

Formazione tecnica su Xpert[®] NPM1 Mutation

*Numero di catalogo (GXNPM1-CE-10)
Esclusivamente per CE-IVD*



Obiettivi del programma di formazione

Al termine della formazione, gli operatori saranno in grado di:

- Conservare e manipolare correttamente il kit della cartuccia Xpert® NPM1 Mutation
- Adottare le adeguate precauzioni di sicurezza di laboratorio
- Raccogliere e trasportare i campioni adeguati
- Preparare una cartuccia ed eseguire il test per Xpert® NPM1 Mutation
- Refertare i vari risultati generati dal software
- Comprendere la strategia di controllo di Xpert® NPM1 Mutation

Programma di formazione

- 1 Descrizione generale
- 2 Manipolazione del kit
- 3 Prelievo del campione
- 4 Preparazione della cartuccia
- 5 Controlli qualità
- 6 Interpretazione dei risultati
- 7 Risoluzione dei problemi



Descrizione generale



La soluzione Cepheid



- Rilevamento quantitativo
- Controlli interni a bordo per ciascun campione
 - Controllo per la verifica della sonda (PCC)
 - Controllo endogeno ABL
- Risultati in meno di 3 ore
- Circa 30 minuti di preparazione del campione e **meno di 2,5 ore** di esecuzione del saggio
- Sistema con cartuccia chiusa per ridurre al minimo il rischio di contaminazione
- Risultati on-demand
- Accesso casuale

Uso previsto

- Il test per Xpert[®] NPM1 Mutation eseguito sul Cepheid GeneXpert[®] Dx System, è un test diagnostico *in vitro* per la quantificazione dei trascritti dell'mRNA di NPM1 mutante (tipi A, B e D nell'esone 12) nei campioni di analisi di sangue periferico raccolti da pazienti con leucemia mieloide acuta (LMA).
- Il test utilizza una reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione real time (RT-PCR) automatizzata e segnala il rapporto percentuale di NPM1 mutante rispetto ai trascritti di mRNA del controllo endogeno ABL1.
- Il test è previsto come ausilio nella supervisione dei pazienti che presentano LMA con NPM1 mutato per quanto riguarda il trascritto dell'mRNA di NPM1 mutante. Il test deve essere utilizzato con altri fattori clinico-patologici.
- Il test per Xpert[®] NPM1 Mutation non distingue tra i trascritti di NPM1 mutante di tipo A, B o D e non rileva né monitora altri tipi rari di NPM1 mutanti.
- Questo test non è destinato alla diagnosi di LMA.

Utilizzatore/Ambiente previsto

- Il test per Xpert[®] NPM1 Mutation deve essere utilizzato in laboratorio da operatori appositamente formati.

Bersagli

- Trascritti dell'mRNA di mutazioni di NPM1 di tipo A, B e D nell'esone 12
- Controllo endogeno ABL1

Xpert® NPM1 Mutation: requisiti

Sistemi GeneXpert®

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

Kit di test

- Numero di catalogo (GXNPM1-CE-10)

Prelievo del campione

- Sangue periferico raccolto in provette con EDTA

Altri materiali

- Dispositivi di protezione individuale (DPI)
- 1:10 Candeggina / Ipcolorito di sodio (concentrazione finale dello 0,5% preparata su base giornaliera)
- Etanolo o etanolo denaturato al 70%
- Miscelatore vortex
- Microcentrifuga (1.000 × g minimo)
- Pipette e puntali per pipette con filtro aerosol
- Provette coniche da 50 ml
- Etanolo assoluto di grado reagente
- 1x PBS, pH 7,4

Altri materiali

- Gruppo di continuità/dispositivo di protezione da sovracorrente
- Stampante Se è necessario l'uso di una stampante, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.

Verifica della buona prassi di laboratorio

Dispositivi di protezione individuale (DPI)

- Indossare camici da laboratorio, occhiali di sicurezza e guanti puliti
- Cambiarsi i guanti tra un campione e l'altro durante il trattamento

Area del banco di laboratorio

- Pulire regolarmente le superfici di lavoro con:
 - ✓ candeggina per uso domestico* in diluizione 1:10
 - ✓ soluzione di etanolo al 70%
- Dopo la pulizia, assicurarsi che le superfici di lavoro siano asciutte

Conservazione dei campioni di analisi, dei campioni e dei kit

- Conservare i campioni di analisi e i campioni lontano dal kit in modo da prevenirne la contaminazione

Apparecchiatura

- Usare puntali per pipetta con filtro, se consigliato
- Rispettare i requisiti del fabbricante in merito alla calibrazione e alla manutenzione dell'apparecchiatura

* La concentrazione finale di cloro attivo deve essere dello 0,5%, indipendentemente dalla concentrazione della candeggina per uso domestico in uso nel proprio Paese.

Manipolazione del kit



Contenuto del kit Xpert® NPM1 Mutation

| Numero di catalogo | GXNPM1-CE-10 |
|-------------------------------------|---|
| Cartucce* per kit | 10 |
| Flaconcini di reagente (10 per kit) | Proteinasi K (PK) Reagente di lisi (LY) (cloruro di guanidinio) Reagente di lavaggio |
| CD del kit | Xpert NPM1 Mutation: file di definizione del saggio (ADF) Xpert NPM1 Mutation: istruzioni per l'importazione Istruzioni per l'uso (IFU) |
| Conservazione | tra 2 e 8 °C |



* Le cartucce contengono sostanze chimiche pericolose. Per ulteriori informazioni, consultare le Istruzioni per l'uso e la Scheda dati di sicurezza.

Conservazione e manipolazione del kit

- Conservare il kit Xpert® NPM1 Mutation a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C
- Aprire il coperchio della cartuccia solo quando si è pronti per l'esecuzione del test.
- Non usare cartucce che presentano perdite
- Il reagente di lavaggio è un liquido trasparente e incolore. Non usare il reagente di lavaggio se appare torbido o scolorito.
- Venti (20) minuti prima di iniziare la procedura, togliere il campione di sangue, la cartuccia e i reagenti di preparazione del campione dal sito di conservazione per consentire loro di raggiungere la temperatura ambiente (20 °C - 30 °C).
- Non utilizzare una cartuccia oltre la data di scadenza.

Avvertenze e precauzioni



- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Tutti i campioni biologici, comprese le cartucce e i reagenti usati, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi.
- Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard.
- Le linee guida per il trattamento dei campioni sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁶ e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁷.
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di appartenenza.
- Le caratteristiche prestazionali di questo test sono state stabilite solo con sangue raccolto in provette con EDTA. Il funzionamento del saggio non è stato valutato con altri tipi di campioni.

6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (fare riferimento all'edizione più recente). <http://www.cdc.gov/biosafetv/publications/>

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (fare riferimento all'ultima edizione).

Avvertenze e precauzioni (segue)



- L'affidabilità dei risultati dipende dall'uso di adeguate modalità di prelievo, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni. Un campione che sia stato prelevato, manipolato o conservato in modo improprio, un errore tecnico, lo scambio di campioni o la presenza di trascritto target nel campione di analisi inferiore al limite di rilevamento del saggio possono produrre risultati erranei. La stretta osservanza di queste Istruzioni per l'uso e del *Manuale dell'operatore di GeneXpert[®] Dx System* è indispensabile per evitare risultati erranei.
- L'esecuzione del test per Xpert[®] NPM1 Mutation con intervalli della temperatura e tempi di conservazione del kit o dei campioni diversi da quelli consigliati può generare risultati erranei o non validi.
- I campioni biologici, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi, che richiedono precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali in uso presso la struttura di riferimento per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento occorre attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione mondiale della sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.⁸

⁸Health-care Waste. Organizzazione Mondiale della Sanità. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/health-care-waste>.

Limitazioni di Xpert® NPM1 Mutation

- Il saggio non è destinato ad essere utilizzato con calibratori esterni.
- Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare il funzionamento del saggio.
- Questo prodotto è stato progettato per l'utilizzo esclusivamente con sangue raccolto in provette con EDTA.
- Non utilizzare eparina come anticoagulante perché può inibire la reazione della PCR.
- Non sono stati convalidati campioni di midollo osseo, di buffy-coat o in sodio citrato.
- È possibile ottenere risultati errati del saggio se si raccolgono, manipolano, conservano incorrettamente o si scambiano i campioni di analisi. La stretta osservanza delle Istruzioni per l'uso è necessaria per evitare risultati erranei.
- Mutazioni o polimorfismi nelle regioni leganti il primer o la sonda possono compromettere il rilevamento di varianti nuove o sconosciute e possono generare risultati falsi negativi.
- Valori troppo alti dei leucociti possono determinare un aumento della pressione nella cartuccia con conseguente interruzione delle sessioni analitiche o risultati inaccurati.
- Alcuni campioni con livelli molto bassi di trascritto di ABL o con globuli bianchi inferiori a 150.000 cellule/ml possono essere segnalati come NON VALIDO (INVALID) (Tipo 1). Un risultato indeterminato non esclude la presenza di livelli molto bassi di cellule leucemiche nel campione.

