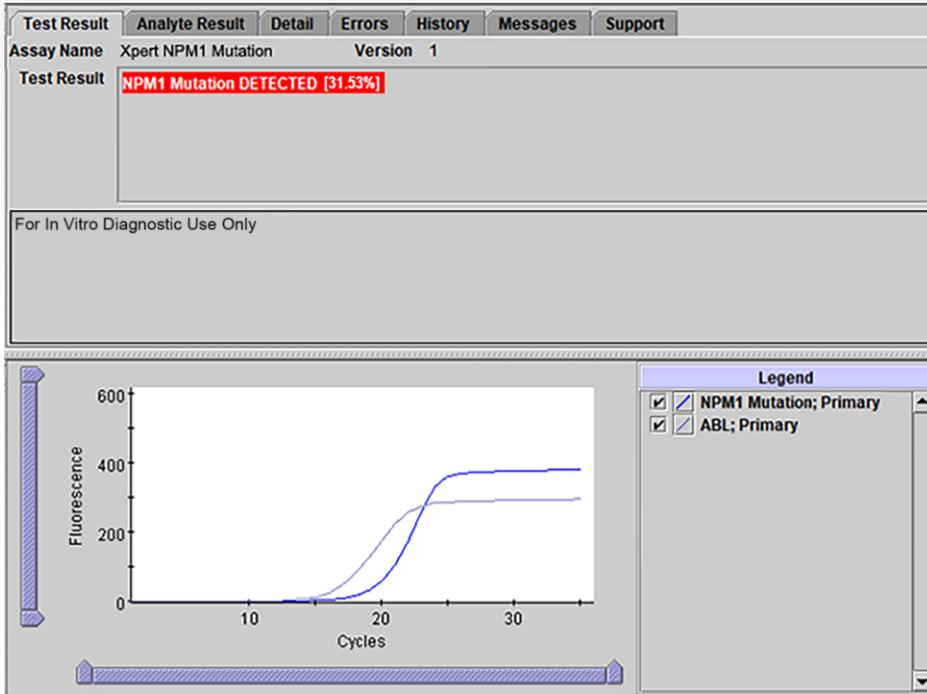
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Factor de escala}$$

El factor de escala (*SF*) es un parámetro específico del lote incorporado en el código de barras del cartucho del ensayo. El valor de este factor y la eficiencia de ensayo específica del lote ( $E_{\Delta Ct}$ ) se determinan en las pruebas de control de calidad de cada lote de ensayo mediante patrones primarios calibrados según el número de copias de calibradores de ARN transcrito sintético *in vitro* (ARN-TIV) de mutación en NPM1 y ABL1 para la cuantificación de transcrito de mutación en NPM1. La  $E_{\Delta Ct}$  se establece para 1,95 y el valor de *SF* para 1,79 en el uso del siguiente ejemplo:

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

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

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



- Mutación en NPM1 – Detectada [#,##%] (NPM1 Mutation – Detected) [#.##%])
  - Umbral del ciclo (Ct) dentro de un intervalo válido:  $6 \leq Ct \leq 32$ , y criterio de valoración por encima del umbral (ejemplo: Ct de mutación en NPM1 = 17,1)
- ABL – SUPERADO (ABL – PASS)
  - Umbral del ciclo (Ct) dentro de un intervalo válido:  $6 \leq Ct \leq 20$ , y criterio de valoración por encima del umbral (ejemplo: Ct de ABL = 14,5)
- Control de comprobación de la sonda – SUPERADO (Probe check control – PASS)
  - Todos los resultados de la comprobación de la sonda han superado la comprobación

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

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

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

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

El factor de escala (SF) es un parámetro específico del lote incorporado en el código de barras del cartucho del ensayo. El valor de este factor y la eficiencia de ensayo específica del lote ( $E_{\Delta Ct}$ ) se determinan en las pruebas de control de calidad de cada lote de ensayo mediante patrones primarios calibrados según el número de copias de calibradores de ARN transcrito sintético *in vitro* (ARN-TIV) de mutación en NPM1 y ABL1 para la cuantificación de transcrito de mutación en NPM1. La  $E_{\Delta Ct}$  se establece para 1,95 y el valor de SF para 1,79 en el uso del siguiente ejemplo:

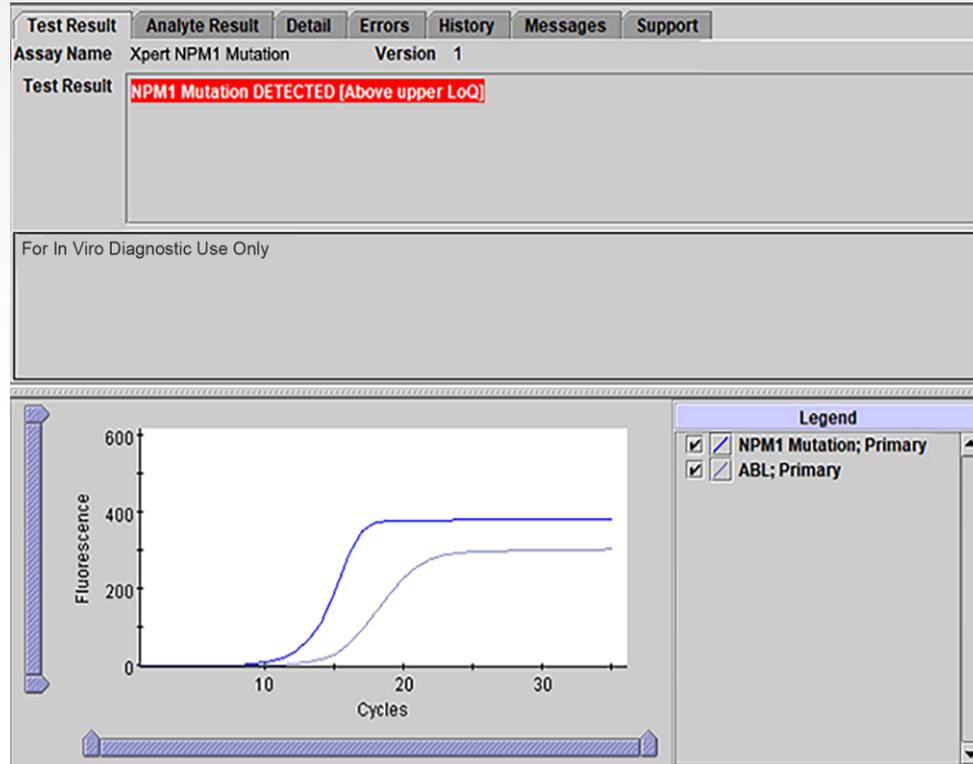
**Ejemplo:**  $E_{\Delta Ct}$  específico del lote = 1,95; SF = 1,79