Raccolta, trasporto e conservazione dei campioni di analisi



Trasporto e conservazione del campione

- I campioni di sangue periferico devono essere raccolti in provette con EDTA attenendosi alle linee guida della struttura sanitaria.
- Il plasma non deve essere separato dalle cellule

Tipo di campione di analisi

Conservazione

Campione di sangue intero

tra 2 e 8 °C per un massimo
di 3 giorni

Preparazione della cartuccia

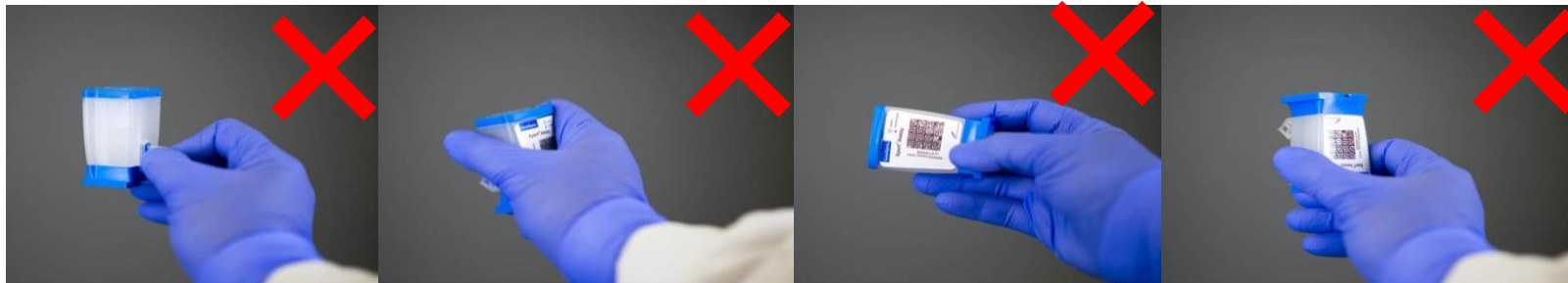
Tecniche corrette di manipolazione della cartuccia

Giusto

- Non toccare la provetta di reazione
- Mantenere la cartuccia in posizione verticale
- Non inclinare dopo l'aggiunta del campione



Sbagliato



Prima di avviare la procedura:

- Venti (20) minuti prima di iniziare la procedura, togliere il campione ematico, i reagenti di preparazione dei campioni e le cartucce dal sito di conservazione refrigerato per consentire loro di raggiungere la temperatura ambiente.
- Agitare brevemente il reagente Proteinasi K (PK) in una microcentrifuga.
- Iniziare il saggio entro **1 ora** dall'aggiunta alla cartuccia del campione trattato con il reagente per il campione.
- Rimuovere la cartuccia dalla confezione di cartone prima della preparazione del campione

Preparazione della cartuccia Xpert® NPM1 Mutation Campione con conteggio WBC sconosciuto O <30 milioni di WBC/ml

Preparazione del lisato e della cartuccia

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

Per istruzioni dettagliate, precauzioni e avvertenze, fare riferimento al foglietto illustrativo.

Per una copia della SDS, consultare il sito: www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com

Supporto Tecnico di Cepheid
Ufficio statunitense
+1 (888) 838-3222, Interno 2
techsupport@cepheid.com

Ufficio europeo +33 563 82 53 19
support@cepheideurope.com

20 minuti prima di iniziare la procedura, consentire agli elementi riportati di seguito di raggiungere la temperatura ambiente (20 °C – 30 °C)

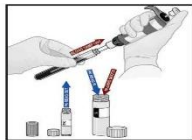
- campione di analisi ematico
- cartuccia
- reagenti di preparazione dei campioni



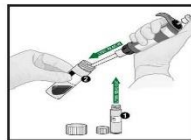
- 1** Estrarre dal frigorifero il sangue intero in EDTA e i reagenti per la preparazione dei campioni. Collocare il sangue in EDTA su un agitatore basculante o miscelare capovolgendo il contenitore 8 volte prima del campionamento.



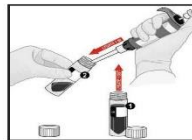
- 2** Centrifugare brevemente il reagente PK. Aggiungere 100 µl di reagente PK in una provetta conica da 50 ml. Aggiungere quindi 4 ml di sangue intero in EDTA ben miscelato alla stessa provetta conica da 50 ml. Agitare il campione in vortex per 3 s e incubare per 1 min a temperatura ambiente.



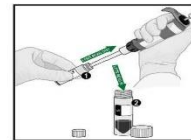
- 3** Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla provetta, agitare in vortex per 10 s e incubare per 5 min a temperatura ambiente. Agitare nuovamente in vortex per 10 s e incubare una seconda volta per 5 min. Miscelare il contenuto della provetta picchiettandola 10 volte.



- 4** Trasferire 1 ml del lisato preparato in una nuova provetta conica da 50 ml. Conservare il lisato rimanente per eventuali ripetizioni dell'analisi.



- 5** Aggiungere 1,5 ml di reagente di lisi (LY) alla nuova provetta conica contenente il lisato preparato in precedenza. Agitare in vortex per 10 s e incubare per 10 min a temperatura ambiente.



- 6** Aggiungere 2 ml di EtOH assoluto di grado reagente alla stessa provetta conica. Agitare in vortex per 10 s e mettere da parte. Gettare i reagenti PK o LY rimasti.



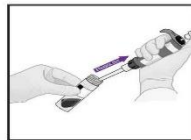
- 7** Aprire il coperchio della cartuccia del test Xpert.



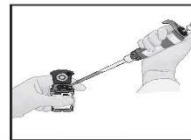
- 8** Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1 (piccola apertura).



- 9** Pipettare l'intero contenuto del lisato preparato finale dalla provetta conica.



- 10** Trasferire l'intero contenuto del campione preparato (~4,5 ml) nella camera destinata al campione.



- 11** Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert.



- 12** Avviare il test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.



© 2015-2023 Cepheid. Tutti i diritti riservati.



Per uso diagnostico *in vitro*

Dispositivo medico diagnostico *in vitro*. Potrebbe non essere disponibile in alcuni Paesi. Non disponibile negli Stati Uniti.

301-4954-IT, Rev. E, Febbraio 2023



Preparazione della cartuccia Xpert[®] NPM1 Mutation

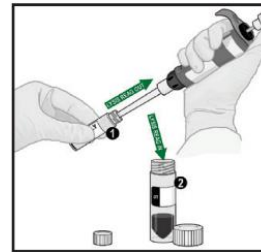
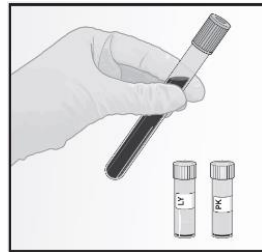
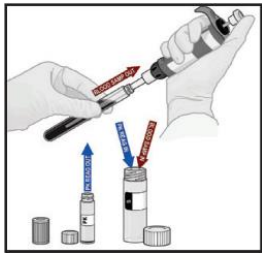
Campione con conteggio WBC pari o superiore a 30 milioni di WBC/ml

1. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere **100 µl di PK** (Proteinasi K). Accertarsi di miscelare bene il campione ematico capovolgendo la provetta di raccolta ematica con EDTA per 8 volte immediatamente prima del pipettaggio.

2. Aggiungere **250 µl di campione di sangue** e **3,75 ml di 1xPBS** (pH 7,4, fornito dall'utilizzatore). Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 3 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto

3. Aggiungere **2,5 ml di reagente di lisi (LY)** alla stessa provetta. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti. Miscelare il campione picchiettando 10 volte la parte inferiore della provetta. Trasferire **1 ml del lisato** preparato in una nuova provetta conica da 50 ml

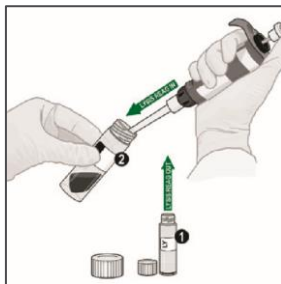
4. Aggiungere **1,5 ml del reagente di lisi (LS)** messo da parte in precedenza alla stessa provetta conica. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 10 minuti



Preparazione della cartuccia Xpert[®] NPM1 Mutation

Campione con conteggio WBC pari o superiore a 30 milioni di WBC/ml (segue)

5. Aggiungere 2 ml di etanolo assoluto di grado reagente (fornito dall'utente) alla stessa provetta conica.



6. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Mettere da parte a temperatura ambiente.



7. Rimuovere la cartuccia dalla confezione di cartone

8. Controllare che la cartuccia non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.

9. Aprire il coperchio della cartuccia. Trasferire l'intero contenuto della fiala del reagente di lavaggio (1) nella camera destinata al reagente di lavaggio (con apertura piccola).

10. Pipettare l'intero contenuto del campione preparato nella camera per il campione (apertura grande).

11. Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert[®]

12. Avviare il saggio entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo

Conservazione del lisato residuo

- Conservare il **lisato** residuo a temperatura compresa tra **2 e 8 °C** per un **massimo di 48 ore** O conservare a **una temperatura pari o inferiore a -20 °C** per **massimo 1 mese**

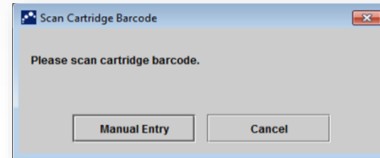
Esecuzione di un test su GeneXpert® Dx

1 Creare un test.



Iniziare il test entro **1 ora** dall'introduzione del campione nella cartuccia.

2 Eseguire la scansione del codice a barre per ID paziente (Patient ID) e/o ID campione (Sample ID).



3 Eseguire la scansione della cartuccia.



Per i dettagli completi su come eseguire un test, consultare il foglietto illustrativo e il Manuale dell'operatore di GeneXpert Dx.

© 2024 Cepheid. Tutti i diritti riservati. CE-IVD. Dispositivo medico diagnostico in vitro. Potrebbe non essere disponibile in tutti i Paesi.

Esecuzione di un test su GeneXpert[®] Dx (segue)

4 Compilare i campi come richiesto.

5 Il test Xpert[®] NPM1 Mutation viene selezionato automaticamente.

6 Il modulo viene selezionato automaticamente.

7 Fare clic su Avvia analisi (Start Test).

8 Una spia verde lampeggerà sul modulo. Caricare la cartuccia nel modulo e chiudere lo sportello.

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

- 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, Scan Cartridge Barcode



Protocollo Xpert® NPM1 Mutation automatizzato



Controlli qualità



Strategia di controllo su Xpert® NPM1 Mutation

CONTROL

- Controlli qualità su Xpert® NPM1 Mutation
 - Ciascuna cartuccia Xpert è un dispositivo di test autonomo
 - Cepheid ha ideato appositi metodi molecolari con controlli interni che permettono al sistema di rilevare specifiche modalità di errore in ciascuna cartuccia:
 - **Controlli per la verifica della sonda (PCC)**
 - **Controllo endogeno ABL1**

Consultare il documento 301-4868 Funzioni GeneXpert® di controllo qualità per tutti i test Cepheid Xpert.

© 2024 Cepheid. Tutti i diritti riservati. CE-IVD. Dispositivo medico diagnostico in vitro. Potrebbe non essere disponibile in tutti i Paesi.



Controlli di qualità interni

- **Controllo endogeno ABL1**

- Normalizza il bersaglio di NPM1 Mutation
- Garantisce che la quantità di campione utilizzata nel saggio sia sufficiente.
- Rileva l'inibizione del saggio di PCR in tempo reale associata ai campioni

- **Controlli per la verifica della sonda (PCC)**

- Prima della fase PCR, il segnale di fluorescenza viene misurato su tutte le sonde e confrontato con le impostazioni predefinite per monitorare
 - la reidratazione delle microsferi
 - l'integrità delle sonde
 - il riempimento della provetta di reazione
 - la stabilità del colorante
- Controlla che nella cartuccia tutti i componenti di reazione siano funzionanti
- Il PCC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.

Controlli esterni disponibili in commercio

CONTROL

- Per domande sui controlli esterni, contattare il supporto tecnico all'indirizzo:
E-mail: support@cepheideurope.com
- Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Supporto tecnico di Cepheid sono disponibili nel sito Web:

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

Interpretazione dei risultati

Risultati possibili di output

| Risultato | Interpretazione |
|---|--|
| Mutazione di NPM1 RILEVATA (NPM1 Mutation DETECTED) | <p>È stato rilevato un trascritto con mutazione di NPM1.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ MUTAZIONE DI NPM1 RILEVATA [# ,##%] (NPM1 MUTATION DETECTED [# .##%]) ○ MUTAZIONE DI NPM1 RILEVATA [sopra il LoQ superiore] (NPM1 MUTATION DETECTED [Above upper LoQ]) ○ MUTAZIONE DI NPM1 RILEVATA [inferiore al LoD; # ,###%] (NPM1 MUTATION DETECTED [Below LoD; <# .###%]) |
| Mutazione di NPM1 NON RILEVATA (NPM1 Mutation NOT DETECTED) | Non è stato rilevato alcun trascritto della mutazione di NPM1. |
| NON VALIDO (INVALID) | Il livello del trascritto della mutazione di NPM1 non può essere determinato in quanto il campione contiene una quantità eccessiva di trascritto della mutazione di NPM1 e/o trascritto ABL eccessivo o insufficiente |
| ERRORE (ERROR) | Non è possibile determinare il livello di trascritto della mutazione di NPM1. |
| NESSUN RISULTATO (NO RESULT) | Non è possibile determinare il livello di trascritto della mutazione di NPM1. La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare un risultato del saggio. |



Risultati quantitativi

- Gli output quantitativi di Xpert® NPM1 Mutation vengono forniti come rapporto percentuale di mutazione NPM1/ABL1. Ai kit vengono assegnati valori di efficienza ($E_{\Delta Ct}$) e di fattore di scala (SF) specifici del lotto che legano la quantificazione dei trascritti della mutazione di NPM1 (A, B e D) e di ABL1 ai numeri copia degli standard primari dell'RNA trascritto in vitro (IVT-RNA) della mutazione sintetica di NPM1 e ABL1.

Mutazione di NPM1 RILEVATA [#,##]% (NPM1 Mutation DETECTED [#.##]%)

La mutazione di NPM1 è stata rilevata a un livello di #,##%.

- Per un risultato “**Mutazione di NPM1 RILEVATA [#,##%] (NPM1 Mutation DETECTED [#.##%])**”, la mutazione di NPM1 è rilevabile con il Ct della mutazione di NPM1 maggiore o uguale a “6” e minore o uguale a “32” e il Ct di ABL maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “20”.
- Il software GeneXpert calcola la % tramite la seguente equazione, in cui il valore Delta Ct (ΔCt) si ottiene da Ct ABL meno Ct mutazione NPM1:

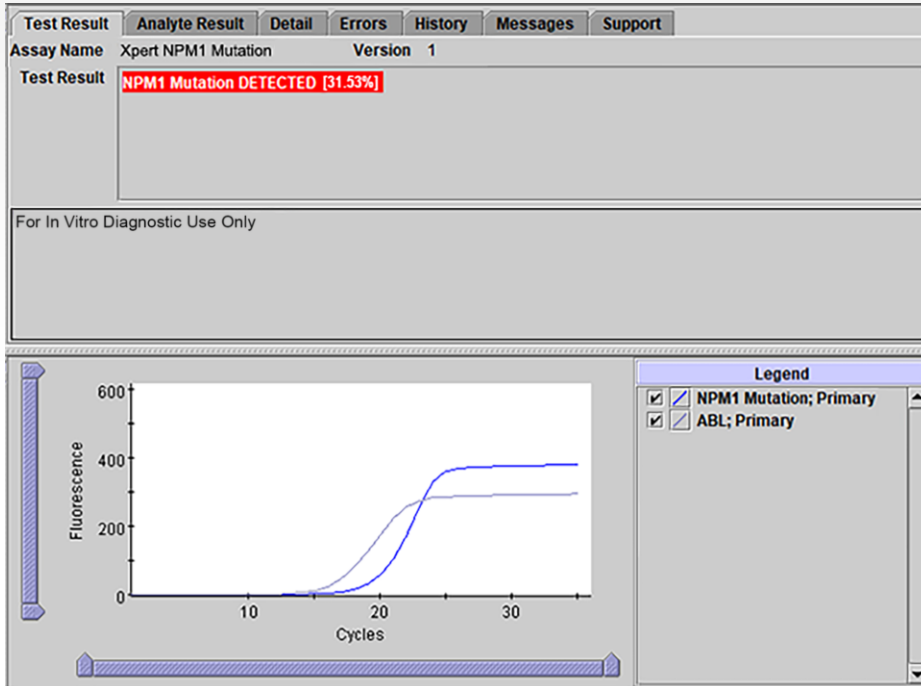
$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Fattore di scala}$$

Il fattore di scala (SF) è un parametro specifico del lotto, incorporato nel codice a barre della cartuccia del saggio. Il valore di questo fattore e dell'efficienza del saggio specifica del lotto ($E_{\Delta Ct}$) vengono determinati in un'analisi del controllo qualità di ogni lotto di saggi con gli standard primari calibrati ai numeri copia dei calibratori sintetici dell'RNA trascritto *in vitro* (IVTRNA) della mutazione di NPM1 e ABL1 per la quantificazione del trascritto della mutazione di NPM1. L' $E_{\Delta Ct}$ è impostata su 1,95 e il valore SF è impostato su 1,79 per l'uso nell'esempio indicato qui di seguito.

Esempio: $E_{\Delta Ct}$ specifica del lotto = 1,95; SF = 1,79
Ct di ABL del saggio = 14,5; Ct della mutazione di NPM1 = 17,1; ΔCt = -2,6
 $\% = 1,95^{(-2,6)} \times 100 \times 1,79 = 31,53\%$

Risultato: Mutazione di NPM1 RILEVATA [31,53%] (NPM1 Mutation DETECTED [31.53%]).