Ct de ABL del ensayo = 13,4; Ct de mutación en NPM1 = 10,2;  $\Delta Ct = 3,2$

$\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92 \%$  es mayor que el LC superior definido para el ensayo, del 500 %

**Resultado: Mutación en NPM1 DETECTADA [por encima del LC superior] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).**

# Mutación en NPM1 DETECTADA [por encima del LC superior] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]) (continuación)



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

- Mutación en NPM1 – Detectada [por encima del LC superior] (NPM1 Mutation – Detected [Above upper LoQ])
  - Umbral del ciclo (Ct) dentro de un intervalo válido:  $6 \leq Ct \leq 32$ , y criterio de valoración por encima del umbral (ejemplo: Ct de mutación en NPM1 = 10,2)
- ABL – SUPERADO (ABL – PASS)
  - Umbral del ciclo (Ct) dentro de un intervalo válido:  $6 \leq Ct \leq 20$ , y criterio de valoración por encima del umbral (ejemplo: Ct de ABL = 13,4)
- Control de comprobación de la sonda – SUPERADO (Probe check control – PASS)
  - Todos los resultados de la comprobación de la sonda han superado la comprobación

# Mutación en NPM1 DETECTADA [por debajo del LD; <0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])

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

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

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

El factor de escala (*SF*) es un parámetro específico del lote incorporado en el código de barras del cartucho del ensayo. El valor de este factor y la eficiencia de ensayo específica del lote ( $E_{\Delta Ct}$ ) se determinan en las pruebas de control de calidad de cada lote de ensayo mediante patrones primarios calibrados según el número de copias de calibradores de ARN transcrito sintético *in vitro* (ARN-TIV) de mutación en NPM1 y ABL1 para la cuantificación de transcrito de mutación en NPM1. La  $E_{\Delta Ct}$  se establece para 1,95 y el valor de *SF* para 1,79 en el uso del siguiente ejemplo:

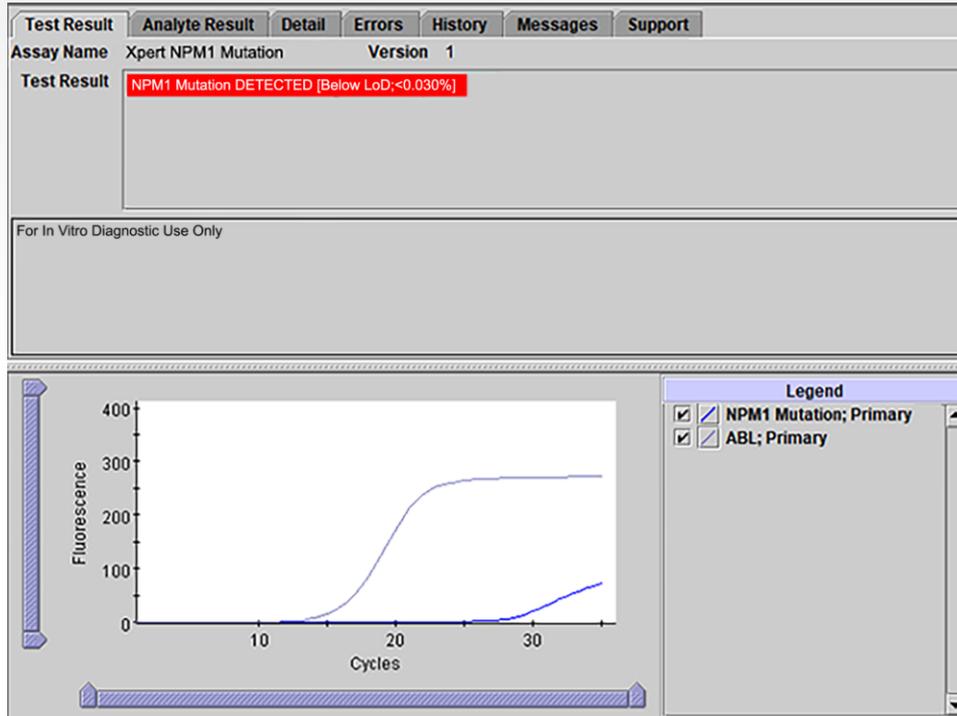
**Ejemplo:**  $E_{\Delta Ct}$  específico del lote = 1,95; *SF* = 1,79

Ct de ABL del ensayo = 14,3; Ct de mutación en NPM1 = 28,8;  $\Delta Ct = -14,5$

$\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011 \%$  es menor que el LD definido para el ensayo, del 0,030 %

**Resultado: Mutación en NPM1 DETECTADA [por debajo del LD; <0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])**

# Mutación en NPM1 DETECTADA [por debajo del LD; <0,030 %] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%]) (continuación)



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

- Mutación en NPM1 – Detectada [por encima del LC superior] (NPM1 Mutation – Detected [Above upper LoQ])
  - Umbral del ciclo (Ct) dentro de un intervalo válido:  $6 \leq Ct \leq 32$ , y criterio de valoración por encima del umbral (ejemplo: Ct de mutación en NPM1 = 28,8)
- ABL – SUPERADO (ABL – PASS)
  - Umbral del ciclo (Ct) dentro de un intervalo válido:  $6 \leq Ct \leq 20$ , y criterio de valoración por encima del umbral (ejemplo: Ct de ABL = 14,3)
- Control de comprobación de la sonda – SUPERADO (Probe check control – PASS)
  - Todos los resultados de la comprobación de la sonda han superado la comprobación

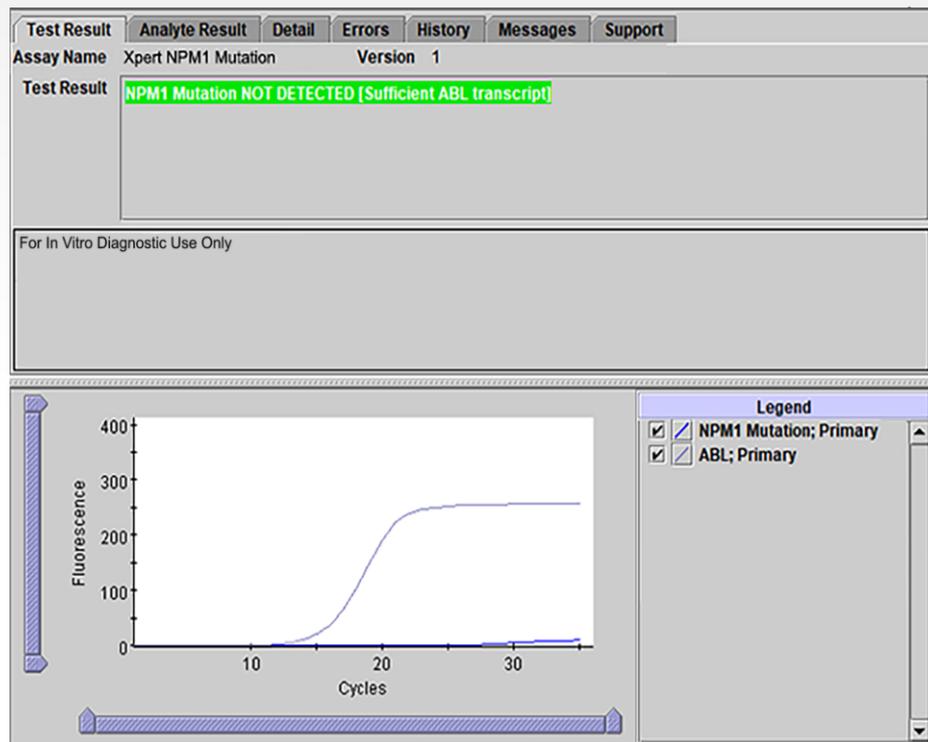
# Mutación en NPM1 NO DETECTADA [transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL Transcript])

- No se detectó una mutación en NPM1 con un Ct de NPM1 igual a «0» o superior a «32», y un Ct de ABL superior a «6» e inferior o igual a «20».
- El software GeneXpert requiere que el Ct de ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)».

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

**Resultado:** Mutación en NPM1 NO DETECTADA [transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).

# Mutación en NPM1 NO DETECTADA [transcrito ABL suficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL Transcript]) (continuación)



- Mutación en NPM1 – No detectada (NPM1 Mutation – Not Detected)
  - Sin umbral del ciclo (Ct) o Ct = 0, o criterio de valoración por debajo del valor umbral configurado (ejemplo: Ct de mutación en NPM1 = 0)
- ABL – SUPERADO (ABL – PASS)
  - Umbral del ciclo (Ct) dentro de un intervalo válido:  $6 \leq Ct \leq 20$ , y criterio de valoración por encima del umbral (ejemplo: Ct de ABL = 14,0)
- Control de comprobación de la sonda – SUPERADO (Probe check control – PASS)
  - Todos los resultados de la comprobación de la sonda han superado la comprobación