Mutazione di NPM1 RILEVATA [#,##]% (NPM1 Mutation DETECTED [#.##]%) (segue)



- Mutazione di NPM1 – Rilevata [#,##]%
(NPM1 Mutation – Detected [#.##]%)
 - Ciclo soglia (Ct) nell'intervallo valido:
 $6 \leq Ct \leq 32$, ed Endpoint superiore alla soglia
(Esempio: Ct mutazione di NPM1 = 17,1)
- ABL – AMMESSO (PASS)
 - Ciclo soglia (Ct) nell'intervallo valido:
 $6 \leq Ct \leq 20$, ed Endpoint superiore alla soglia
(Esempio: Ct di ABL = 14,5)
- Controllo per la verifica della sonda – AMMESSO (PASS)
 - Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti

Mutazione di NPM1 RILEVATA [sopra il LoQ superiore] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])

La mutazione di NPM1 è stata rilevata a un livello >500%.

- Per un risultato “**Mutazione di NPM1 RILEVATA [sopra il LoQ superiore] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ])**”, la mutazione di NPM1 è individuabile con il Ct della mutazione di NPM1 maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “32” e il Ct di ABL maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “20”.
- Il software GeneXpert calcola la % tramite la seguente equazione, in cui il valore Delta Ct (ΔCt) si ottiene da Ct ABL meno Ct mutazione NPM1:

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Fattore di scala (SF)}$$

Il fattore di scala (SF) è un parametro specifico del lotto, incorporato nel codice a barre della cartuccia del saggio. Il valore di questo fattore e dell'efficienza del saggio specifica del lotto ($E_{\Delta Ct}$) vengono determinati in un'analisi del controllo qualità di ogni lotto di saggi con gli standard primari calibrati ai numeri copia dei calibratori sintetici dell'RNA trascritto in vitro (IVTRNA) della mutazione di NPM1 e ABL1 per la quantificazione del trascritto della mutazione di NPM1. L' $E_{\Delta Ct}$ è impostata su 1,95 e il valore SF è impostato su 1,79 per l'uso nel campione successivo mostrato:

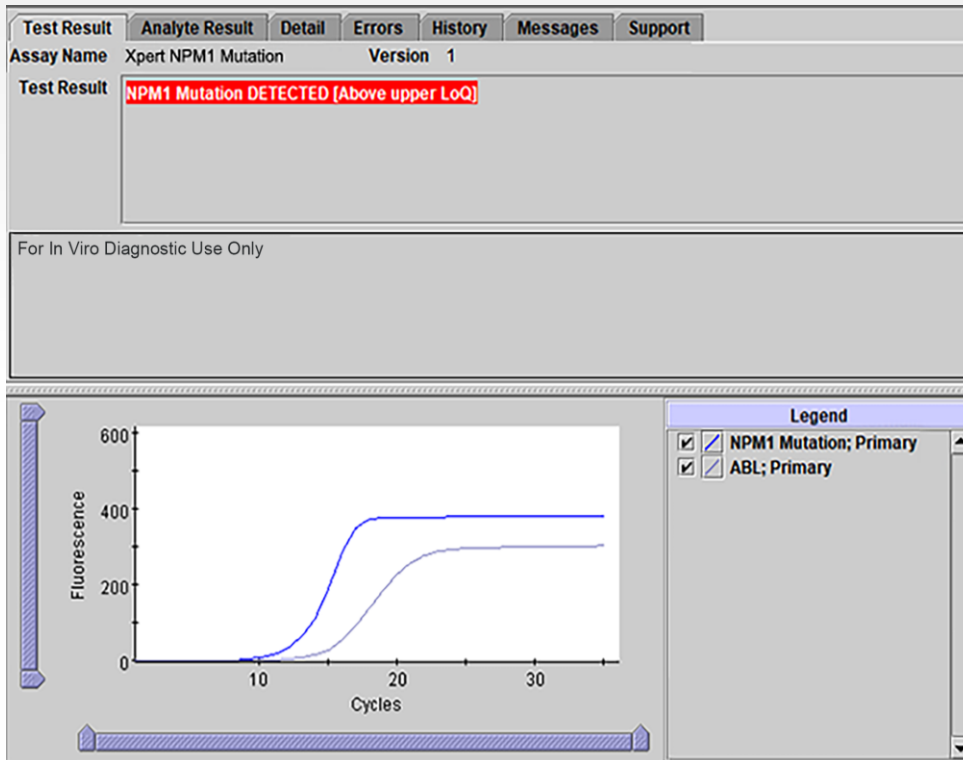
Esempio: $E_{\Delta Ct}$ specifica del lotto = 1,95; SF = 1,79

Ct di ABL del saggio = 13,4; Ct mutazione di NPM1 = 10,2; $\Delta Ct = 3,2$

$\% = 1,95^{(3,2)} \times 100 \times 1,79 = 1516,92\%$ è maggiore del LoQ superiore del saggio definito al 500%

Risultato: Mutazione di NPM1 RILEVATA [sopra il LoQ superiore] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]).

Mutazione di NPM1 RILEVATA [sopra il LoQ superiore] (NPM1 Mutation DETECTED [Above upper LoQ]) (segue)



La mutazione di NPM1 è stata rilevata a un livello >500%

- Mutazione di NPM1 – Rilevata [sopra il LoQ superiore] (NPM1 Mutation – Detected [Above upper LoQ])
 - Ciclo soglia (Ct) nell'intervallo valido:
 $6 \leq Ct \leq 32$, ed Endpoint superiore alla soglia (Esempio: Ct mutazione di NPM1 = 10,2)
- ABL – AMMESSO (PASS)
 - Ciclo soglia (Ct) nell'intervallo valido:
 $6 \leq Ct \leq 20$, ed Endpoint superiore alla soglia (Esempio: Ct di ABL = 13,4)
- Controllo per la verifica della sonda – AMMESSO (PASS)
 - Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti

Mutazione di NPM1 RILEVATA [inferiore al LoD, <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, <0.030%])

La mutazione di NPM1 è stata rilevata a un livello di <0,030%.

- Per un risultato “**Mutazione di NPM1 RILEVATA [inferiore al LoD; <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD; <0.030%])**”, la mutazione di NPM1 è rilevabile con il Ct della mutazione di NPM1 maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “32” e il Ct di ABL maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “20”.
- Il software GeneXpert calcola la % tramite la seguente equazione, in cui il valore Delta Ct (ΔCt) si ottiene da Ct ABL meno Ct mutazione NPM1:

$$\% = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Fattore di scala}$$

Il fattore di scala (SF) è un parametro specifico del lotto, incorporato nel codice a barre della cartuccia del saggio. Il valore di questo fattore e dell'efficienza del saggio specifica del lotto ($E_{\Delta Ct}$) vengono determinati in un'analisi del controllo qualità di ogni lotto di saggi con gli standard primari calibrati ai numeri copia dei calibratori sintetici dell'RNA trascritto *in vitro* (IVTRNA) della mutazione di NPM1 e ABL1 per la quantificazione del trascritto della mutazione di NPM1. L' $E_{\Delta Ct}$ è impostata su 1,95 e il valore SF è impostato su 1,79 per l'uso nell'esempio indicato qui di seguito.

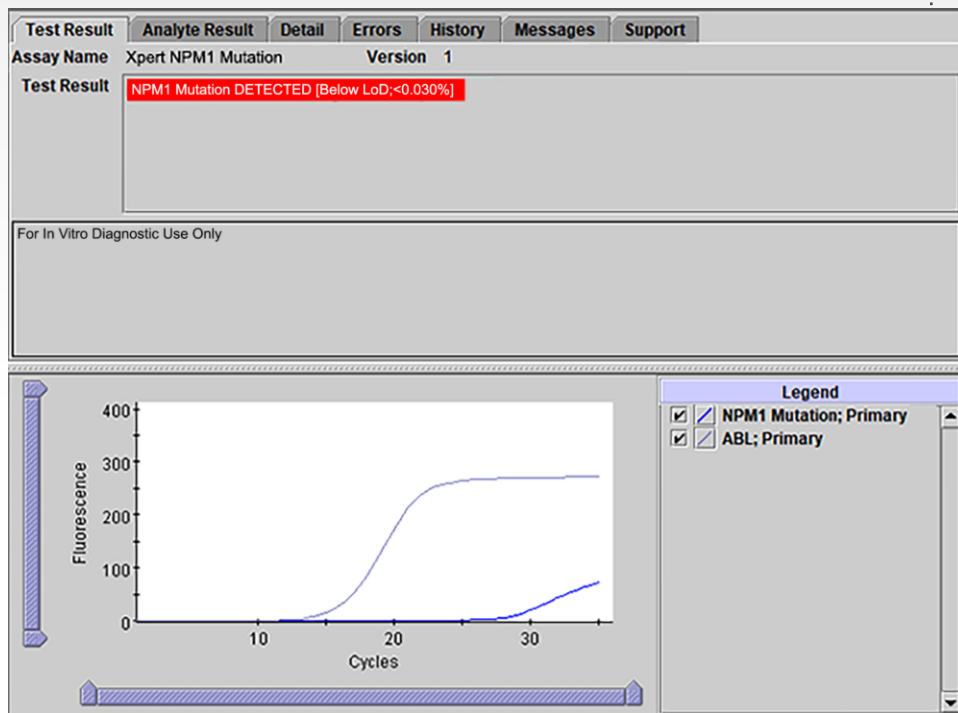
Esempio: $E_{\Delta Ct}$ specifica del lotto = 1,95; SF = 1,79