# Resolución de problemas

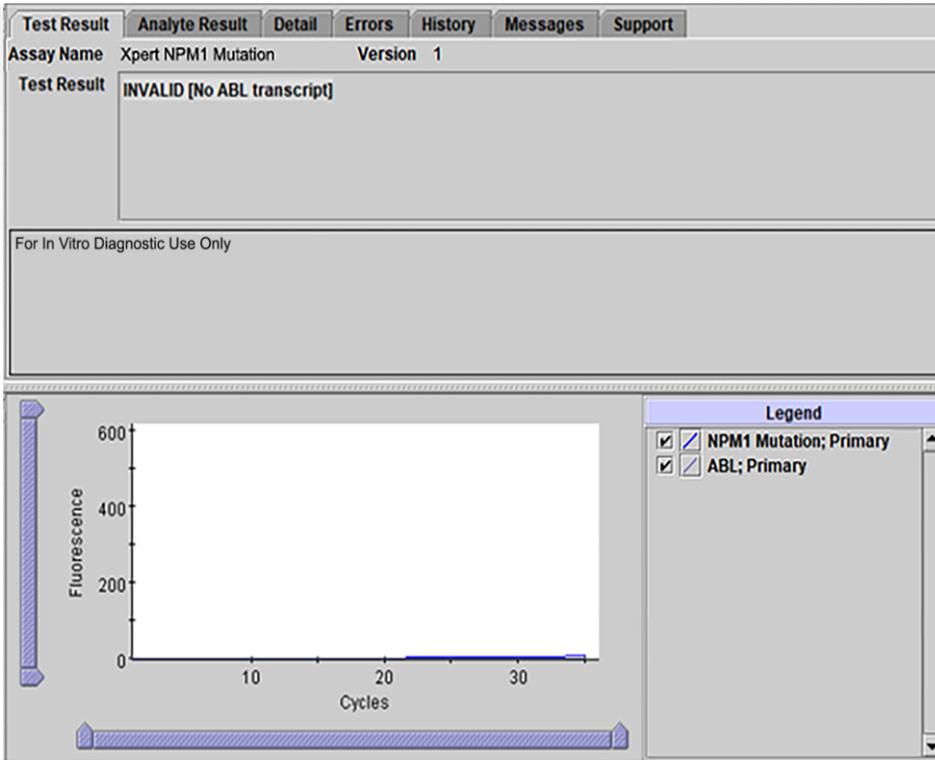
---



# Factores que afectan negativamente a los resultados

- Recogida inadecuada de la muestra.
  - No se ha evaluado la eficacia diagnóstica de este ensayo con otras muestras o tipos de muestra.
- Transporte o conservación inadecuado de la muestra recogida.
  - Las condiciones de conservación y transporte son específicas de cada tipo de muestra.
  - Consulte las instrucciones de uso para obtener detalles sobre la manipulación adecuada.
- Procedimiento inadecuado de realización de pruebas.
  - La modificación de los procedimientos de realización de la prueba puede afectar a la eficacia diagnóstica de esta.
  - Para evitar resultados erróneos, es necesario seguir estrictamente las instrucciones de uso.

# NO VÁLIDO [sin transcrito ABL] (INVALID [No ABL transcript])



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

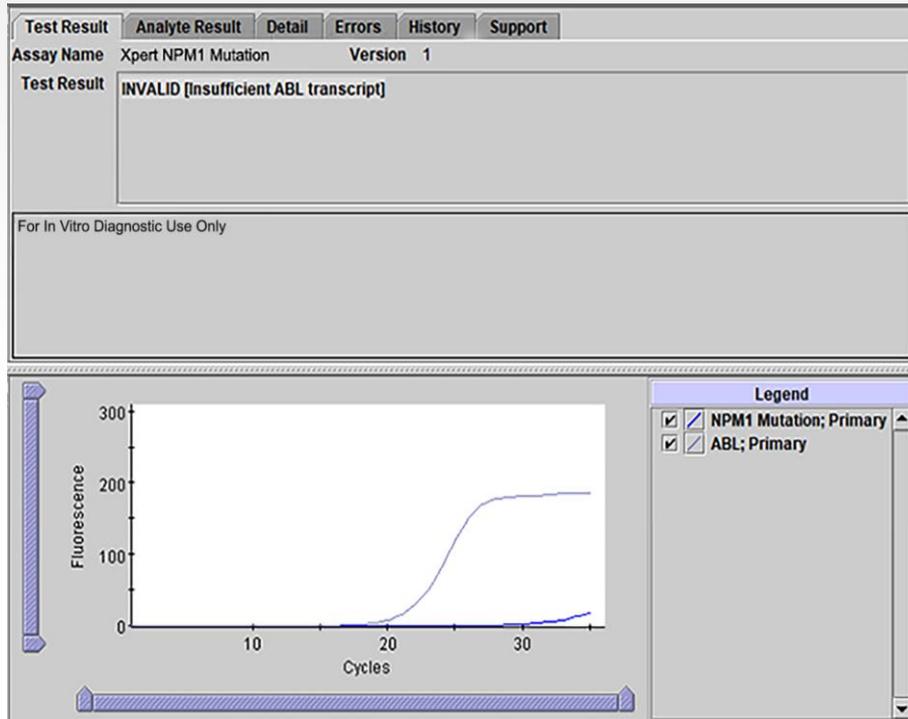
- El software GeneXpert requiere que el Ct de ABL sea superior O igual a «6» E inferior o igual a «20».

Ejemplo: Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 0

Ct de ABL = 0

**Resultado: NO VÁLIDO [sin transcrito ABL]  
(INVALID [No ABL transcript])**

# NO VÁLIDO [transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])



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

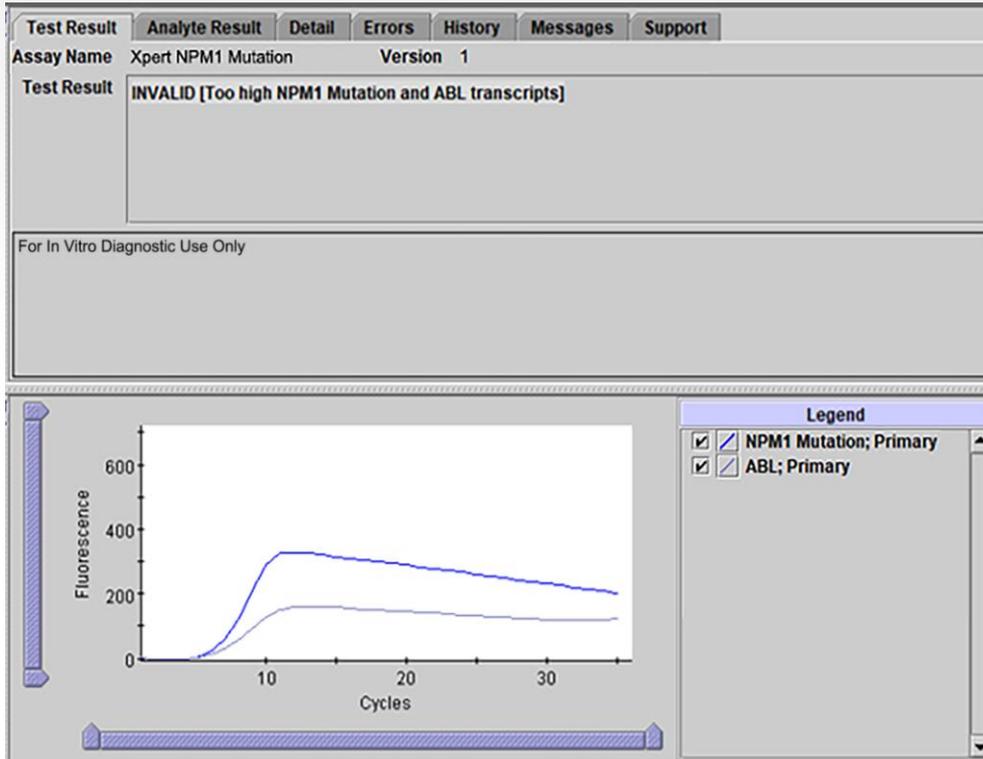
- El software GeneXpert requiere que el Ct de ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)».

**Ejemplo:** Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 33,3;

Ct de ABL = 20,2 es superior a «20».

**Resultado: NO VÁLIDO [transcrito ABL insuficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])**

# NO VÁLIDO [Transcritos de mutación en NPM1 y ABL demasiado altos] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])



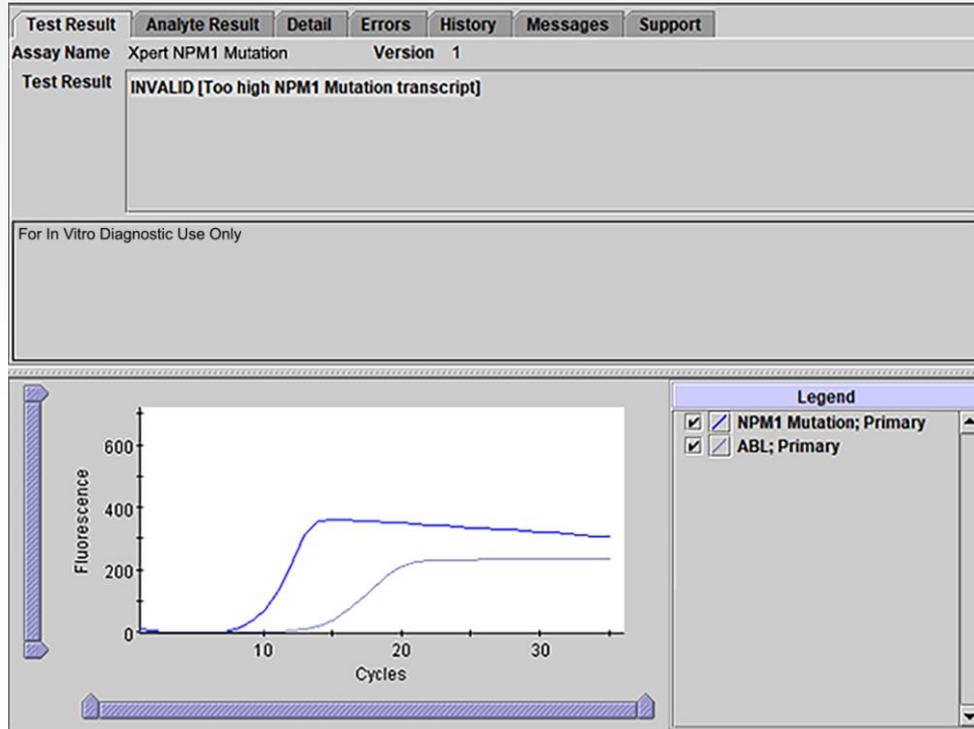
Se detectó una mutación en NPM1 con Ct de mutación en NPM1 y Ct de ABL superiores a «0» e inferiores a «6».

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

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

**Resultado:** NO VÁLIDO [transcrito de mutación en NPM1 demasiado alto] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]).

# NO VÁLIDO [transcritos de mutación en NPM1 demasiado altos] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])



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

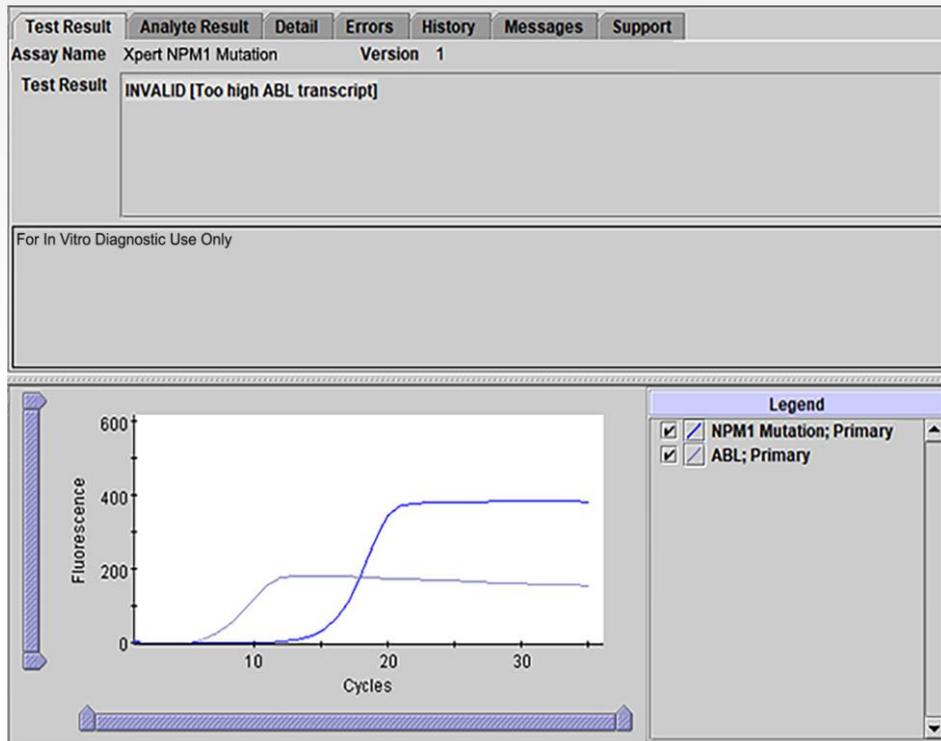
- El software GeneXpert requiere que el Ct de ABL sea superior o igual a «6» e inferior o igual a «20» para que la prueba Xpert NPM1 Mutation garantice tener un «transcrito ABL suficiente (Sufficient ABL transcript)».