Ct di ABL del saggio = 14,3; Ct mutazione di NPM1 = 28,8; ΔCt = -14,5

$\% = 1,95^{(-14,5)} \times 100 \times 1,79 = 0,011\%$ è minore del LoD del saggio definito allo 0,030%

Risultato: Mutazione di NPM1 RILEVATA [inferiore al LoD, <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, <0.030%])

Mutazione di NPM1 RILEVATA [inferiore al LoD, <0,030%] (NPM1 Mutation DETECTED [Below LoD, <0.030%]) (segue)



La mutazione di NPM1 è stata rilevata a un livello di <0,030%

- Mutazione di NPM1 – Rilevata [sopra il LoQ superiore] (NPM1 Mutation – Detected [Above upper LoQ])
 - Ciclo soglia (Ct) nell'intervallo valido: $6 \leq Ct \leq 32$, ed Endpoint superiore alla soglia (Esempio: Ct mutazione di NPM1 = 28,8)
- ABL – AMMESSO (PASS)
 - Ciclo soglia (Ct) nell'intervallo valido: $6 \leq Ct \leq 20$, ed Endpoint superiore alla soglia (Esempio: Ct di ABL = 14,3)
- Controllo per la verifica della sonda – AMMESSO (PASS)
 - Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti

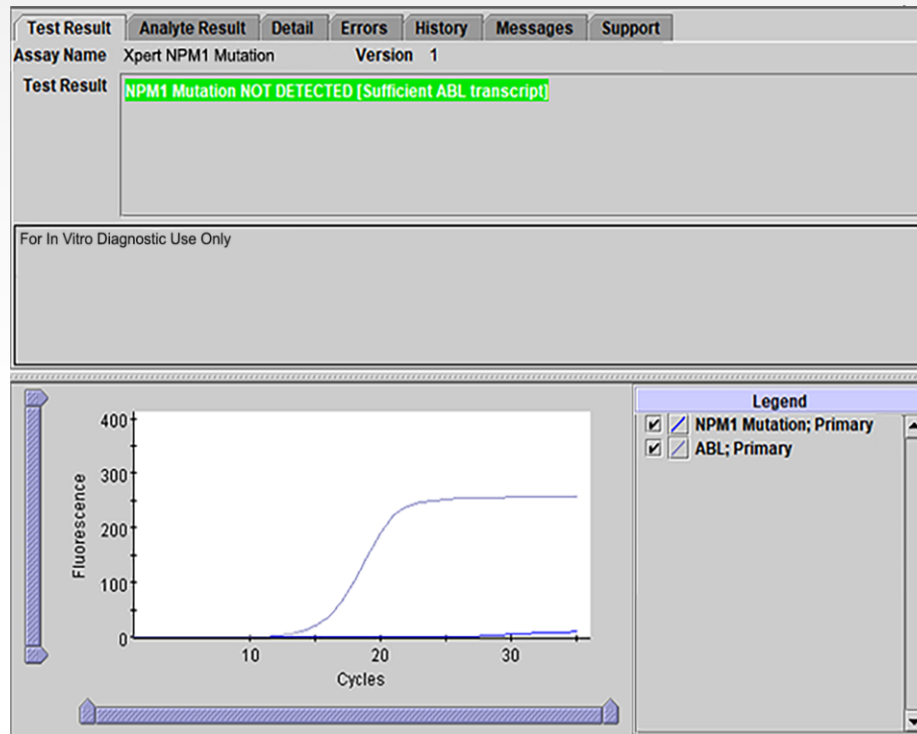
Mutazione di NPM1 NON RILEVATA [trascritto di ABL sufficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript])

- La mutazione NPM1 non è stata rilevata con Ct di NPM1 uguale a “0” o maggiore di “32” e Ct di ABL maggiore di “6” e minore o uguale a “20”.
- Per il test Xpert NPM1 Mutation, il software GeneXpert necessita che il Ct di ABL sia maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “20” per assicurarsi di ottenere “Trascritto di ABL sufficiente (Sufficient ABL transcript)”.

Esempio: Ct della mutazione di NPM1 del saggio = 0; Ct di ABL = 14,0 compreso tra "6" e "20"

Risultato: Mutazione di NPM1 NON RILEVATA [trascritto di ABL sufficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]).

Mutazione di NPM1 NON RILEVATA [trascritto di ABL sufficiente] (NPM1 Mutation NOT DETECTED [Sufficient ABL transcript]) (segue)



- Mutazione di NPM1 – Non rilevata (NPM1 Mutation NOT DETECTED)
 - Nessun ciclo soglia (Ct) o Ct = 0, oppure Endpoint inferiore all'impostazione di soglia (Esempio: Ct mutazione di NPM1 = 0)
- ABL – AMMESSO (PASS)
 - Ciclo soglia (Ct) nell'intervallo valido: $6 \leq Ct \leq 20$, ed Endpoint superiore alla soglia (Esempio Ct di ABL = 14,0)
- Controllo per la verifica della sonda – AMMESSO (PASS)
 - Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti

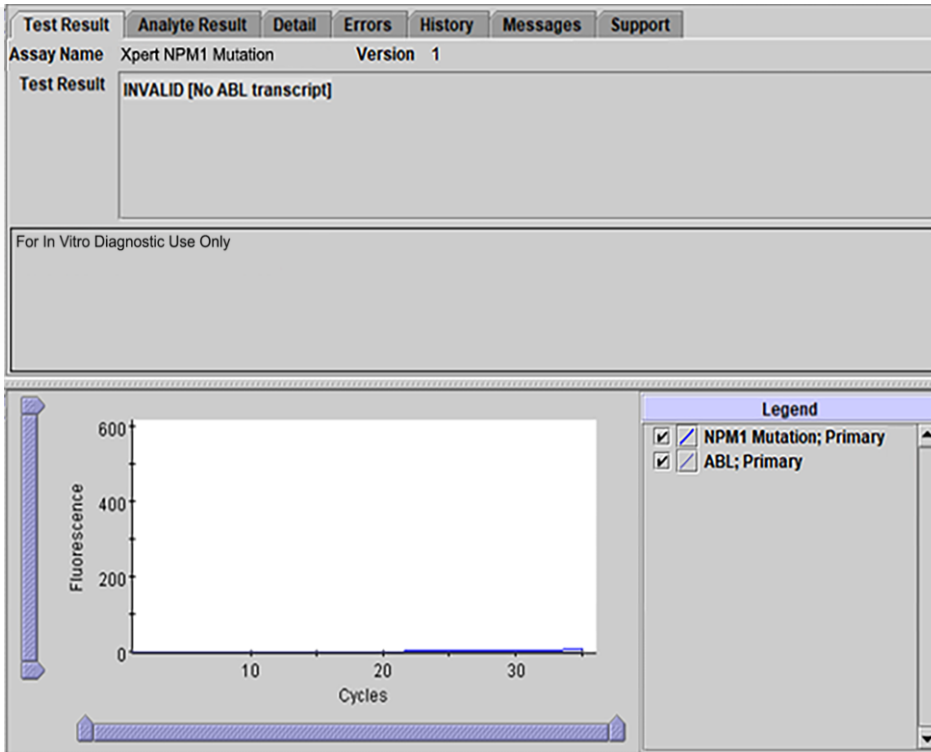
Risoluzione dei problemi



Fattori che influiscono negativamente sui risultati

- Raccolta non corretta del campione.
 - Le prestazioni di questo saggio con altri tipi di campioni di analisi o campioni non sono state valutate.
- Trasporto o conservazione non corretti del campione di analisi prelevato.
 - Le condizioni di conservazione e trasporto sono specifiche per i campioni di analisi.
 - Per indicazioni sulla corretta manipolazione, consultare le Istruzioni per l'uso.
- Procedura di analisi non corretta.
 - Apportando modifiche alle procedure di analisi si possono alterare le prestazioni del test.
 - La stretta osservanza delle Istruzioni per l'uso è necessaria per evitare risultati erranei.

NON VALIDO [Nessun trascritto di ABL] (INVALID [No ABL transcript])



La mutazione di NPM1 è stata rilevata o non rilevata con il Ct di ABL uguale a 0.