**Ejemplo:** El Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 5,8 es superior a «0» e inferior a «6»

Ct de ABL = 13 entre «6» y «20».

**Resultado: NO VÁLIDO [transcrito NPM1 demasiado alto] (INVALID [Too high NPM1 transcript]).**

# NO VÁLIDO [transcritos de mutación en ABL demasiado altos] (INVALID [Too high ABL mutation transcripts])



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

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

**Ejemplo:** Ct de mutación en NPM1 del ensayo = 13,2;

Ct de ABL = 5,8 es menor que «6».

**Resultado: NO VÁLIDO [transcrito ABL demasiado alto] (INVALID [Too high ABL transcript]).**

# ERROR: código 2008, 5006, 5007, 5008, 5009, etc.

ERROR

The screenshot shows a software interface with several tabs: 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Errors', 'History', and 'Support'. The 'Test Result' tab is active, displaying 'Assay Name Xpert NPM1 Mutation' and 'Version 1'. Below this, a 'Test Result' field contains the word 'ERROR' in a yellow box. A section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only' is present but empty. The main area of the interface displays '<No Data Available>'. The interface has a light gray background with blue accents.

No se puede determinar el nivel de transcrito de BCR-ABL.

## Causas posibles

- Fallo de comprobación de la sonda
- La presión excede el límite (mensaje de error 2008)

## Solución

- Compruebe la calidad de la muestra
- Compruebe si el recuento de LEU es muy elevado
- Repita la prueba con la muestra original (si está disponible) o con el lisado conservado y un cartucho nuevo.
- Repita la prueba tras el procedimiento en caso de Error 2008/Invalid (No válido) → **Tipo 2** O Error 5006,5007,5008,5009,/Invalid (No válido) → **Tipo 1**

# SIN RESULTADO (NO RESULT)

NO RESULT

No se puede determinar el nivel de transcrito de la mutación en NPM1. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado del ensayo. Por ejemplo, esto puede ocurrir si el usuario paró un ensayo que estaba en curso.

- Mutación en NPM1 SIN RESULTADO (NO RESULT)
- ABL SIN RESULTADO (NO RESULT)
- Comprobación de la sonda N/A (NA) (no aplicable)

## Solución

- Repita la prueba con la muestra original (si está disponible) o con el lisado conservado y un cartucho nuevo.
- Siga el procedimiento de repetición de la prueba en caso de Error O No válido (Invalid) **(tipo 1)**

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

- Vuelva a analizar las muestras con resultados ERROR o NO VÁLIDO (INVALID) debido a que el umbral de ciclo (Ct) de ABL supera el Ct máximo válido ( $Ct > 20$ ) o a que el criterio de valoración es inferior al umbral configurado ( $<100$ ).

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

## Preparación de lisados y cartuchos

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NMP1 Mutation

Consulte el prospecto, donde encontrará instrucciones, precauciones y advertencias detalladas.

Para obtener un ejemplar de la SDS (hoja de datos de seguridad), visite [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) o [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

Servicio técnico de Cepheid  
**Oficina en EE. UU.**  
+1 (888) 838-3222, Opción 2  
[techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)  
**Oficina en Europa** +33 563 82 53 19

20 minutos antes de iniciar el procedimiento, deje que lo siguiente alcance la temperatura ambiente (20 °C - 30 °C)

- muestra de sangre
- cartucho
- reactivos de preparación de muestras

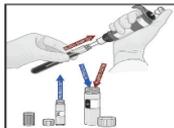


### Empezar aquí

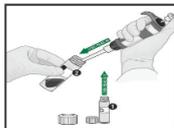
- 1 Extraiga del frigorífico la sangre total con ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) y los reactivos de preparación de la muestra. Coloque la sangre con EDTA en el agitador de balanceo o inviértala 8 veces antes de extraer la muestra.



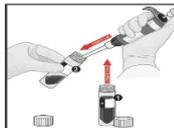
- 2 Centrifugue brevemente el reactivo de piruvato-oxasa (PK). En un tubo cónico de 50 ml, vierta 100 µl de reactivo PK. A continuación, añada 4 ml de sangre total con EDTA bien mezclada a ese mismo tubo cónico de 50 ml. Sometalo a la agitadora vorticial durante 3 segundos e incúbelo 1 minuto a temperatura ambiente (TA).



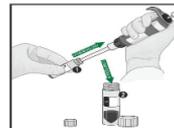
- 3 Añada 2,5 ml de reactivo de lisis (LY) al mismo tubo, sométalo a la agitadora vorticial durante 10 segundos e incúbelo 5 minutos a TA. Sometalo de nuevo a la agitadora vorticial durante 10 segundos e incúbelo una segunda vez 5 minutos. Mézclelo dando golpecitos suaves en el tubo 10 veces.



- 4 Transfiera 1 ml del lisado preparado a un nuevo tubo cónico de 50 ml. Conserve el lisado restante por si hay que repetir la prueba.



- 5 Añada 1,5 ml de reactivo de lisis (LY) al nuevo tubo cónico donde se encuentre el lisado preparado previamente. Sometalo a la agitadora vorticial durante 10 segundos e incúbelo 10 minutos a TA.



- 6 Añada al mismo tubo cónico 2 ml de etanol puro de calidad analítica. Agítelo en una mezcladora vorticial durante 10 s y déjelo aparte. Deseche los reactivos PK o LY sobrantes.



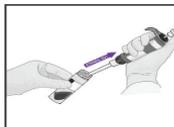
- 7 Abra la tapa del cartucho de prueba Xpert.



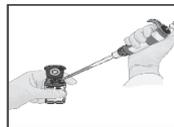
- 8 Transfiera todo el contenido de la ampolla de reactivo de lavado a la cámara 1 (que tiene la abertura pequeña).



- 9 Pipeteo todo el contenido del lisado preparado final para extraerlo del tubo cónico.



- 10 Transfiera todo el contenido (~4,5 ml) de la muestra preparada a la cámara de muestras.



- 11 Cierre la tapa del cartucho Xpert.



- 12 Inicie la prueba dentro del periodo especificado en el prospecto.



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

- Si el lisado conservado se ha congelado, descongélelo a temperatura ambiente antes de utilizarlo.
- Asegúrese de que el lisado esté bien mezclado, agitando la muestra en un mezclador vórtex a la velocidad máxima continuamente durante 10 segundos y dejándolo a un lado durante 3 minutos para que se asienten las burbujas. Transfiera 1 ml del lisado restante a un nuevo tubo cónico de 50 ml. A continuación, **empiece aquí**

## Preparación de lisados y cartuchos

- Xpert® BCR-ABL Ultra
- Xpert® BCR-ABL Ultra p190
- Xpert® NMP1 Mutation

Consulte el prospecto, donde encontrará instrucciones, precauciones y advertencias detalladas.

Para obtener un ejemplar de la Solicitud de datos de seguridad, visite [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) o [www.cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

Servicio técnico de Cepheid  
**Oficina en EE. UU.**  
+1 (888) 969-3222; Opción 2  
[techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)  
**Oficina en Europa** +33 563 82 59 19

20 minutos antes de iniciar el procedimiento, deje que lo siguiente alcance la temperatura ambiente (20 °C - 30 °C)

- muestra de sangre
- cartucho
- reactivos de preparación de muestras



- 1 Extraiga del frigorífico la sangre total con ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) y los reactivos de preparación de la muestra. Coloque la sangre con EDTA en el agitador de balanceo o invértala 8 veces antes de extraer la muestra.
- 2 Centrifugue brevemente el reactivo de piruvato-cinasa (PK). En un tubo cónico de 50 ml, vierta 100 µl de reactivo PK. A continuación, añada 4 ml de sangre total con EDTA bien mezclada a ese mismo tubo cónico de 50 ml. Sometalo a la agitadora vórtex durante 3 segundos e insíbelo 1 minuto a temperatura ambiente (TA).
- 3 Añada 2,5 ml de reactivo de lisis (LY) al mismo tubo, sométalo a la agitadora vórtex durante 10 segundos e insíbelo 5 minutos a TA. Sometalo de nuevo a la agitadora vórtex durante 10 segundos e insíbelo una segunda vez 5 minutos. Mézclalo dando golpesitos suaves en el tubo 10 veces.
- 4 Transfiera 1 ml del lisado preparado a un nuevo tubo cónico de 50 ml. Conserve el lisado restante por si hay que repetir la prueba.
- 5 Añada 1,5 ml de reactivo de lisis (LY) al nuevo tubo cónico donde se encuentre el lisado preparado previamente. Sometalo a la agitadora vórtex durante 10 segundos o insíbelo 10 minutos a TA.
- 6 Añada el mismo tubo cónico 2 ml de etanol puro de calidad analítica. Agítelo en una mezcladora vórtex durante 10 s y déjelo aparte. Descarte los reactivos PK o LY sobrantes.
- 7 Abra la tapa del cartucho de prueba Xpert.
- 8 Transfiera todo el contenido de la ampolla de reactivo de lavado a la cámara 1 (que tiene la abertura pequeña).
- 9 Pipeteo todo el contenido del lisado preparado final para extraerlo del tubo cónico.
- 10 Transfiera todo el contenido (~4,5 ml) de la muestra preparada a la cámara de muestras.
- 11 Cierre la tapa del cartucho Xpert.
- 12 Inicie la prueba dentro del período especificado en el prospecto.

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

- Vuelva a analizar las muestras con niveles de transcritos de mutación en NPM1 o ABL por debajo del mínimo válido ( $Ct > 0$  y  $Ct < 6$ ) o cuando se supere el límite de presión.

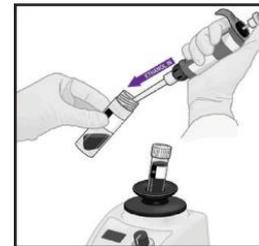
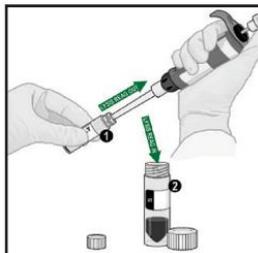
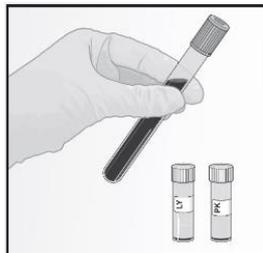
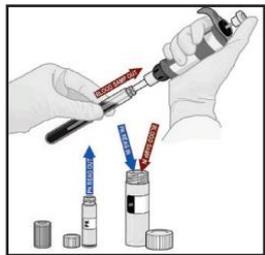
# Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR (código 2008) o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 2): Suficiente sangre disponible

1. Añada 100  $\mu$ l de PK (proteínasa K) al fondo de un tubo cónico nuevo de 50 ml. Asegúrese de que la muestra de sangre esté bien mezclada, invirtiendo el tubo de recogida de sangre con EDTA 8 veces inmediatamente antes de pipetear.