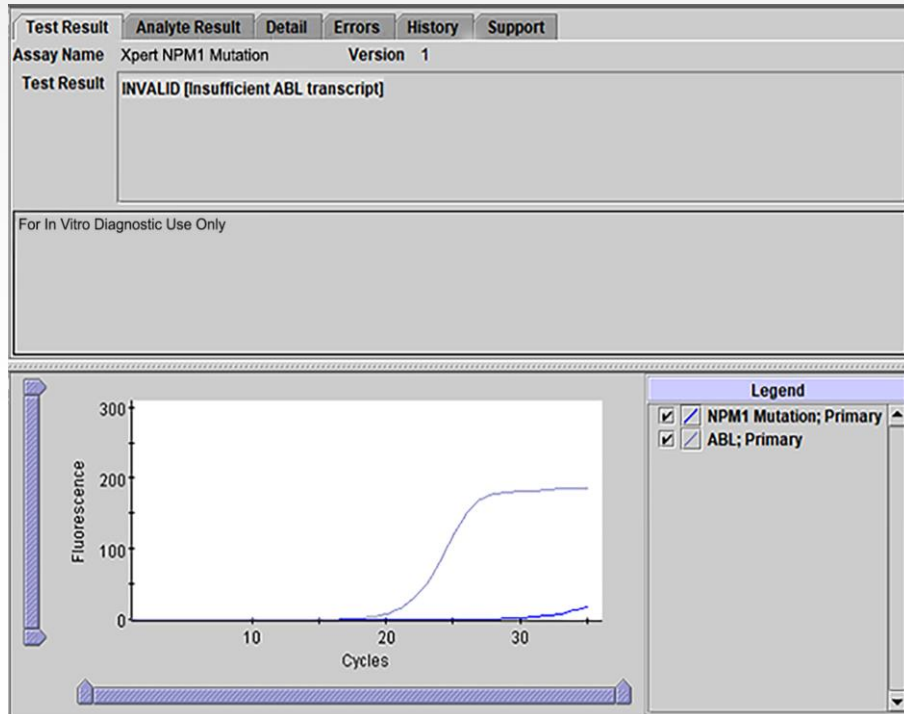
- Il software GeneXpert necessita che il Ct di ABL sia maggiore di 0 uguale a “6” E minore di o uguale a “20”.

Esempio: Ct della mutazione di NPM1 del saggio = 0

Ct di ABL = 0

Risultato: NON VALIDO [Nessun trascritto di ABL] (INVALID [No ABL transcript])

NON VALIDO [trascritto ABL insufficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])



La mutazione NPM1 è stata rilevata o non rilevata con Ct di ABL maggiore di “20”.

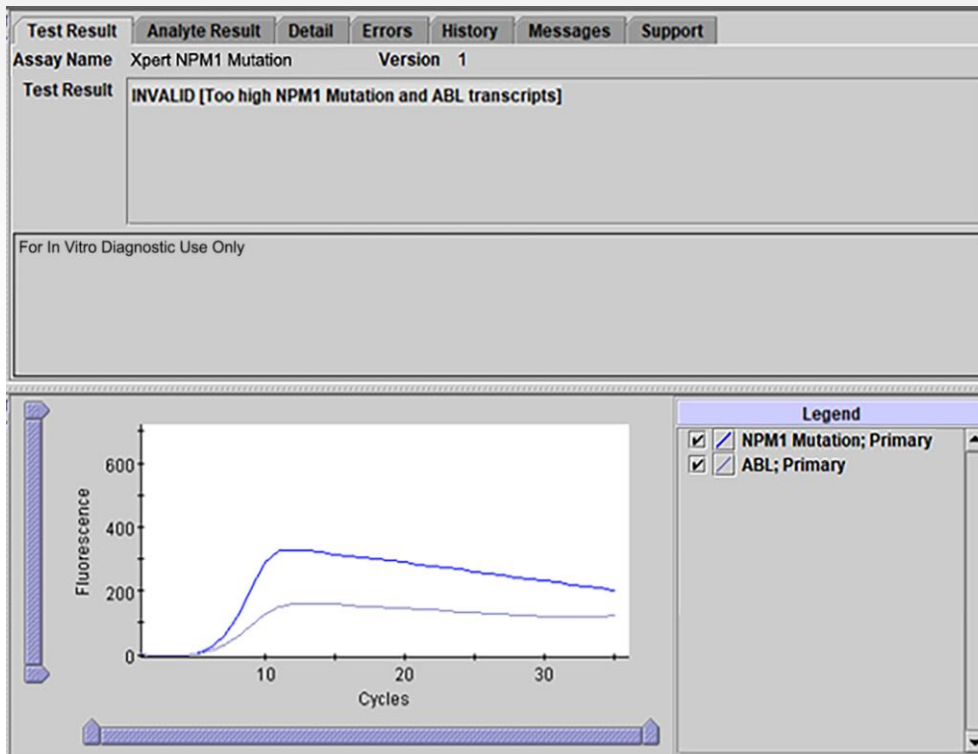
- Per il test Xpert NPM1 Mutation, il software GeneXpert necessita che il Ct di ABL sia maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “20” per assicurarsi di ottenere “Trascritto di ABL sufficiente (Sufficient ABL transcript)”.

Esempio: Ct della mutazione di NPM1 del saggio = 33,3;

Ct di ABL = 20,2 (maggiore di “20”).

Risultato: NON VALIDO [trascritto ABL insufficiente] (INVALID [Insufficient ABL transcript])

NON VALIDO [trascritti della mutazione di NPM1 e di ABL troppo elevati] (INVALID [Too high NPM1 Mutation and ABL transcripts])



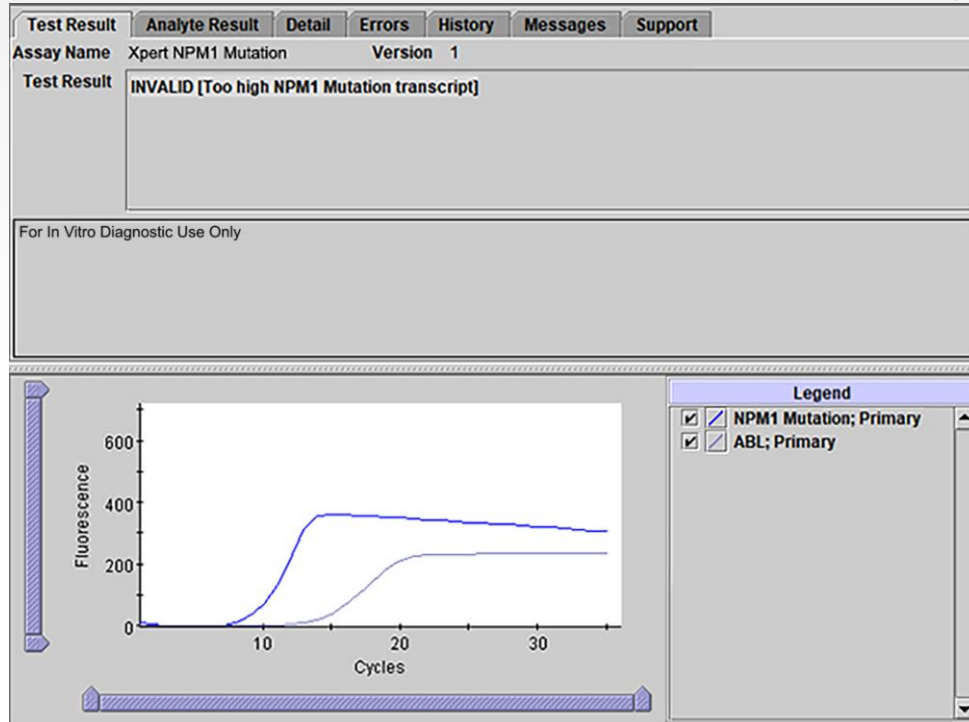
La mutazione di NPM1 è stata rilevata: i Ct della mutazione di NPM1 e di ABL erano maggiori di “0” e minori di “6”.

Per il test Xpert NPM1 Mutation, il software GeneXpert necessita che il Ct di ABL sia maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “20” per assicurarsi di ottenere “Trascritto di ABL sufficiente (Sufficient ABL transcript)”.

Esempio: Ct della mutazione di NPM1 del saggio = 5,4 è maggiore di “0” e minore di “6”;
Ct di ABL = 5,9 è inferiore a “6”.

Risultato: NON VALIDO [trascritto della mutazione di NPM1 troppo elevato] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcript]).

NON VALIDO [trascritti della mutazione NPM1 troppo elevati] (INVALID [Too high NPM1 Mutation transcripts])



La mutazione di NPM1 è stata rilevata con un Ct della mutazione di NPM1 maggiore di “0” e minore di o uguale a “6” e Ct di ABL maggiore di “6” e minore di o uguale a “20”.