2. Añada 250  $\mu$ l de muestra de sangre y 3,75 ml de PBS (con pH 7,4, proporcionado por el usuario). Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 3 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 1 min.

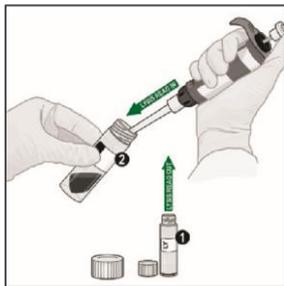
3. Añada al mismo tubo 2,5 ml de reactivo de lisis (LY). Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 5 min. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 5 min. Mezcle la muestra, golpeando el fondo del tubo 10 veces. Transfiera 1 ml de lisado preparado a un tubo cónico nuevo de 50 ml.

4. Añada al mismo tubo cónico 1,5 ml de reactivo de lisis conservado (LS). Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 10 min.



# Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR (código 2008) o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 2): Suficiente sangre disponible (continuación)

5. Añada al mismo tubo cónico 2 ml de etanol absoluto para reactivos (suministrado por el usuario).



6. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Déjela a un lado.



7. Saque el cartucho del envase de cartón.

8. Inspeccione el cartucho para comprobar que no esté dañado. Si está dañado, no lo utilice.

9. Abra la tapa del cartucho. Transfiera todo el contenido de la ampolla de reactivo de lavado (1) a la cámara de reactivo de lavado (con la abertura pequeña).

10. Pipetee todo el contenido de la muestra preparada en la cámara de muestras (abertura grande).

11. Cierre la tapa del cartucho Xpert®.

12. Comience el ensayo en el plazo especificado en las instrucciones de uso.

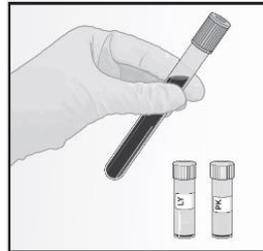
# Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR (código 2008) o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 2):

## Lisado

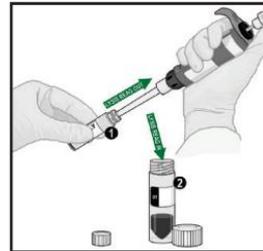
- Si el lisado conservado se ha congelado, descongélelo a temperatura ambiente antes de utilizarlo.
- Si el lisado conservado se ha refrigerado, espere a que se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo.

Asegúrese de que el lisado esté bien mezclado, agitando la muestra en un mezclador vórtex a la velocidad máxima continuamente durante 10 segundos y dejándolo a un lado durante 3 minutos para que se asienten las burbujas.

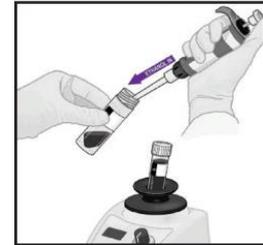
1. Añada 100  $\mu$ l de PK (proteínasa K) al fondo de un tubo cónico nuevo de 50 ml.



2. Añada 60  $\mu$ l de lisado restante al tubo que ya contiene proteínasa K. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 3 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 1 min.

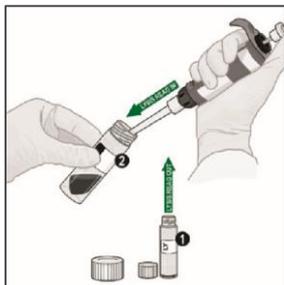


3. Añada 2,5 ml de reactivo de lisis (LY) al nuevo tubo cónico que contiene el lisado. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 5 min. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Incube a temperatura ambiente durante 5 min.



# Procedimiento de repetición de la prueba en caso de ERROR (código 2008) o NO VÁLIDO (INVALID) (tipo 2): Lisado (continuación)

4. Añada al mismo tubo cónico 2 ml de etanol absoluto para reactivos (suministrado por el usuario).



5. Agite la muestra continuamente en un mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 10 segundos. Déjela a un lado.



6. Abra la tapa del cartucho. Transfiera todo el contenido de la ampolla de reactivo de lavado (1) a la cámara de reactivo de lavado (con la abertura pequeña).

7. Pipetee todo el contenido de la muestra preparada en la cámara de muestras (abertura grande).

8. Cierre la tapa del cartucho Xpert®.

9. Comience el ensayo en el plazo especificado en las instrucciones de uso.

# Procedimiento de repetición de la prueba

1



Deseche el cartucho utilizado. Siga las directrices de seguridad del centro para la eliminación de los cartuchos.

2



Consulte las indicaciones para los procedimientos de repetición de la prueba tipo 1 y tipo 2 en las instrucciones de uso.

La repetición de la prueba puede realizarse con muestra de sangre sobrante o lisado conservado.

3



Obtenga un nuevo cartucho.

Procese la muestra según las instrucciones de uso.

4



Ejecute la prueba en el sistema.

# Asistencia técnica

- Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:
  - Nombre del producto
  - Número de lote
  - Número de serie del sistema
  - Mensajes de error (si los hubiera)
  - Versión de software
- Presente su queja en línea mediante el enlace <http://www.cephid.com/es/support>: *Crear un caso de servicio técnico*



Muchas gracias

[www.Cepheid.com](http://www.Cepheid.com)