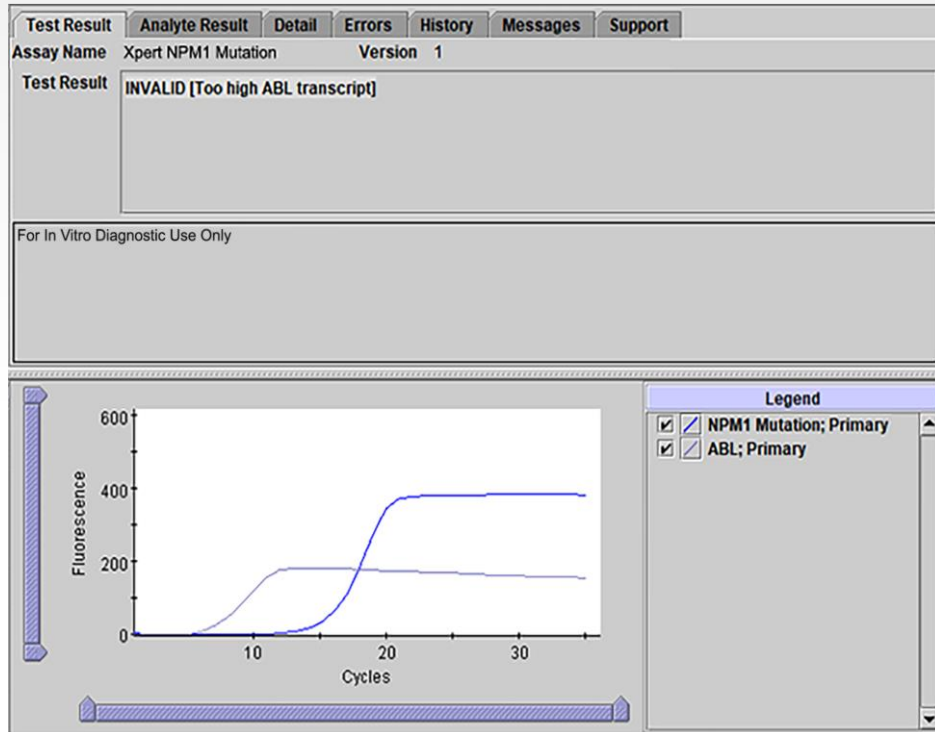
- Per il test Xpert NPM1 Mutation, il software GeneXpert necessita che il Ct di ABL sia maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “20” per assicurarsi di ottenere “Trascritto di ABL sufficiente (Sufficient ABL transcript)”.

Esempio: Ct della mutazione di NPM1 del saggio = 5,8; è maggiore di “0” e minore di “6”;

Ct di ABL = 13 (tra “6” e “20”).

Risultato: NON VALIDO [trascritto di NPM1 troppo elevato] (INVALID [Too high NPM1 transcript]).

NON VALIDO [trascritti della mutazione di ABL troppo elevati] (INVALID [Too high ABL mutation transcripts])



La mutazione di NPM1 è stata rilevata con il Ct della mutazione di NPM1 maggiore di “6” e minore di o uguale a “32” e il Ct di ABL non uguale a “0” e minore di “6”.

- Per il test Xpert NPM1 Mutation, il software GeneXpert necessita che il Ct di ABL sia maggiore di o uguale a “6” e minore di o uguale a “20” per assicurarsi di ottenere “Trascritto di ABL sufficiente (Sufficient ABL transcript)”.

Esempio: Ct della mutazione di NPM1 del saggio = 13,2;
Ct di ABL = 5,8 è inferiore a “6”.

Risultato: NON VALIDO [Trascritto di ABL troppo elevato] (INVALID [Too high ABL transcript]).

ERRORE (ERROR) – codice 2008, 5006, 5007, 5008, 5009 ecc

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 a blue border.

Non è possibile determinare il livello di trascritto di BCR-ABL

Possibili cause

- Errore nella verifica della sonda
- Superamento del limite di pressione (messaggio di errore 2008)

Soluzione

- Verificare la qualità del campione
- Verificare la presenza di un conteggio di globuli bianchi esageratamente elevato
- Ripetere il saggio con il campione originale (se disponibile) o con lisato messo da parte in precedenza e una nuova cartuccia.
- Ripetere la seguente procedura per Errore 2008/non valido (Error 2008/Invalid) →

Tipo 2 O

Errore 5006, 5007, 5008, 5009,/non valido (Error 5006, 5007, 5008, 5009,/Invalid) → **Tipo 1**



NESSUN RISULTATO (NO RESULT)

NO RESULT

Non è possibile determinare il livello di trascritto della mutazione di NPM1. La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare un risultato del saggio. Una simile evenienza potrebbe verificarsi, per esempio, qualora l'operatore interrompesse l'esecuzione di un saggio in corso.

- NESSUN RISULTATO (NO RESULT) per la mutazione di NPM1
- NESSUN RISULTATO DI ABL (ABL NO RESULT)
- Verifica della sonda: NA (non applicabile)

Soluzione

- Ripetere il saggio con il campione originale (se disponibile) o con lisato messo da parte in precedenza e una nuova cartuccia.
- Seguire la procedura di ripetizione del test per Errore (Error) O Non valido (Invalid) **(Tipo 1)**

Procedura di ripetizione del test per **ERRORE (ERROR)** o **NON VALIDO (INVALID)** (Tipo 1)

- Sottoporre nuovamente a test i campioni con risultati **ERRORE (ERROR)** o **NON VALIDO (INVALID)** a causa del ciclo soglia ABL (Ct) che supera il Ct valido massimo (Ct >20) o con endpoint al di sotto della soglia impostata (<100).

Procedura di ripetizione del test per **ERRORE (ERROR)** o **NON VALIDO (INVALID) (Tipo 1) Campione sufficiente**

Preparazione del lisato e della cartuccia



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

Per istruzioni dettagliate, precauzioni e avvertenze, fare riferimento al foglietto illustrativo.

Per una copia della SDS, consultare il sito:
www.cepheid.com o
www.cepheidinternational.com

Supporto Tecnico di Cepheid
Ufficio statunitense
+1 (888) 838-3222, Interno 2
techsupport@cepheid.com

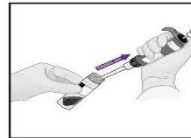
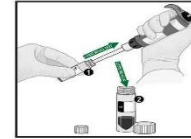
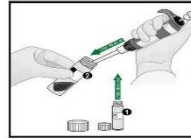
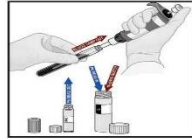
Ufficio europeo +33 563 82 53 19
support@cepheidurope.com

20 minuti prima di iniziare la procedura, consentire agli elementi riportati di seguito di raggiungere la temperatura ambiente (20 °C – 30 °C)

- campione di analisi ematico
- cartuccia
- reagenti di preparazione dei campioni

Inizia qui

- 1 Estrarre dal frigorifero il sangue intero in EDTA o i reagenti per la preparazione dei campioni. Collocare il sangue in EDTA su un agitatore basculante o miscelare capovolgendo il contenitore 8 volte prima del campionamento.
- 2 Centrifugare brevemente il reagente PK. Aggiungere 100 µl di reagente PK in una provetta conica da 50 ml. Aggiungere quindi 4 ml di sangue intero in EDTA ben miscelato alla stessa provetta conica da 50 ml. Agitare il campione in vortex per 3 s e incubare per 1 min a temperatura ambiente.
- 3 Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla provetta, agitare in vortex per 10 s e incubare per 5 min a temperatura ambiente. Agitare nuovamente in vortex per 10 s e incubare una seconda volta per 5 min. Miscelare il contenuto della provetta picchiandola 10 volte.
- 4 Trasferire 1 ml del lisato preparato in una nuova provetta conica da 50 ml. Conservare il lisato rimanente per eventuali ripetizioni dell'analisi.
- 5 Aggiungere 1,5 ml di reagente di lisi (LY) alla nuova provetta conica contenente il lisato preparato in precedenza. Agitare in vortex per 10 s e incubare per 10 min a temperatura ambiente.
- 6 Aggiungere 2 ml di EtOH assoluto di grado reagente alla stessa provetta conica. Agitare in vortex per 10 s e mettere da parte. Gettare i reagenti PK o LY rimasti.
- 7 Aprire il coperchio della cartuccia del test Xpert.
- 8 Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1 (piccola apertura).
- 9 Pipettare l'intero contenuto del lisato preparato finale dalla provetta conica.
- 10 Trasferire l'intero contenuto del campione preparato (~4,5 ml) nella camera destinata al campione.
- 11 Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert.
- 12 Avviare il test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.



Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR)

o NON VALIDO (INVALID) (Tipo 1) Campione insufficiente

- Se il lisato messo da parte in precedenza viene conservato congelato, scongelarlo a temperatura ambiente prima dell'uso
- Accertarsi che il lisato sia ben miscelato mescolando ininterrottamente per 10 secondi il campione in vortex all'impostazione massima e metterlo da parte per 3 minuti affinché le bolle scompaiano. Trasferire 1 ml del lisato preparato in precedenza in una nuova provetta conica da 50 ml. Poi **iniziare da qui**

Preparazione del lisato e della cartuccia

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

Per istruzioni dettagliate, precauzioni e avvertenze, fare riferimento al foglietto illustrativo.


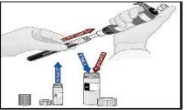
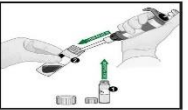
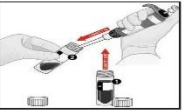


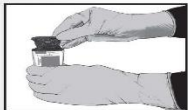

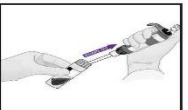



Per una copia della SDS, consultare il sito:
www.cepheid.com
www.cepheidinternational.com

Supporto Tecnico di Cepheid
Ufficio statunitense
+1 (888) 838-3222, Interno 2
techsupport@cepheid.com
Ufficio europeo +33 563 82 53 19
support@cepheideurope.com

20 minuti prima di iniziare la procedura, consentire agli elementi ripetibili di seguito di raggiungere la temperatura ambiente (20 °C – 30 °C)

- campione di analisi ematico
- cartuccia
- reagenti di preparazione dei campioni



| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 Estrarre dal frigorifero il sangue intero in EDTA e i reagenti per la preparazione dei campioni. Collocare il sangue in EDTA su un agitatore basculante o miscelare capovolgendo il contenitore 8 volte prima del campionamento. | 2 Centrifugare brevemente il reagente PK. Aggiungere 100 µl di reagente PK in una provetta conica da 50 ml. Aggiungere quindi 4 ml di sangue intero in EDTA ben miscelato alla stessa provetta conica da 50 ml. Agitare il campione in vortex per 3 s e incubare per 1 min a temperatura ambiente. | 3 Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla provetta, agitare in vortex per 10 s e incubare per 5 min a temperatura ambiente. Agitare nuovamente in vortex per 10 s e incubare una seconda volta per 5 min. Miscelare il contenuto della provetta picchiandola 10 volte. | 4 Trasferire 1 ml del lisato preparato in una nuova provetta conica da 50 ml. Conservare il lisato rimanente per eventuali ripetizioni dell'analisi. | 5 Aggiungere 1,5 ml di reagente di lisi (LY) alla nuova provetta conica contenente il lisato preparato in precedenza. Agitare in vortex per 10 s e incubare per 10 min a temperatura ambiente. | 6 Aggiungere 2 ml di EtOH assoluto di grado reagente alla stessa provetta conica. Agitare in vortex per 10 s e mettere da parte. Gettare i reagenti PK o LY rimasti. |
|  |  |  |  |  |  |
| 7 Aprire il coperchio della cartuccia del test Xpert. | 8 Trasferire l'intero contenuto della fiala con il reagente di lavaggio nella camera 1 (piccola apertura). | 9 Pipettare l'intero contenuto del lisato preparato finale dalla provetta conica. | 10 Trasferire l'intero contenuto del campione preparato (~4,5 ml) nella camera destinata al campione. | 11 Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert. | 12 Avviare il test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo. |
|  |  |  |  |  |  |

© 2015-2023 Cepheid. Tutti i diritti riservati.

CE IVD Per uso diagnostico *in vitro*

Dispositivo medico diagnostico *in vitro*. Potrebbe non essere disponibile in alcuni Paesi. Non disponibile negli Stati Uniti.

301-4954 IT, Rev. E, Febbraio 2023

Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) (codice 2008) o NON VALIDO (INVALID) (tipo 2)

- Analizzare nuovamente i campioni con livelli di trascritto della mutazione NPM1 e/o ABL inferiori al Ct minimo valido ($Ct > 0$ e $Ct < 6$) o quando viene superato il limite di pressione.

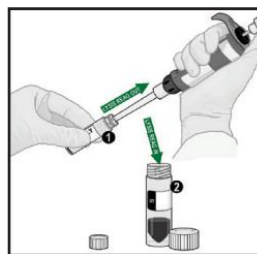
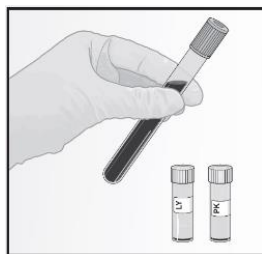
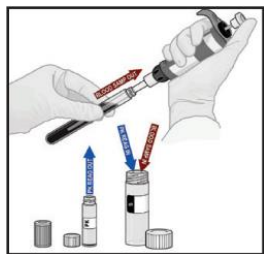
Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) (codice 2008) o NON VALIDO (INVALID) (tipo 2)-sangue disponibile sufficiente

1. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere 100 μ l di PK (Proteinasi K). Accertarsi di miscelare bene il campione ematico capovolgendo la provetta di raccolta ematica con EDTA per 8 volte immediatamente prima del pipettaggio.

2. Aggiungere 250 μ l di campione di analisi ematico e 3,75 ml di PBS (Ph 7,4 fornito dall'utente). Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 3 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto

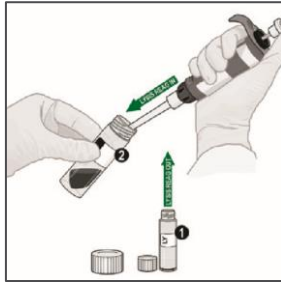
3. Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla stessa provetta. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti. Miscelare il campione picchiettando 10 volte la parte inferiore della provetta. Trasferire 1 ml del lisato preparato in una nuova provetta conica da 50 ml.

4. Aggiungere 1,5 ml del reagente di lisi (LS) messo da parte in precedenza alla stessa provetta conica. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 10 minuti.



Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) (codice 2008) o NON VALIDO (INVALID) (tipo 2) sangue disponibile sufficiente (segue)

5. Aggiungere 2 ml di etanolo assoluto di grado reagente (fornito dall'utente) alla stessa provetta conica



6. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Mettere da parte.



7. Rimuovere la cartuccia dalla confezione di cartone

8. Controllare che la cartuccia non sia danneggiata. Se danneggiata, non utilizzarla.

9. Aprire il coperchio della cartuccia. Trasferire l'intero contenuto della fiala del reagente di lavaggio (1) nella camera destinata al reagente di lavaggio (con apertura piccola).

10. Pipettare l'intero contenuto del campione preparato nella camera per il campione (apertura grande).

11. Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert®

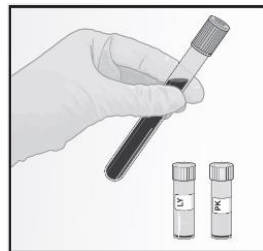
12. Avviare il saggio entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo

Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) (codice 2008) o NON VALIDO (INVALID) (tipo 2)- Lisato

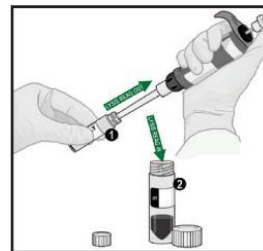
- Se il lisato messo da parte in precedenza viene conservato congelato, scongelarlo a temperatura ambiente prima dell'uso.
- Se si utilizza il lisato refrigerato, lasciar stabilizzare a temperatura ambiente prima dell'uso.

Accertarsi che il lisato sia ben miscelato mescolando ininterrottamente per 10 secondi il campione in vortex all'impostazione massima e metterlo da parte per 3 minuti affinché le bolle scompaiano.

1. Sul fondo di una nuova provetta conica da 50 ml, aggiungere 100 μ l di PK (Proteinasi K).



2. Alla provetta già contenente Proteinasi K, aggiungere 60 μ l di lisato restante. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 3 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 1 minuto

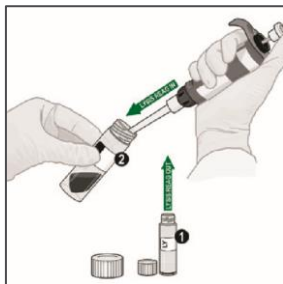


3. Aggiungere 2,5 ml di reagente di lisi (LY) alla nuova provetta conica contenente il lisato. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti.



Procedura di ripetizione del test per ERRORE (ERROR) (codice 2008) o NON VALIDO (INVALID)(tipo 2)- Lisato (segue)

4. Aggiungere 2 ml di etanolo assoluto di grado reagente (fornito dall'utente) alla stessa provetta conica



5. Miscelare ininterrottamente il campione in vortex all'impostazione massima per 10 secondi. Mettere da parte



6. Aprire il coperchio della cartuccia. Trasferire l'intero contenuto della fiala del reagente di lavaggio (1) nella camera destinata al reagente di lavaggio (con apertura piccola).

7. Pipettare l'intero contenuto del campione preparato nella camera per il campione (apertura grande).

8. Chiudere il coperchio della cartuccia Xpert®

9. Avviare il saggio entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo

Procedure di ripetizione del test

1



Gettare la cartuccia usata. Seguire le linee guida di sicurezza del proprio istituto per lo smaltimento delle cartucce.

2



Per indicazioni sulla procedura di ripetizione del test di Tipo 1 e di Tipo 2, consultare le Istruzioni per l'uso.

La ripetizione del test può essere eseguita su un campione di sangue restante o sul lisato messo da parte.

3



Procurarsi una nuova cartuccia.

Procedere al trattamento del campione secondo le Istruzioni per l'uso.

4



Eeguire il test sul sistema.

Assistenza Tecnica

- Prima di contattare il supporto tecnico di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:
 - Nome del prodotto
 - Numero di lotto
 - Numero di serie del sistema
 - Messaggi di errore (se presenti)
 - Versione software
- Registrare il reclamo online utilizzando il seguente link
<http://www.cepheid.com/en/support>: *Creare una richiesta di supporto*



Grazie

www.Cepheid.com